CAROLINA SCARPA CARNEIRO

Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino
quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação
e ao microambiente de seu desenvolvimento

São Paulo

2012

CAROLINA SCARPA CARNEIRO

Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento

Cirurgia

Área de concentração

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientadora

Profa. Dra. Julia Maria Matera

São Paulo

2012

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2735
FMVZ

Carneiro, Carolina Scarpa

Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento / Carolina Scarpa Carneiro. -- 2012.
119 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Julia Maria Matera.

1. Sarcoma de aplicação felino. 2. Sarcoma vacinal felino. 3. Neoplasia felina.
4. Histopatologia. 5. Imunoistoquímica. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Caracterização dos pacientes portadores de Sarcoma de Aplicação Felino quanto ao índice de massa corpórea e quanto à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento", protocolado sob o nº 2126/2011, utilizando 30 (trinta) gatos, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Julia Maria Matera, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 16/02/2011.

We certify that the Research "Characterization of patients with Feline Injection-Site Sarcoma by the body mass index and by the origin of its formation and neoplasia microenvironment of development", protocol number 2126/2011, utilizing 30 (thirty) cats, under the responsibility Profa. Dra. Julia Maria Matera, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 02/16/2011.

São Paulo, 17 de fevereiro de 2011

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CARNEIRO, Carolina Scarpa

Título: Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

DEDICATÓRIA

À **Luísa** e ao **Douglas**, que serenaram minha alma.
Aos meus pais, **José Roberto** e **Inês** e ao meu irmão, **Felipe**
bases da minha formação e do meu caráter.
Aos meus **Amigos**
Vocês me fazem uma pessoa melhor.
Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Profissional de Nível Superior – CAPES** por viabilizar o desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. **Julia Maria Matera**, amiga e orientadora no sentido amplo de seu significado, sendo, por vezes, a diretriz saudável e racional nas minhas decisões importantes.

À Profa. Dra. **Maria Lucia Zaidan Dagli**, amiga e instrutora, fazendo-me refletir sobre outras nuances das cores da vida.

À Profa. Dra. **Ana Carolina Brandão de C. Fonseca-Pinto** e aos pós-graduandos **Carina Outi Baroni**, **Carolina de Oliveira Guirelli**, **Gabriela Paola Banon** e **Lenin Arturo V. Martinez** que sempre apoiaram, sendo prestativos e eficientes na realização dos exames de tomografia computadorizada.

A todos os **professores da FMVZ-USP** pelo apoio e convívio.

Às minhas amigas Doutoradas **Thaís Andrade Costa-Casagrande**, **Ayne Murata Hayashi** e **Katia Kimura**, pelas lições de companheirismo e de vida que ajudaram a fomentar meu caráter.

À **Katia Kimura**, em especial, por ajudar prontamente e com excelência com os dados desta tese quando eu mais precisava.

Às minhas amigas pós-graduandas **Thais Rodrigues Macedo**, **Samanta Rios Melo**, **Leda Oliveira Marques-Barros** e **Maria Claudia C. M. Inglez de Souza** pelo compartilhamento de conhecimentos e, principalmente, pela amizade sempre presente, estando prontas a resolver e discutir tanto assuntos de trabalho quanto particulares.

Aos amigos **pós-graduandos da FMVZ** pelo carinho, amizade e carinho.

À técnica de laboratório **Marguiti Soares**, que se mostrou pronta a ajudar, realizando seu trabalho com maestria, sem ela meu trabalho não ficaria tão bom.

Ao meu amigo físico, médico veterinário e estatístico **Valdecir Marvulle**, pelo apoio na realização das análises estatísticas, bem como, na sua compreensão. Sem seu apoio meu trabalho não ficaria tão completo.

Às Médicas Veterinárias dos Serviços de Anestesia e Cirurgia de Pequenos Animais –VCI – HOVET - FMVZ/USP, **Andressa Gianotti Campos Nitrini**, **Geni Patrício**, **Patrícia Bonifácio Flôr**, **Patrícia Ferreira de Castro**, **Sandra Aparecida**

Rosner, Tatiana Soares da Silva e Viviane Sanchez Galeazzi pelo apoio, aprendizado e troca de conhecimentos durante a realização deste projeto.

Aos funcionários do Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais – HOVET – VCI – FMVZ/USP **Cledson Lelis dos Santos, Jesus dos Anjos Vieira, José Miron Oliveira da Silva e Otávio Rodrigues dos Santos** pela prontidão, ajuda e pela alegria da convivência.

Aos Médicos Veterinários **Residentes** pelo apoio, convívio e “carimbos”.

Ao secretário **Belarmino Ney Pereira** pela paciência e prontidão na resolução de problemas, além de conselhos, que sempre foram de enorme valia para engrandecer meu caráter.

À secretária **Livia dos Santos Gimenes** que com seu jeito carinhoso e acolhedor abrandava os possíveis problemas dos pós-graduandos, estando pronta para ajudar no que for possível e necessário.

Aos **Funcionários da Biblioteca**, especialmente à bibliotecária **Elza Faquim**, que estão sempre à disposição para ajudar e realizaram a revisão final deste trabalho.

A todos os **Amigos e Familiares** que, direta ou indiretamente, colaboraram com a realização deste projeto.

Aos meus **Pacientes** e seus **Proprietários** pela confiança e carinho sempre demonstrado. Sem vocês não existiria trabalho.

À **Deus** que faz da minha vida um acontecimento maravilhoso. Sem Ele acredito que nada disso seria possível e tão mágico.

Muito Obrigada!

É inútil falar de curas ou pensar em remédios até termos considerado as causas (...) as curas podem ser imperfeitas e não servir para nada enquanto as causas não tiverem sido pesquisadas.

Robert Burton, The Anatomy of Melancholy, 1893

RESUMO

CARNEIRO, C. S. Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento. [Characterization of patients with feline injection-site sarcoma as body condition score and as to the origin of its formation and their microenvironment]. 2012. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O Sarcoma de Aplicação Felino (SAF) possui características específicas pouco estudadas. A agressividade, com invasão profusa de tecidos adjacentes, bem como a presença de células anaplásicas em sua composição fazem do SAF um obstáculo a ser transposto, para obtenção do melhor tratamento. Sua etiologia e etiopatogenia ainda permanecem obscuras. O objetivo deste estudo consistiu em determinar fatores prognósticos para o paciente portador de SAF, caracterizando-o quanto ao seu peso e escore de condição corporal (ECC), à origem e diferenciação da neoplasia por ele apresentada, bem como caracterizar o microambiente peri-neoplásico quanto à presença de células inflamatórias. Foram selecionados 46 casos de SAF, sendo 31 casos novos de pacientes e 22 casos reavaliados. Foi encontrada diferença significativa entre o ECC ($p=0,001$) e peso ($p<0,001$) de pacientes que apresentaram SAF e os do grupo controle. Não foram encontradas diferenças entre gênero e raça. A localização mais comumente acometida foi a tóraco-abdominal (78%). Quanto à origem, a maioria dos SAF apresentou-se como originada em células fibroblastos. Enquanto não houve marcação para componentes inflamatórios (CD3 e CD68), houve para receptor de quinase (c-kit), para Cox-2 e FelV. Não houve influencia dos parâmetros avaliados com as variáveis clínicas e com a sobrevida total. Houve influencia estatisticamente significativa quando comparamos a invasão observada no exame de tomografia computadorizada e a escolha do tratamento instituído ($p=0,019$).

Palavras-chave: Sarcoma de aplicação felino. Sarcoma vacinal felino. Neoplasia felina. Histopatologia. Imunoistoquímica.

ABSTRACT

CARNEIRO, C. S. Characterization of patients with feline injection-site sarcoma as body condition score and as to the origin of its formation and their microenvironment. [Caracterização dos pacientes portadores de sarcoma de aplicação felino quanto ao escore de condição corporal, à origem de sua formação e ao microambiente de seu desenvolvimento]. 2012. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The feline injection-site sarcoma (FISS) has specific characteristics which are little studied. FISS treatment is a hurdle to getting because of their aggressiveness, with profuse invasion of adjacent tissue, as well as the presence of anaplastic cells in its composition. Its etiology and pathogenesis remain obscure. This research aims to determine prognostic factors for patients with FISS, characterizing it as their weight and body condition score (BCS) and by the origin and differentiation of the tumor presented, along with characterizing the microenvironment peri-neoplastic for the presence of inflammatory cells. 46 cases of cats that presented FISS were assisted, with 31 new cases and 22 cases of patients reassessed. Statistical difference was found between the BCS ($p=0,001$) and weight ($p<0,001$) of FISS group and control group. No differences were found between gender and race. The region most commonly affected was the toraco-abdominal (78%). The FISS majority presented as fibroblasts origin, while no marking for inflammatory components (CD3 and CD68). There was marking for kinases cascade (c-KIT), for COX-2, and for FeIV. There was no influence of the parameters evaluated with clinical variables and overall survival. There was a statistically significant influence when comparing the invasion observed in computerized tomographic examination and choice of the treatment ($p = 0.019$).

Key-words: Feline injection-site sarcoma. Feline vaccine sarcoma. Feline Neoplasia. Histopathology. Immunohistochemistry.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A	Ilustração utilizada pela pesquisadora e apresentada aos proprietários de pacientes do grupo controle, para sugestão do ECC. Adaptada de LAFLAME, 1997	113
APÊNDICE B	Descrição dos pacientes e seus respectivos dados	114
APÊNDICE C	Caracterização da formação apresentada pelos pacientes	117
APÊNDICE D	Caracterização do exame de tomografia computadorizada	119

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Imagens de exame tomográfico do paciente nº102374, cortes de 2mm de espessura;, pré e pós-contraste, apresentando formação em região caudal de membro pélvico direito.....	67
Figura 2	Imagens de exame tomográfico do paciente nº201626, cortes de 2mm de espessura;, pré e pós-contraste, apresentando formação em região lateral de abdômen esquerdo.....	69
Figura 3	Imagens de exame tomográfico do paciente nº200785, cortes de 2mm de espessura;, pré e pós-contraste, apresentando formação em região de face interna de membro pélvico direito	71
Figura 4	Paciente Nº 102374 apresentando SAF localizado em face caudal de membro pélvico direito, terço proximal.....	73
Figura 5	Paciente Nº201626 apresentando SAF localizado em região abdominal lateral esquerda.....	75
Figura 6	Paciente Nº 200785 apresentando SAF localizado em face interna do membro pélvico direito, terço médio	76
Figura 7	Fotomicrografia de cortes histológicos de SAF, para classificação do grau.....	80
Figura 8	Fotomicrografias de imunoistoquímica para vimentina, desmina e c-kit, em SAF	82
Figura 9	Fotomicrografias de imunoistoquímica para Cox-2, FeIV, S-100 e citoqueratina de SAF	84
Gráfico 1	Idade dos pacientes do grupo SAF e dos pacientes do grupo Controle	62
Gráfico 2	Dispersão dos pacientes segundo o volume clínico da formação....	63
Gráfico 3	Representação em colunas do número de pacientes por escore de condição corporal (ECC) do grupo SAF.....	64
Gráfico 4	Dispersão de peso para pacientes do grupo SAF e do grupo controle	65
Gráfico 5	Dispersão dos pacientes segundo o volume da formação pelo exame de tomografia computadorizada	68
Gráfico 6	Representação dos tratamentos realizados nos pacientes portadores de SAF	72

Quadro 1	Critérios para efeitos tóxicos em gatos recebendo quimioterapia com doxorubicina na dose de 1,5mg/kg iv.....	54
Quadro 2	Escore de classificação histológica do sarcoma de aplicação felino	56
Quadro 3	Características dos anticorpos utilizados e sua diluição	57

LISTA DE TABELAS

Tabela1 – Análise t-student para peso corporal para o grupo portador de SAF e grupo controle ($p < 0,001$)	64
Tabela 2 – Análise t-student para escore de condição corporal para o grupo portador de SAF e grupo controle ($p = 0,001$)	66
Tabela 3 – Resumo das análises estatísticas realizadas comparando as variáveis encontradas no exame TC e as variáveis clínicas	70
Tabela 4 – Classificação de grau histológico do SAF segundo COUTO et al, 2002;	79
Tabela 5 – Resultados obtidos com análise imunoistoquímica.	82
Tabela 6 – Resumo das análises estatísticas realizadas comparando as variáveis encontradas no exame imunoistoquímico e as variáveis clínicas	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP-1	Ativador de proteína formado pelas proteínas c-jun e c-fos
B	Linfócito tipo B
BCS	Body Condition Score
c-Fos	Gene e proteína c-fos
c-jun	Gene e proteína c-jun
c-kit	Gene e proteína receptor Kit de tirosina quinase
CTM	Célula-tronco mesenquimal
DAB	Diaminobenzina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
Dr	Doutor
ECC	Escore de Condição Corporal
EGF	fator de crescimento endotelial
EUA	Estados Unidos da América
feGM-CSF	Fator estimulante de colônia granulocítica-macrofágica felino
feIFN- γ	Interferon-gama felino
feIL2	Interleucina 2 felina
FeIV	Vírus da leucemia felina
FeSV	Vírus do sarcoma felino
FISS	Feline Injection-Site Sarcoma
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
HOVET	Hospital Veterinário
IFN- γ	Interferon Gama
IL-12	Interleucina 12
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IV	Endovenoso
LSAB	Labeled Streptavidin Biotin
M1	Macrófago fenótipo 1

M2	Macrófago fenótipo 2
OMS	Organização Mundial de Saúde
p53	Gene apoptótico
PBS	Fosfato salino
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PPAR	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
RM	Ressonância Magnética
SAF	Sarcoma de Aplicação Felino
SRD	Sem raça definida
T	Linfócito tipo T
TAMs	Macrófagos associados ao tumor
TC	Tomografia Computadorizada
TGF β	Fator de transformação β
Th1	LinfócitoThelperfenótipo 1
Th2	LinfócitoThelperfenótipo 2
TNF-kB	Fator de necrose tumoral kapa b
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Treg	Linfócitos T reguladores
USP	Universidade de São Paulo
VAFSTF	Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force
VCI	Departamento de Cirurgia
VPT	Departamento de Patologia

LISTA DE SÍMBOLOS

-	Negativo e/ou menos
%	Porcentagem
+	Positivo e/ou mais
<	Menor
=	Igual
>	Maior
®	Marca registrada
°C	Graus Celsius
cGy	Centigray
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
dL	Decilitro
g	Grama
Gy	Gray
Kg	Quilograma
mg	Miligrama
mL	Mililitro
p	Valor da estatística ou <i>p_{value}</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 Epidemiologia	24
2.2 Etiologia Neoplásica	27
2.3 Apresentação Clínica	35
2.4 Classificação Histopatológica	36
2.5 Exames Complementares	38
2.6 Tratamentos	39
2.6.1 EXCISÃO CIRÚRGICA	40
2.6.2 RADIOTERAPIA	41
2.6.3 QUIMIOTERAPIA	42
2.6.4 INIBIDORES DA QUINASE	43
2.6.5 IMUNOTERAPIA	44
2.7 Prevenção	45
3 OBJETIVO	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1 Pacientes	49
4.2 Delineamento Experimental	50
4.3 Exame de Tomografia Computadorizada	51
4.4 Planejamento do Tratamento	52
4.5 Procedimento Cirúrgico	53
4.6 Protocolo Quimioterápico	53
4.7 Exames Histopatológico e Imunoistoquímico	55
4.7.1 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	56
4.7.2 ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA	57
4.8 Análise Estatística	59
5 RESULTADOS	61
5.1 Pacientes	61
5.2 Exame de Tomografia Computadorizada	66

5.3 Planejamento Cirúrgico	72
5.4 Tratamento Cirúrgico	74
5.5 Tratamento Quimioterápico	77
5.6 Análise de Sobrevida.....	78
5.7 Análise Histopatológica	78
5.8 Análise Imunoistoquímica	81
6 DISCUSSÃO	86
7 CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE.....	114

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Desde sua primeira descrição em 1991 (HENDRICK; DUNAGAN, 1991) o Sarcoma de Aplicação Felino (SAF) desafia o Médico Veterinário, conduzindo-o a uma abordagem mais específica, visando melhor caracterização neoplásica e tratamento adequado. Histopatologicamente, na maioria dos casos, o SAF apresenta anaplasia, elevado número de mitoses atípicas e agressividade local, com invasão de tecidos adjacentes lateralmente e profundamente, apresentando altas taxas de recidivas. Geralmente, aparecem clinicamente como nódulos ora firmes ora flutuantes e/ou massas difusas mistas, porém, em condições mais crônicas, observam-se formações ulceradas amplas e indolentes. Estas características podem estar relacionadas com peculiaridades individuais e comuns à espécie felina e ao tempo de evolução da neoplasia. A diversidade de tipos histopatológicos descritos como SAF e sua possível etiogenia estar ligada à inflamação persistente sugerem que alterações no microambiente pericelular podem ter relação com a gênese neoplásica. Além disso, a presença de uma pseudo-cápsula e de agregado linfoplasmocítico periférico, na maioria dos casos, corroboram com essa hipótese de um microambiente inflamado próprio e favorável ao desenvolvimento neoplásico.

Com o aumento dos pacientes felinos na realidade do médico veterinário, este se depara com um paciente de índole, tamanho e com aparelho bucal muito diferente da espécie canina. Essa dificuldade também é encontrada na escolha da medicação, sendo que, por vezes, deve-se dividir algumas vezes um comprimido, tendo em vista o baixo peso da espécie felina. A dificuldade de manipulação e de administração de medicações aos pacientes felinos, tanto pelo médico veterinário quanto pelo proprietário, ocasiona um aumento das prescrições injetáveis nesta espécie. Sabidamente, as aplicações injetáveis causam reações inflamatórias localizadas, mesmo que muito discretas. Quando esta reação se torna severa ou perdura por longos períodos, pode haver estímulos para a gênese neoplásica. A esta reação pode se adicionar o fato do tecido adiposo ser apropriado à manutenção do ambiente inflamado.

Por vezes o Médico Veterinário encontra-se em um dilema ético, conforme descrito por Wilcok, Wilcock, e Bottoms (2012), continuar utilizando os produtos mais

baratos que necessitam de reaplicação a cada 3-4 anos, aceitando os riscos de aparecimento de SAFs (1-2 por ano) e de possível doença pela não efetividade da vacina? Ou adotar as recomendações de utilizar, ou pelo menos recomendar, vacina vetorial sem adjuvantes anual por sua segurança, mais onerosas? Além disso, como explicar ao proprietário que a aplicação pode causar um sarcoma, durante a vacinação de um filhote de 4 meses?

As atuais circunstâncias de vida dos felinos domésticos na cidade de São Paulo incluem castração precoce (antes de um ano de vida) e alimentação de qualidade, porém associadas ao sedentarismo. Os animais nessas situações acabam por desenvolver quadros de obesidade, com acúmulo de gordura nas regiões torácica e abdominal. Sendo a região tóraco-abdominal a mais comumente utilizada para realizações de aplicações subcutâneas em felinos no Brasil, pode haver uma relação entre a gordura presente em excesso nos pacientes, aplicações injetáveis e a reação inflamatória ocasionada e o aparecimento do sarcoma de aplicação.

A causa indutora e o processo neogênico envolvidos com o aparecimento, desenvolvimento e recidivas frequentes do SAF permanecem desconhecidos, podendo ser justificados pelo estímulo inflamatório perene causado pela aplicação no tecido adiposo e por predisposição individual, com presença de alterações genéticas prévias particulares. A finalidade das pesquisas recentes é elucidar a patogenia molecular do SAF, bem como desenvolver seus marcadores prognósticos e estratégias racionais de prevenção e abordagem.

Ao caracterizar essa neoplasia por imunologia e histopatologia, correlacionando-a com as peculiaridades do paciente, como escore de condição corporal e peso, e com seu comportamento clínico, pode-se prever mais adequadamente o prognóstico e propor melhores tratamentos, sugerindo algumas predisposições, tanto individuais quanto ambientais, e medidas preventivas.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia

O SAF foi descrito pela primeira vez em 1991, quando dois patologistas observaram aumento dos casos de neoplasias de tecidos moles, especificamente sarcomas, na espécie felina no serviço de patologia da faculdade da Pensilvânia (HENDRICK; GOLDSCHIMIDT, 1991). Ao iniciarem a pesquisa, constataram que concomitantemente a este aumento iniciava-se a vacinação contra FelV e tornou-se obrigatória a vacinação antirrábica anual, ambas manufaturadas com vírus mortos e adjuvante a base de alumínio. Por esse motivo, inicialmente esta neoplasia era chamada de Sarcoma Vacinal. Inúmeras observações e estudos realizados pelo Dr. Hendrick e outros pesquisadores solidificaram e amadureceram o entendimento do SAF. Mesmo após 20 anos o SAF ainda é considerado uma importante doença de gatos e, embora várias terapias prolonguem a vida de alguns pacientes, o prognóstico geralmente é ruim, com evolução para eutanásia, na maioria dos pacientes ao fim das possibilidades de tratamento (HENDRICK, 2011).

Após sua descrição e publicação na literatura, médicos veterinários informaram aos proprietários sobre a possibilidade do aparecimento de neoplasia após a vacinação. Proprietários e médicos veterinários iniciaram um questionamento do procedimento, sendo diminuída drasticamente a vacinação anual de felinos nos EUA, mesmo para vacinas obrigatórias como a antirrábica (HENDRICK, 1998a), já havendo relatos de aumento na incidência de raiva em animais domésticos (BLANTON et al., 2005). Por esses motivos e por outras aplicações injetáveis também estarem ligadas à gênese do sarcoma, em 2003, Jelineck sugere uma nova nomenclatura, Sarcoma de Aplicação Felino. Em resposta a angustia dos proprietários e Médicos Veterinários, em novembro de 1996, foi formada a Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force (VAFSTF), com o objetivo de identificar métodos de prevenção, diagnóstico e tratamentos mais eficazes (STARR, 1998). Sugeriu-se, também, mudança na localização de aplicações de vacinação, evitando-se áreas do tronco e padronizando o local de realização das administrações. Mesmo

após alterações, observou-se em 20 anos somente a mudança de principal localização de interescapular para membros pélvicos, além disso, não se ressaltou diferença na prevalência da doença, sugerindo que tais mudanças devem ser aprimoradas ou revisadas (WILCOCK; WILCOK; BOTTOMS, 2012).

Em estudo epidemiológico, multicêntrico, no qual foram incluídos 185 pacientes com sarcomas no local de vacinação e 160 pacientes com sarcomas em outras localizações, não relacionadas às vacinações, Kass et al. (1993), relataram que é evidente a correlação entre o desenvolvimento neoplásico e vacinações antirrábica e FeIV, sendo a chance de gênese neoplásica de 5,49 e 1,99 vezes maior, respectivamente. O risco estimado de desenvolvimento de sarcoma na população felina é baixo, em torno de 20 casos para cada 100.000 gatos (HAUCK, 2003). O número de vacinações em um mesmo local aumenta a chance de desenvolvimento neoplásico, sendo 50% maior em uma aplicação, 127% maior com duas aplicações e 175% maior após 3 ou mais aplicações (KASS et al., 1993).

O alumínio presente no adjuvante das vacinas foi comprovadamente associado à gênese neoplásica (HENDRICK et al., 1992; OLGIVE; MOORE, 1995), porém posteriormente, dois estudos multicêntricos não demonstraram que vacinas com alumínio apresentam maior ou menor risco de desenvolvimento neoplásico do que vacinas sem alumínio (KASS et al., 1993; HENDRICK et al., 1994). Além disso, no estudo de Hendrick et al. (1994), não foram encontradas quaisquer diferenças de tipo e fabricante nas vacinas administradas em pacientes que apresentaram SAF e pacientes portadores de Sarcomas não relacionados à vacinação. Em 1993, Kass et al. observaram relação entre o desenvolvimento de sarcoma e as vacinações antirrábica e anti-FeIV. Em estudo multicêntrico posterior, 2003, Kass et al. demonstraram que nenhuma marca específica de vacinas ou modo de fabricação, como classe de antígenos, mostrou-se associada à gênese do SAF, além daquelas já descritas em 1993. Aceita-se que as reações inflamatórias e imunológicas persistentes, associadas ao alumínio no local da aplicação, podem predispor uma perturbação na resposta reparadora do tecido conjuntivo fibroso felino, levando à neoplasia (ESPLIN et al., 1993), porém isso só é observado em alguns pacientes.

Segundo Macy e Hendrick (1996), a resposta inflamatória crônica ou exacerbada, causada pelos adjuvantes ou por outros componentes das vacinas ou aplicações mostra-se correlacionada com o desenvolvimento do SAF. Moore e HogenEsch (2010), sugerem que essa inflamação é exagerada, sendo que a gênese

neoplásica pode estar mais relacionada com uma reação inflamatória inadequada, na qual os fibroblastos sofrem transformações malignas e seus oncogenes codificam e/ou expressam fatores de crescimento e seus receptores. Além disso, em outro estudo a resposta felina à vacinação comercial foi diferente da apresentada por martas e ferrets, sugerindo que diferenças individuais à espécie felina podem predispor ao aparecimento do sarcoma no local de aplicação (CARROLL et al., 2002). Sabe-se, há alguns anos, que a irritação, inflamação e/ou trauma são promotores de crescimento neoplásico (ARGYRIS, 1985; DVORAK, 1986), e alguns exemplos clínicos já foram descritos (DUBIELZIG, 1984; DUBIELZIG et al., 1990; ESPLIN; MACGILL, 1999; KASS et al., 2003; LESTER et al, 1996; BURACCO et al., 2002; MUNDAY et al., 2011; CARMINIATO et al., 2011). As neoplasias são resultados de múltiplas alterações genéticas e o ambiente no qual essas alterações ocorrem, influencia o resultado dessas alterações genéticas tanto promovendo quanto suprimindo células transformadas (MACY; HENDRICK, 1996).

Hendrick et al. (1994) publicaram pesquisa, na qual foram incluídos 181 pacientes com sarcomas desenvolvidos no local de aplicação e 58 sarcomas oriundos de outras localizações não relacionadas com a vacinação. Observaram na pesquisa que a média de idade de apresentação de SAF era significativamente menor daquela encontrada em pacientes com sarcomas não relacionados à vacinação e que as dimensões das formações diagnosticadas como SAF eram maiores. Além disso, os sarcomas decorrentes de vacinação apresentavam menor intervalo livre de doença, mais recidivas e que o desenvolvimento neoplásico variava de 3 meses até 3 anos após a vacinação. Os pacientes diagnosticados com SAF apresentaram sobrevida maior do que aqueles que foram diagnosticados com sarcomas não relacionados à vacina, isso pode ser explicado pela média de idade de acometimento ser menor nos pacientes portadores de SAF. Esplin et al. (1993) estudaram 176 pacientes com SAF e observaram um tempo maior de aparecimento de sarcoma após a vacinação, sugerindo um período de latência de até 10 anos.

Desde sua descrição, os relatos de pacientes apresentando SAF aumentaram (GOBAR; KASS, 2002). Em alguns países, estudos afirmam que o SAF representava 40% das neoplasias cutâneas de felinos, sendo o mais frequente nesta espécie (ECKSTEIN et al., 2009). Em 1992, Hendrick e Goldschmidt descreveram que 5.8% das neoplasias encaminhadas ao serviço de patologia eram SAF e em 1993, Esplin e Kass encontraram a proporção de 3.5%. A prevalência descrita está

entre 0,001 a 0,25% (KASS et al., 1993; LESTER et al., 1996; HENDRICK, 1998a; BABER et al., 2000; GOBAR; KASS, 2002). A incidência estimada em 1992, foi de 1 paciente acometido com SAF para cada 10.000 vacinas aplicadas (COYNE; REEVES; ROSEN, 1997), porém em estudo retrospectivo da mesma época foi relatada uma incidência que chega em 1 caso para cada 1000 felinos (LESTER et al., 1996). Outros estudos, descrevem uma estimativa de incidência de 0,32 casos para cada 10.000 vacinações, sugerindo que o SAF é raro (GOBAR; KASS, 2002) e de até 2 doentes/10.000 aplicações (KASS et al., 1993, MACY; COUTO, 2001; MARTANO; MORELLO; BURACCO, 2011). A variação de valores de estimativas de incidência pode ser explicada pela sua etiologia multifatorial, diferenças regionais nas aplicações e de aparecimento neoplásico pelo corpo do paciente, o efeito somatório de aplicações no mesmo local, indicando uma soma de acontecimentos para o desenvolvimento do sarcoma (BERGMAN, 1998; GOBAR; KASS, 2002; MARTANO, MORELLO; BURACCO, 2011).

A idade média de acometimento de felinos com SAF está em torno de 8-9 anos (HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996; DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; VASCELLARI et al., 2003; CARNEIRO, 2006). Em sarcomas não relacionados com a aplicação a média de idade de acometimento é maior, em torno de 10-12 anos (VASCELLARI et al., 2003; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005). Além disso, SAF são maiores, mais agressivos e têm maior taxa de recidiva que sarcomas não derivados de vacinação (HENDRICK, 1994). Os sarcomas de tecidos moles representam 7-9% de todas as neoplasias de pele e subcutâneo de felinos (DILLON; MAULDIN; BAER, 2005).

O SAF possui baixa taxa metastática, 15%-28% porém quando ocorrem, geralmente acometem os pulmões, seguidos de linfonodos e demais órgãos internos (KOBAYASHI et al., 2002; HAUCK, 2003).

2.2 Etiologia Neoplásica

A gênese do SAF ainda permanece obscura, a estimulação causada pela inflamação crônica, dano oxidativo, por meio de citocinas, e fatores de crescimento,

podem estimular a proliferação e transformação de fibroblastos e miofibroblastos. A isso se associam fatores ambientais e hereditários, como diferenças imunológicas, reação inflamatória individual, retrovírus endógenos, super-expressão ou mutação de oncogenes, inativação de genes supressores de tumor e modulação de genes apoptóticos (HENDRICK et al., 1992, 1994; BERGMAN, 1998; HENDRICK, 1998b). À vacina resta a presença de adjuvantes, a severidade e tipo de inflamação que podem causar, dos produtos da fabricação da vacina (antígenos e cultura celular), e da presença de contaminantes químicos ou virais (BERGMAN, 1998). O SAF pode ser oriundo da proliferação de fibroblastos e miofibroblastos no local da inflamação crônica induzida pelos adjuvantes e/ou antígenos presentes na vacina (ESPLIN et al., 1993; HENDRICK; BROOKS, 1994). Acredita-se que a neoplasia surge por meio de transformação de fibroblastos reativos na periferia do nódulo da celulite necrosante e granulomatosa no local da aplicação, sendo que se estima que somente 5% destes nódulos se alteram de forma maligna, não justificando sua excisão cirúrgica (GOBAR; KASS, 2002).

A marcante diversidade observada na doença neoplásica pode ser explicada pelas seis capacidades adquiridas pelas células durante desenvolvimento neoplásico, estas capacidades são chamadas de “Hallmarks of Cancer” (HANAHA; WEINBERG, 2011) e são elas: (1) sinalização de crescimento sustentada; (2) evasão dos supressores de crescimento; (3) resistência à morte celular; (4) permissão da replicação imortal; (5) indução da angiogênese; (6) invasão ativa com formação de metástases. Sabe-se que por trás dessas características estão a instabilidade genômica, gerando fatores individuais, e a inflamação, que justificam muitas destas alterações e são alvos para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos.

Já foi observado no SAF imunoreatividade para fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de transformação β (TGF β), fator de crescimento endotelial (EGF) e seus respectivos receptores (HENDRICK, 1999; HAUCK, 2003). Esses fatores de crescimento apresentam marcações fracas no sarcoma não relacionado com aplicação (HAUCK, 2003). O aumento da incidência desse tipo neoplásico pode estar relacionado com o aumento da estimulação imunológica, por vacinações repetidas, de uma população felina geneticamente sensível (JELINEK, 2003; BANERJI et al., 2007; MOORE; HODENESCH, 2011). A expressão exagerada de c-jun, c-kit e mutação do p53 também já foram descritas no SAF. O gene c-jun

forma a proteína AP-1, juntamente com a proteína c-Fos, iniciando a oncogênese estimulando os fibroblastos a saírem do estado quiescente (HENDRICK, 1999; HAUCK, 2003). Alteração da proteína c-kit foi descrita em sarcomas de tecidos moles de felinos e sua correlação com o prognóstico e tratamento ainda não foram elucidados, sendo que neste trabalho a alteração de c-kit e o grau histológico não foram considerados fatores prognósticos (SMITH et al., 2009). Já o gene p53 é responsável pela regulação da apoptose e sua alteração e/ou presença no citoplasma indica pior prognóstico, com maior chance de recidiva, e contribui para a progressão neoplásica. (NAMBIAR et al., 2000, 2001; NIETO, 2003; HERSHEY et al., 2005). Além disso, Hershey et al. (2005) observaram marcação em região periférica ao SAF, em células de morfologia normal, sugerindo uma extensão microscópica molecular da neoplasia primária ou lesão pré-neoplásica. Esse fenômeno é chamado de *Field Cancerization* (WILLIAMS et al., 1999). No SAF a mutação do p53 já foi identificada em células do tecido normal, em margens de até 5cm da neoplasia primária (WILLIAMS et al., 1999; KANJILAL et al., 1999). A neoplasia maligna, também chamada de câncer, é uma doença complexa, contendo várias etapas de desenvolvimento, sendo possível que fatores predisponentes genéticos associados à inflamação no local da aplicação e fatores ambientais, como uso de adjuvantes em vacinas, corroborem na etiologia e desenvolvimento do SAF (GOBAR; KASS, 2002; BANERJI et al., 2007).

A presença da pseudocápsula inflamatória nos SAF sugere que a inflamação pode estar relacionada com a oncogênese neoplásica (HAUCK, 2003). Em 1992 já havia algumas formações neoplásicas que se apresentavam na transição entre a inflamação granulomatosa e a neoplasia propriamente dita (HENDRICK et al., 1992). Algumas vacinas contra FeLV e antirrábica produzem nódulos em 100% dos pacientes após a aplicação, esses nódulos desaparecem em 2-3 meses (MACY; COUTO, 2001).

Em muitas neoplasias humanas, a inflamação mostra-se ligada à gênese, manutenção e promoção neoplásicas (MANTOVANI, 2008). Estudos epidemiológicos demonstram que inflamações crônicas predispõem o indivíduo a neoplasia, sendo que 15-20% de mortes humanas por neoplasia estão ligadas à resposta inflamatória ou às infecções (MANTOVANI, 2008).

A marcação para Cox-2 já está padronizada para diversos outros tipos de neoplasias humanas, principalmente de origem epitelial, como carcinomas e

adenocarcinomas. Sendo que a enzima Cox-2 estimula o processo de transformação maligna e progressão neoplásica, afetando a proliferação celular, estimulando a divisão, diminuindo a adesão intercelular, desregulando a apoptose, estimulando a angiogênese neoplásicas e alterando a vigilância do sistema imune (WILLIAMS; MANN; DUBOIS, 1999).

A ligação neoplasia-inflamação pode ser vista englobando dois mecanismos: um extrínseco, no qual sinais inflamatórios derivados de infecções e doenças auto-imunes estão envolvidos, e um intrínseco, no qual alterações genéticas causam ambas, a inflamação e a neoplasia (MANTOVANI, 2008). O autor menciona ainda que ambos os mecanismos ativam fatores de transcrição relacionados à inflamação, principalmente TNF- κ B, HIF-1 α , STAT3, os quais são indutores dos mediadores da inflamação, como citocinas, quimiocinas, prostaglandinas e óxido nítrico. O processo inflamatório seria responsável por estimular a proliferação, sobrevivência e transição celular epitelial-mesenquimal, angiogênese e linfangiogênese, migração de células neoplásicas, invasão e metástases, inibição da imunidade adaptativa e respostas alteradas a hormônios e agentes quimioterápicos (MANTOVANI, 2008).

Nos processos inflamatórios, neoplásicos ou não, temos a presença celular de macrófagos e linfócitos. Dependendo do estímulo às citocinas e quimiocinas o fenótipo 1 ou 2 será estimulado. O fenótipo1 é o responsável pela resposta inflamatória mais exacerbada e agressiva, já o tipo 2 é responsável pela regulação da resposta inflamatória, modulador, tornando a resposta inflamatória em um processo mais brando. O desequilíbrio destes fenótipos, causados por estimulações celulares, promovem um microambiente mais ou menos favorável a neoplasia (MANTOVANI, 2008). Foi observado que a maior proporção celular presente no infiltrado inflamatório do SAF é composta por células Thelper (COUTO et al., 2002). No SAF os linfócitos podem ser definidos em duas linhagens também Th1 e Th2 (HENDRICK, 1998b). A alta atividade do IFN- γ , IL-2 e IL-12, podem sugerir a dominância da resposta Th1, indicando imunidade celular, enquanto alta atividade de IL-4 pode sugerir a dominância da resposta Th2, associada à resposta humoral (HENDRICK, 1998b).

Os linfócitos presentes no SAF ou em reações após aplicações são marcados positivamente para PDGF, sendo que isto não é observado em sarcomas não relacionados com aplicações, sugerindo que linfócitos no SAF podem secretar PDGF para recrutamento de macrófagos e para estimular a proliferação fibroblástica

(HENDRICK, 1998b e 1999). Como acontece com os linfócitos Thelper, nos macrófagos temos as ativações clássica e alternativa, polarizando para o fenótipo M1e M2, respectivamente (MANTOVANI et al., 2002; GORDON; TAYLOR, 2005). Usualmente, as células M2 participam nas respostas Th2, ajudando com a eliminação de parasitas, a atenuação da inflamação, o remodelamento tecidual e progressão neoplásica, com funções imunoregulatórias (BIWAS; MANTOVANI, 2010). Alterações de fenótipos de macrófagos também foram relatadas em tecidos de obesos (LUMENG et al., 2007). As células mielomonocíticas possuem um complexo de interação bidirecional com os linfócitos, tanto os inatos quanto com os adaptativos, sendo que se estimulam através da produção de citocinas e quimiocinas, sendo que fatores produzidos e liberados pela neoplasia sustentam a mielopoiese, o acúmulo e diferenciação funcional dessas células (BISWAS; MANTOVANI, 2010). Estas células influenciam todas as etapas da carcinogênese e da progressão neoplásica, incluindo: (1) contribuição para alteração e instabilidade genética; (2) controle da senilidade (REIMANN et al., 2010); (3) promoção da angiogênese e linfangiogênese (LIN et al., 2006; MURDOCH et al., 2008); (4) supressão da resposta imune adaptativa (BISWAS; LOPEZ-COLLAZO, 2009); (5) interação e remodelamento da matriz extracelular; e (6) estimulação da invasão e da formação de metástases (LIN et al., 2006).

Os leucócitos presentes nas neoplasias são os macrófagos associados ao tumor (TAMs), mastócitos e células T, e cada um destes pode estar envolvido nos processos de carcinogênese, invasão e/ou metástase (MANTOVANI, 1992; LIN, 2001; BUNT, 2007).

Os TAMs, geralmente, possuem uma polarização M2, o qual promove crescimento neoplásico, remodelação tecidual, promove angiogênese e suprime a imunidade adaptativa (DEPALMA, 2005; MANTOVANI, 2002) e foram descritos como “parceiros obrigatórios para a migração celular neoplásica, invasão e metástase (CONDEELIS, 2006). Em camundongos modificados, deficientes em macrófagos, utilizou-se um modelo para estudo de neoplasia mamária, as células neoplásicas se desenvolveram normalmente, porém não foram capazes de induzir metástases pulmonares por falta de TAMs (LIN et al., 2001). Os macrófagos M2 também são responsáveis pela manutenção da angiogênese e linfangiogênese através da liberação de agentes pró-angiogênicos, agindo como “pontes celulares”

guiando a fusão de anastomoses vasculares e facilitando a gênese vascular (MANTOVANI et al., 2002; MURDOCH et al., 2008; SCHMIDT; CARMELIET, 2010).

As células T reguladoras (Treg) estão presentes nos tecidos neoplásicos e, geralmente, estão associadas com mau prognóstico (BISWAS; MANTOVANI, 2010). Sinais provenientes das Treg, presentes na massa neoplásica ou das próprias células neoplásicas podem promover essa polarização para o fenótipo M2 dos macrófagos recrutados para a neoplasia (MANTOVANI, 2002; DEPALMA, 2005;). Tanto a resposta imune anti-neoplásica inata quanto a adaptativa é suprimida por células Treg neoplásicas, as quais também polarizam o macrófago para M2, promovendo melhor microambiente favorável à neoplasia (MANTOVANI, 2008). As Tregs, além de suprimir a imunidade anti-neoplásica do hospedeiro, limitam a eficácia terapêutica das imunoterapias anti-neoplásicas, sendo consideradas como o maior obstáculo para o desenvolvimento de uma vacina efetiva e terapêutica anti-neoplásica (BAECHER-ALLAN; ANDERSON, 2006; MIYARA; SAKAGUCHI, 2007; WANG; WANG, 2007;). Fibroblastos associados à neoplasia, isolados da pele de modelo carcinogênico, apresenta um fenótipo inflamatório que estimula a infiltração por macrófagos, a angiogênese e o desenvolvimento de carcinoma de células escamosas transplantado (EREZ et al., 2010). A célula Treg apresenta marcação CD4+ e CD3+ (COUTO et al., 2002; WANG; WANG, 2007; LI et al., 2009), sendo o Foxp3 o melhor marcador para células CD4+ Treg em camundongos (HORI et al., 2003) e humanos (WANG et al., 2004). Dentre os fatores cruciais que contribuem para a conversão de células T nativas em Treg na periferia e no microambiente neoplásico estão as altas doses de antígenos, as citocinas e as moléculas de coestimulação produzidos por células neoplásicas (WANG; WANG, 2007).

As células inflamatórias e seus mediadores estão envolvidos tanto no início da gênese neoplásica quanto na migração, invasão e metástases de células neoplásicas malignas (MANTOVANI, 2008). As citocinas/quimiocinas inflamatórias e seus receptores afetam a mobilidade, capacidade de invasão e sobrevivência celular fisiológica e neoplásica (MULLER, 2001; BALKWILL, 2004). Além disso, os receptores de citocinas/quimiocinas estão expressos nas células malignas neoplásicas de tecidos variados e estão relacionados com metástases órgão-específicas (KAWADA, 2004; SHIELDS, 2007; ZIPIN-ROITMAN, 2007).

Quimiocinas e citocinas coordenam uma interação autócrina e parácrina entre as células neoplásicas e o infiltrado leucocítico peri-neoplásico, aumentando

migração, invasão, metástases e sobrevivência de células malignas (MANTOVANI et al., 2008).

Geralmente, a inflamação isolada não é capaz de induzir a transformação neoplásica por si só, fatores individuais do hospedeiro, como infecções com vírus oncogênicos e mutações genéticas, são considerados essenciais para a transformação celular e iniciação neoplásica (HAUCK, 2003). A presença de FeIV, bem como do vírus do sarcoma felino (FeSV), e FIV parecem não estar associados ao desenvolvimento de SAF (HENDRICK et al., 1994; ELLIS et al., 1996).

Ao pesquisar-se presença de DNA viral nas amostras de tecidos de SAF, Kidney et al. (2000, 2001a, b, c, 2002), não encontraram nenhuma presença e associação com a gênese neoplásica. A identificação de alterações cromossômicas no SAF pode indicar o indivíduo com risco de desenvolvimento neoplásico, bem como elucidar sua patogenia (HAUCK, 2003).

Nos felinos, outro fator que pode estar ligado à gênese neoplásica do SAF é o tecido adiposo no local da aplicação e a inflamação causada nesse tecido, bem como seu próprio caráter inflamatório crônico. Obesidade é um problema que vem se tornando cada vez mais comum na espécie felina (LAFLAMME, 2006). Pesquisadores descrevem uma incidência média de 30% a 50% de felinos obesos (SLOTH, 1992; SCARLETT et al., 1994; COLLIARD et al., 2008; COUCIER et al., 2010).

O tecido adiposo é considerado um produtor de hormônios ativos, como a leptina, adiponectina, angiotensinogênio, resistina e diversas citocinas (TNF- α , IL-1 β e 6 e proteína C reativa) que estimulam a inflamação (MILLER et al., 1998; COPPACK, 2001; TRAYHURN; BING, 2006). Além disso, os adipócitos possuem um papel regulatório na manutenção da obesidade e em diversas doenças a ela relacionadas (MILLER et al., 1998). Um estudo no qual o tecido adiposo foi estimulado por meio de agonistas de receptores envolvidos na regulação de lipídeos, glicose e metabolismo de insulina (PPAR), observou-se estímulo à adipogênese e proliferação sustentada de gordura subcutânea de ratos, induzindo o aparecimento de fibrossarcoma em tecido subcutâneo de parede torácica e abdominal em ratos saudáveis (GLINGHAMMAR, 2011).

Em felinos obesos, foram observados níveis significativamente maiores de TGF- α no tecido adiposo, quando comparados com pacientes de peso normal (MILLER et al., 1998). A obesidade causa aumento do estresse oxidativo e está

correlacionada com outras doenças como osteoartrose, doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus*, devido à inflamação de baixa intensidade, secundária e persistente causada pelo tecido adiposo (COPPACK, 2001).

O tecido adiposo hoje é considerado um órgão, possuindo células características, sendo que estas possuem capacidade de armazenamento de algumas substâncias lipossolúveis, mantendo o ambiente “inflamado” (BOBIS et al., 2006). Em estudos recentes demonstrou-se que células inflamatórias moduladoras, como o Linfócito T regular e os macrófagos associados aos tumores (TAMs), parecem promover um microambiente favorável ao crescimento neoplásico (BISWAS; MANTOVANI, 2010), justificando a presença de infiltrado inflamatório na maioria das neoplasias.

Além de possuir um ambiente favorável ao desenvolvimento neoplásico, o tecido adiposo tem se mostrado como grande fonte de células-tronco mesenquimais (CTM) (BOBIS et al., 2006). A ativação das CTMs observada durante a cicatrização de um ferimento assemelha-se àquela observada quando uma neoplasia está presente (VALTIERI; SORRENTINO, 2008). Sugere-se que CTMs participam da fase de neo-angiogênese promovida pelo melanoma (SUN et al., 2008), também interagem positivamente com células leucêmicas (TABE et al., 2007) e integram o estroma tumoral de tumores epiteliais, estimulando metástases (LAIRD et al., 2008).

As células-tronco caracterizam-se por terem capacidades de auto-regenerar-se, clonalidade e possuir totipotencialidade, elas são divididas em células-tronco medulares ou hematopoiéticas, que estão localizadas na medula óssea, e células-tronco mesenquimais, presentes nos tecidos diferenciados (RODRIGUEZ, et al., 2005; GIMBLE et al., 2007;). Do mesmo modo, podem modular a função da população de células imunes como células apresentadoras de antígenos, células T e B, e células natural-Killer, ajudando na manutenção do microambiente favorável à proliferação neoplásica (NOËL et al., 2007).

Em 1997, Laflamme validou um escore de condição corporal, no qual são classificados os pacientes entre subalimentado, adequadamente alimentado e sobre-alimentado. Neste trabalho uma das características marcantes é a presença de cobertura de tecido adiposo em região torácica lateral e lombar, nas quais comumente são realizadas as aplicações injetáveis subcutâneas em felinos no Brasil, podendo contribuir para uma maior incidência de SAF. Não há relatos de trabalhos que indiquem a presença de CTM em tecido adiposo de felinos.

Outras aplicações injetáveis também foram descritas como possíveis indutoras do SAF, como lufenuron (ESPLIN; MACGILL, 1999), esteróides e antibióticos de longa ação (KASS et al., 2003), outras vacinas de vírus mortos (LESTER et al., 1996) e traumatismos, por mordedura ou por fio cirúrgico não absorvível (DUBIELZIG et al., 1984; BURACCO et al., 2002), mais recentemente, por aplicação subcutânea de meloxicam (MUNDAY et al., 2011) e implante de microchip (CARMINIATO et al., 2011).

Os fibrossarcomas felinos derivados da vacinação são histologicamente idênticos àqueles observados em áreas previamente traumatizadas (SMITH, 1995; HENDRICK, 1998a), apresentando juntamente à camada muscular, agregados linfocíticos periféricos e macrófagos contendo substância globosa cinza-amarronzada, sugerindo uma gênese comum. Quando comparamos sarcomas em geral, o tipo neoplásico SAF e um volume inicial maior que 2cm estão associados com menor sobrevida (DILLON; MAULDIN; BAER, 2005).

Kass et al. (1993) demonstraram uma associação estatisticamente significativa entre as vacinações contra FeLV e raiva e o desenvolvimento de sarcomas no local da aplicação após um ano. Não foi comprovada a relação da infecção pelos vírus da leucemia felina e da imunodeficiência felina na gênese neoplásica, sendo que em somente 2% dos pacientes acometidos a neoplasia é induzida por vírus (NORTH; BANKS, 2009).

2.3 Apresentação Clínica

O SAF é caracterizado clinicamente pelo aparecimento de um nódulo solitário firme ou massa difusa multinodulada, aderido a planos profundos e em região onde foi previamente realizada uma aplicação ou produzido um trauma (HENRY, 2001), apresentando rápido crescimento, baixa taxa metastática e com período de latência variável, podendo ser longo (ESPLIN et al., 1993; GOBAR; KASS, 2002; MARTANO; MORELLO; BURACCO, 2011). O longo período de latência pode ser responsável pela dificuldade em correlacionar o aparecimento do sarcoma com aplicações e/ou traumas (VAFSTF – vaccine-associated feline sarcoma task force, 2005).

Por vezes, apresenta áreas císticas compatíveis com necrose central (HAUCK, 2003). O rápido crescimento e invasão local é mais característico dos sarcomas relacionados às aplicações do que aqueles não associados, sendo maiores no momento do diagnóstico e mais recidivantes após procedimentos cirúrgicos (HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996; SEGUIN, 2002). A sua única provável causa é a administração prévia de vacina, sendo que somente as vacinas antirrábica e anti-FelV possuem associação comprovada com esta gênese (KASS et al., 1993; ESPLIN et al., 1993).

Por recomendações da VAFSTF (2005), após uma aplicação ou vacinação, deve-se registrar a localização anatômica, forma e tamanho de todas as formações que surgirem e qualquer aumento de volume que esteja presente por mais de um mês, seja maior que 2 cm de diâmetro ou que persista por mais de 3 meses é uma formação altamente suspeita para SAF, sendo necessária sua avaliação por biópsia. Após essas recomendações não houve alteração na idade média dos pacientes acometidos, nem na prevalência da afecção, todavia houve diminuição dos casos de SAF na região interescapular e aumento da incidência nos membros pélvicos (SHAW et al., 2009).

Para estadiamento da formação, em seguida deve-se realizar o básico de exames sanguíneos (hemograma completo, bioquímica sanguínea, exame de urina tipo I) e exame de raio-x de tórax. Exames de imagem mais avançados, como tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética devem ser realizados para o planejamento do tratamento. O tratamento deve ser sempre acompanhado por um oncologista e, em caso de procedimento cirúrgico, toda a peça excisada deve ser encaminhada ao serviço de patologia, com margens marcadas com tinta ou fio de sutura (VAFSTF, 2005).

2.4 Classificação Histopatológica

Os SAF são considerados mais agressivos que os sarcomas não relacionados às aplicações, devido às suas projeções em formas de dedo, que invadem o tecido adjacente, e às altas taxas de crescimento e de recidiva (LANA;

OLGIVE, 1997). Apresentam predominantemente, em localização perivascular, na periferia da neoplasia infiltrado de linfócitos e alguns macrófagos com citoplasma azul acinzentado, provavelmente associado à fagocitose de material adjuvante (HENDRICK et al., 1992; HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996).

A análise histopatológica pode sugerir fortemente um SAF, porém somente associada a uma aplicação ou um trauma prévio diagnostica-se um SAF (WILCOCK, B.; WILCOCK, A.; BOTTOMS, 2012).

A classificação histopatológica de sarcomas atualmente utilizada baseia-se na diferenciação celular, presença e extensão de necrose e taxa de mitoses da neoplasia, variando entre grau I, grau II e grau III (POWERS et al., 1995; COUTO et al., 2002). Sendo, em relação à diferenciação celular, escore 1 quando a neoplasia se mostra bem diferenciada; escore 2 quando se apresenta com moderada diferenciação; e escore 3 quando possui pouca diferenciação. Em relação à taxa de mitoses atípicas por campo, com aumento de 400x, escore 1 quando apresenta 1 a 9 eventos; escore 2 de 10 a 19 eventos; e escore 3 mais de 20 mitoses por campo. Quanto à presença de necrose, escore 1 ausência de necrose; escore 2 presença de necrose em menos de 50% da área neoplásica; e escore 3 presença de necrose em mais de 50% da área neoplásica. Sendo que o grau de classificação será o resultado da soma dos escores obtidos, sendo grau I quando a soma de escores for entre 3 ou 4; grau II em escores 5 ou 6; e grau III na presença de escores 7, 8 ou 9.

Romanelli et al. (2008) descreveram que SAF de alto grau aumentam a probabilidade de metástases, levando a uma menor sobrevida, porém SAF de baixo grau não exclui o desenvolvimento de recidivas nem de metástases a distância. Sugerem que o grau histológico não é suficiente como prognóstico para recidivas e metástases, porém neoplasias de alto grau estão associadas a aumento do risco de desenvolvimento de metástases.

A maioria dos SAF é classificada como fibrossarcoma, sendo descritos também osteossarcomas, rabdomiossarcomas, condrossarcomas e fibrohistiocitoma maligno (MACY; HENDRICK, 1996; DODDY et al., 1996; COUTO et al., 2002).

Histopatologicamente são compostos por células irregulares fibroblastóides, fusiformes, redondas ou estreladas, arrançadas em feixes, com citoplasma escasso, no interstício colagenoso (MADEWELL et al., 2001). Pode se apresentar pseudo-encapsulado ou invadindo os tecidos adjacentes profusamente, contendo acentuada anaplasia, hipercromatismo nuclear, núcleo alongado e nucléolos inconspícuos,

além de formas multinucleadas na periferia, por vezes com conteúdo azul-acinzentado, provavelmente oriundo de fagocitose de material adjuvante (HENDRICK et al., 1998; COUTO et al., 2002).

A anaplasia elevada e agregados inflamatórios justificam, na maioria das vezes, uma abordagem diagnóstica baseada na imunoistoquímica, já que o componente inflamatório do microambiente promove alterações em células do tecido, mesmo sadio. Possui características histológicas que podem ser consideradas como únicas ou sugestivas de seu diagnóstico, como agregado linfohistiocítico periférico e centro necrótico (DODDY et al., 1996; MADEWELL et al., 2001).

A taxa média de recidiva descrita varia de 28% a 70% (QUINTIN-COLONNA et al., 1996; COUTO; MACY, 1998; MCENTEE; PAGE, 2001; BREGAZZI et al., 2001; COHEN et al., 2001; KOBAYASHI et al., 2001). A agressividade local contrasta com a baixa taxa metastática, sendo descrita como rara entre 12% e 21%, sendo que neoplasias classificadas histopatologicamente como grau III têm maior probabilidade de apresentar metástases (COHEN et al., 1998; KOBAYASHI et al., 2002; ROMANELLI et al., 2008; ECKSTEIN et al., 2009).

Confirmando sua origem fibroblástica ou miofibroblástica a maioria dos SAF apresenta marcação para vimentina, bem como para alguns marcadores de células musculares e de células neurais (HENDRICK; BROOKS, 1994, MADEWELL et al., 2001).

Apresentam marcação negativa para citoqueratina, CD34, antígeno de fator III, antígeno de membrana epitelial e fator 13a. Não houve sucesso na marcação para enzima Cox-2 nas formações classificadas como SAF, sendo que esta enzima pode influenciar na transformação maligna celular (WILLIAMS; MANN; DUBOIS, 1999).

2.5 Exames Complementares

A realização de exames de imagem, como a tomografia computadorizada (TC), com realce por contraste, e ressonância magnética, eles são preconizados

para avaliação de presença de metástases e determinação mais apurada do volume neoplásico e de margens cirúrgicas adequadas (HAUCK, 2003; MACY, 2004; ROMANELLI et al., 2008; NORTH; BANKS, 2009). Segundo McEntee e Page (2001) o volume neoplásico obtido por exame de TC pode ser o dobro do medido no exame físico. Carneiro, 2006, descreveu que o volume neoplásico medido por meio de análise do exame de TC é significativamente maior do que o medido no exame físico, além disso, as imagens obtidas no pré e pós-tratamento podem ser analisadas para comparação de eficiência de tratamento (CARNEIRO et al., 2009).

2.6 Tratamentos

O SAF é uma neoplasia localmente invasiva e seu tratamento deve ser agressivo, indicando-se uma abordagem multifatorial. O tratamento é focado na prevenção ou eliminação de recidivas locais e aumento da sobrevida e qualidade de vida dos pacientes acometidos. Mesmo em procedimentos mais radicais, com combinações de tratamentos, somente em alguns gatos a cura completa é obtida (NOVOSAD, 2003). Sendo que a excisão com margens livres de doença, associada ao primeiro procedimento cirúrgico, é o melhor fator prognóstico para aumentar o tempo livre de doença (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005; GIUDICE et al., 2010). Romanelli et al. (2008), ainda, descrevem que quando o SAF localiza-se em esqueleto apendicular aumentam-se as chances do tratamento ser eficaz, por possibilitar a retirada radical com emprego da técnica de amputação. Além disso, tipo de procedimento cirúrgico realizado, intervalo entre o procedimento cirúrgico e início da radioterapia, presença ou desenvolvimento de metástases e tamanho da formação inicial são fatores que possuem efeitos no tempo de sobrevida total (COHEN et al., 2001). Como a abordagem terapêutica deve ser multifatorial, deve-se proceder realizando exames complementares de imagem e sanguíneos laboratoriais objetivando a determinação do estado geral do paciente frente à afecção e extensão da neoplasia (CARNEIRO, 2006). Uma menor sobrevida e pior prognóstico estão correlacionados com recidiva, presença de metástase,

tamanho neoplásico avançado, alto grau histopatológico, cirurgião com pouca experiência e neoplasias localizadas em tronco (ROMANELI et al., 2008).

2.6.1 EXCISÃO CIRÚRGICA

Hoje a excisão cirúrgica radical, em bloco, e a radioterapia adjuvante é a melhor combinação de tratamento (MCENTEE; PAGE, 2001; LIPTAK; FORREST, 2007; ECKSTEIN et al., 2009). O procedimento cirúrgico somente, mesmo agressivo, incide numa falha de 30% a 70%, com média de sobrevida de 576 dias (COUTO; MACY, 1998; HERSHEY et al., 2000; BREGAZZI et al., 2001; KOBAYASHI et al., 2001; MCENTEE; PAGE, 2001). A excisão cirúrgica do SAF pode ser dificultada devido à extensão do seu crescimento, à disseminação/invasão das fáscias e por ser pobremente encapsulado (BROWN et al., 1978; KAHLER, 1993).

As metástases, quando aparecem, geralmente surgem em até 6 meses de pós-cirúrgico (MARCY; COUTO, 2001; HAUCK, 2003). A localização do SAF e a quantidade de procedimentos cirúrgicos estão ligadas ao maior ou menor intervalo livre de doença (ROMANELLI, 2008). Mesmo realizando tratamentos associados ao procedimento cirúrgico, como radioterapia e quimioterapia, a taxa de recidiva descrita é em torno de 10-25% (LESTER et al., 1996, HERSHEY et al., 2000; BREGAZZI et al., 2001). A recidiva é mais agressiva e geralmente localizada no plano da fáscia e na linha de excisão criados durante o procedimento cirúrgico (COHEN, et al., 2001).

Romanelli et al. (2008), descreveram que controlar a recidiva local e a disseminação metastática é determinante para aumentar a sobrevida total do paciente. Descrevem que o tratamento proposto baseado no volume neoplásico medido por meio do exame físico é inadequado, devendo-se sempre recorrer aos métodos de exames de imagem, como a TC e/ou RM, para obtenção de um volume neoplásico mais próximo do real. Além disso, outros fatores como localização, grau histopatológico, número de procedimentos cirúrgicos, presença de metástases e possibilidades de aplicação de tratamentos adjuvantes devem ser levados em consideração na sugestão de tratamentos.

O procedimento cirúrgico deve apresentar margens de 3 a 5 cm do tecido macroscopicamente sadio e deve conter pelo menos um plano de fáscia no bordo inferior, sendo que nestas margens podemos incluir amputação de processo espinhoso vertebral, escapulectomia total ou parcial, ressecção de costelas e/ou amputação de membros (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; MARTANO, MORELLO; BURACCO, 2011, PHELPS et al., 2011).

O primeiro procedimento cirúrgico associado às margens livres de células neoplásicas são os melhores valores prognósticos positivos, aumentando o intervalo livre de doença e sobrevida total (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; HERSHEY et al., 2000). O tamanho da formação no momento da intervenção cirúrgica mostra-se correlacionado negativamente com o tempo de sobrevida total (COHEN et al., 2001; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005).

Um estudo recente utilizou margens de 5 cm para o tratamento do SAF e mostrou-se eficaz no aumento do intervalo livre de doença, mas não na presença de metástases (PHELPS et al., 2011), sendo que estas margens foram determinadas somente pelo exame físico.

O tamanho da formação, bem como a experiência profissional do cirurgião, esta associado ao maior tempo de procedimento cirúrgico, levando a maior tempo de hospitalização e maiores complicações pós-operatórias, como seroma, a mais comum, deiscência, infecção e enfisema subcutâneo (DAVIS et al., 2007; PHELPS et al., 2011).

2.6.2 RADIOTERAPIA

Cohen et al. (1998) publicaram que a radioterapia adjuvante deve ser realizada logo após a excisão cirúrgica, 2-3 dias do pós-operatório, aumentando assim, a sobrevida livre de doença mesmo em margens estreitas, sendo a média de sobrevida dos pacientes tratados de 730 dias. Quando aplicada antes do procedimento cirúrgico relata-se como média de sobrevida 19 meses (CRONIN et al., 1998) e tempo médio livre de doença em 20 meses (KOBAYASHI et al., 2002).

Davidson, Gregory e Kass (1997) não observaram diferença estatística na sobrevida de grupo tratado com procedimento cirúrgico isolado ou associado à

radioterapia, porém sugerem estudo controlado prospectivo. As doses indicadas variam de 45 a 57Gy, aplicados em seções semanais de 350 a 500cGy (CRONIN et al., 1998; BREGAZZI et al., 2001; ECKSTEIN et al., 2009). O fracionamento de dose, com mais aplicações semanais ou até diárias, é mais adequado e promove maior média de sobrevida e de intervalo livre de doença (ECKSTEIN et al., 2009; BREGAZZI et al., 2001).

A radioterapia deve ser realizada com margens a partir de 3cm do volume neoplásico inicial (NORTH; BANKS, 2009). Geralmente os efeitos adversos observados são descamação, alopecia e despigmentação, podendo ocorrer leucotriquia, sendo observados somente no campo de aplicação da radiação (ECKSTEIN et al., 2009; COHEN et al., 2001).

2.6.3 QUIMIOTERAPIA

A inclusão da quimioterapia no tratamento do SAF é eliminar células que permanecem no leito cirúrgico ou apresentam-se na forma de micro-metástases, não visualizadas nos exames complementares de tórax (HAHN et al., 2007). A quimioterapia é abordada como tratamento adjuvante, sendo que, quando aplicada como único tratamento, na maioria dos pacientes não há resposta satisfatória, em alguns casos promove resposta parcial (> 50% de redução no tamanho tumoral inicial) e até uma remissão total do tumor (LANA; OGILVIE, 1997; HENRY, 2001; MARCY; COUTO, 2001; HAUCK, 2003).

Hahn et al. (2007), descrevem que a doxorrubicina, concomitantemente à radioterapia aumenta o intervalo livre de doença (3 vezes maior) em pacientes com sarcomas incompletamente excisados. Porém quando realizada como tratamento isolado apresenta como média de sobrevida 242 dias, naqueles pacientes que responderam satisfatoriamente ao tratamento (BABER et al., 2000). Preconiza-se 4 ciclos pós-operatórios ou início imediato quando não há possibilidade de ressecção cirúrgica.

O protocolo mais utilizado se baseia na administração de doxorrubicina (1mg/kg IV a cada 21 dias) isolada ou associada a outros medicamentos

quimioterápicos como a ciclofosfamida e a carboplatina (BARBER et al., 2000; OLGIVE; MOORE, 2001; KOBAYASHI et al., 2002; POIRIER et al., 2002).

Carneiro, 2006, utilizou dose maior de doxorrubicina (1,5mg/kg a cada 21 dias) em felinos que apresentavam sarcoma de aplicação sem que os pacientes apresentassem efeitos colaterais que forçaram a suspensão do tratamento, em um paciente, no pós-cirúrgico, realizou 8 ciclos de doxorrubicina nesta dose, este não apresentou efeitos colaterais e esta livre da doença há mais de 6 anos.

Pesquisas realizadas *in vitro* demonstram que células do SAF são altamente sensíveis ao mitoxantrone e à doxorrubicina (HAUCK, 2003). Martano et al. (2005) publicaram que a combinação do tratamento cirúrgico associado à doxorrubicina não aumenta o intervalo livre de doença, não reduz a recidiva neoplásica, nem a taxa de metástase.

A doxorrubicina, ou antraciclina, é um medicamento quimioterápico da classe dos antibióticos, possui mecanismos de ação múltiplos, porém ainda controversos, nos quais se inclui efeitos diretos na membrana celular, intercalação de DNA, levando à inibição da síntese de proteína e formação de radicais livres, e, principalmente, inibição da topoisomerase, enzima responsável pelo reparo do dano ao DNA (CHUN et al., 2007; CERRUTI et al., 2010), sendo também utilizada como sensibilizante à radiação ionizante.

Nos pacientes que não possuem resposta satisfatória na abordagem com doxorrubicina, estuda-se a participação dos complexos proteossômicos na resistência à medicação, indicando-se a associação de inibidores de proteossomos no tratamento dos SAF (CERRUTI et al., 2010).

2.6.4 INIBIDORES DA QUINASE

Alguns estudos estão sendo desenvolvidos com a utilização de inibidores dos receptores de fatores de crescimento e a cascata de sinalização das quinases (KATAYAMA et al., 2004; LACHOWIXZ et al., 2005; LAWRENCE et al., 2011). Já foi constatada alteração e marcação para c-kit em tecido de SAF, porém sua correlação com o prognóstico e o tratamento ainda não foi elucidada (SMITH et al., 1999). Em estudo de fase I com utilização mesilato de imatinibe (Gleevec®) em SAF houve

estabilização do tumor por 2 meses, mas o número de pacientes foi muito baixo e a duração do estudo pequeno (LACHOWIXZ et al., 2005). Em células de sarcoma felino, demonstraram-se resultados com o mesilato de imatinibe e com o masitinibe (KATAYAMA et al., 2004; LAWRENCE et al., 2011).

2.6.5 IMUNOTERAPIA

A imunoterapia anti-neoplásica refere-se ao uso do poder e da especificidade do sistema imune para o tratamento de proliferações malignas (BLATTMAN; GREENBERG, 2004). Geralmente, baseia-se no uso de proteínas biologicamente ativas com intenção de alterar as respostas imunes, específica e não específica do paciente (HAMPEL et al., 2007). Um estudo no qual se utilizou implante xenográfico de células produtoras de interleucina-2 (IL-2) humana após a excisão cirúrgica, observou-se maior tempo de sobrevida e intervalo livre de doença nos pacientes tratados, frente ao grupo controle que foi tratado igualmente, porém sem implante celular (QUINTIN-COLONNA et al., 1996).

Dois estudos de fase I observaram bons resultados e ausência de toxicidade na utilização de imunoterapia, ambos os tratamentos neoadjuvantes, para o tratamento do SAF: o primeiro com aplicação do gene da interleucina-2 felina (feIL2), interferon-gama felino (feIFN- γ) e fator estimulante de colônia granulocítica-macrofágica felino (feGM-CSF) (JAHNKE et al., 2007); o segundo empregando somente o gene feGM-CSF (HUNYYINGER et al., 2008), ambos sem publicação do estudo de fase II. Embora as células neoplásicas sejam menos imunogênicas que agentes patogênicos, em certas circunstâncias, o sistema imune é capaz de reconhecer e eliminar as células neoplásicas (BLATTMAN; GREENBERG, 2004).

2.7 Prevenção

Macy e Couto (2011) recomendam não vacinar em excesso, já que o risco de desenvolvimento de sarcomas aumenta com o número de vacinações. Algumas recomendações devem ser adotadas para abordagem mais adequada do SAF (NORTH; BANKS, 2009). Devem-se evitar aplicações injetáveis subcutâneas e intramusculares em felinos, e, caso estas sejam imprescindíveis, escolher a via subcutânea como preferencial, sendo assim mais fácil visualização e palpação de presença de nódulo. Seguir as recomendações da VAFSTF, quanto aos locais de aplicação, suspeita de desenvolvimento neoplásico e tratamento. Somente alguns pacientes que apresentam reação inflamatória pós-aplicação desenvolvem SAF (MACY; HENDRICK, 1996).

A vacinação em região abdominal lateral é desaconselhada devido à presença de órgãos e vísceras vitais na região, dificultando, assim, utilização da radioterapia pós-operatória (SHAW et al., 2009). Deve-se reduzir a inflamação no local da administração de vacina ou medicamento, em vista disso, deve-se estimular a fabricação de vacinas sem adjuvantes, que promovem menor reação inflamatória local (MACY; HENDRICK, 1996).

Assim que desconfiar de um sarcoma de aplicação felino, procurar um especialista, para adequada abordagem. Considerar a utilização de vacinas que não utilizam adjuvantes, bem como aumentar o período entre as vacinações, desde que isso seja permitido legalmente (MACY; HENDRICK, 1996). Após essas recomendações, houve um decréscimo na proporção de SAF na região interescapular significativa, porém houve aumento da presença da formação em membros pélvicos de felinos (SHAW et al., 2009).

OBJETIVO

3 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho consistiu em determinar fatores prognósticos para o paciente portador de sarcoma de aplicação felino, caracterizando-o quanto ao seu peso e escore de condição corporal, e quanto à origem e diferenciação da neoplasia por ele apresentada. Além disso, identificar a presença de marcadores de células inflamatórias moduladoras no tecido neoplásico, responsáveis pela manutenção do microambiente, analisando sua correlação com o comportamento da neoplasia.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa utilizou formações já fixadas e processadas pelo Serviço de Patologia Animal – Departamento de Patologia, além de novas formações provenientes do atendimento de pacientes no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais – Departamento de Cirurgia, ambos os serviços junto ao Hospital Veterinário (HOVET) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Bioética da FMVZ/USP em 16 de fevereiro de 2011, recebendo o número de protocolo 2126/2011. A inclusão dos pacientes no presente trabalho foi autorizada pelos proprietários.

4.1 Pacientes

Os pacientes felinos encaminhados ao Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais do Departamento de Cirurgia, junto ao HOVET, portadores de sarcomas de aplicação foram selecionados durante um período de 36 meses. Não foi levado em conta para seleção critérios como idade, gênero e raça. Os pacientes selecionados apresentavam diagnóstico citológico por agulha fina sugestivo de sarcoma. Avaliou-se os animais incluídos mediante à realização de exames clínico e complementares de sangue, citologia, de imagem, pela tomografia computadorizada e/ou raio-x e de histopatológico. Foram excluídos pacientes que apresentavam sarcomas em locais nos quais não houve qualquer aplicação injetável e/ou trauma prévios.

4.2 Delineamento Experimental

Os pacientes foram submetidos, inicialmente, ao exame físico e a uma anamnese abrangente. Neste primeiro contato realizou-se a colheita de informações relacionadas à neoplasia, como evolução, mensuração da formação inicial, nos seus três maiores eixos, com a utilização de paquímetro, consistência, base de inserção, localização, superfície com presença ou ausência de ulceração, alopecia. Sendo que, classificou-se consistência, por sua maior proporção, em macia, firme, flutuante ou mista, quando há grande parte da neoplasia em duas ou mais categorias.

Mensurou-se o peso e a avaliação do escore de condição corporal (ECC) foram realizados na primeira consulta ou acessados via ficha do animal no serviço. O método de avaliação do ECC escolhido para o presente estudo é o proposto por Laflamme (1997), pois possui repetibilidade, reprodutibilidade, previsibilidade, ausência de custo e fácil aplicação. Neste escore os pacientes são classificados entre subalimentado, adequadamente alimentado e sobre-alimentado, propondo um número entre 1 e 9. O ECC foi sugerido pelo pesquisador. Aos animais que se apresentavam em estágio avançado de caquexia e/ou debilidade física, devido à presença crônica de neoplasia, o escore de condição corporal foi sugerido pelo proprietário baseado na estrutura corpórea prévia ao aparecimento neoplásico. Para poder de comparação optou-se por realizar colheita de dados de peso, idade e ECC para grupo controle com pacientes felinos, que são vacinados frequentemente, encaminhados ao HOVET-FMVZ/USP portadores de outras afecções.

Exames complementares sanguíneos, hemograma, função renal e função hepática, foram colhidos e encaminhados ao Laboratório Clínico – HOVET – FMVZ/USP para processamento e análise padrão.

Obteve-se a sugestão inicial de diagnóstico por exame de citologia aspirativa com agulha fina (21G a 27G), sem aspiração, no qual o material obtido é depositado em lâmina de vidro, sendo o esfregaço realizado pela técnica de *squash* e seco ao ar. As lâminas foram, então, encaminhadas ao Laboratório Clínico – HOVET – FMVZ/USP, e fixadas com metanol, coradas pelo método de Rosenfeld e analisadas em microscopia óptica de imersão, com aumento de 100 vezes. Após o resultado do exame citológico sugestivo de sarcoma, encaminhou-se os pacientes à realização de

exames de imagem, desde que seus exames sanguíneos apresentassem resultados normais. No caso de alterações sanguíneas, previamente se instituiu tratamentos clínico específicos, a fim de sanar essas irregularidades, possibilitando a realização de procedimento anestésico, cirúrgico e/ou quimioterápico posterior.

4.3 Exame de Tomografia Computadorizada

Os pacientes selecionados foram conduzidos para realização de exame de tomografia computadorizada, e para a realização do exame os pacientes foram submetidos à anestesia geral para que se obtivesse posicionamento adequado, em decúbito esternal, e a imobilidade necessária para realização da sequencia de cortes tomográficos.

Foi utilizado protocolo anestésico padrão, como medicação pré-anestésica acepromazina¹ na dose de 0,1 a 0,2mg/kg associada à meperidina² na dose de 5mg/kg, via intramuscular. Para indução foi preconizado o uso de propofol³, na dose de 5 a 6mg/kg, realizando, subsequentemente, a colocação da sonda traqueal e conectando o paciente ao aparelho de anestesia⁴. A manutenção do procedimento anestésico utilizou isoflurano⁵, em oxigênio 100% administrado por meio de circuito sem reinalação. Durante todo o procedimento anestésico houve monitorização do paciente com auxílio de eletrocardiografia, verificação de pressão arterial não invasiva e analisador de gases.

Iniciou-se o exame de tomografia computadorizada, após a imobilização necessária e o posicionamento correto do paciente. Os cortes transversais abrangeram toda a extensão da neoplasia, iniciando-se alguns milímetros antes do início da mesma e findando em sua porção mais caudal. A espessura dos cortes variou de 2 a 5 mm com, incremento de 2 ou 5 mm entre os cortes, dependendo do

¹Acepran-UnivetAS-São Paulo/SP

²Dolosal-Cristália-São Paulo/SP

³Propovan-Cristália-São Paulo/SP

⁴Shogum-Takaoka-São Paulo/SP

⁵Forane-Cristália-São Paulo/SP

tamanho da neoplasia analisada. As imagens foram obtidas pré e pós-injeção intravenosa de contraste iodado hidrossolúvel iônico, Urografina292®⁶, no volume de 1,5ml/kg de peso. Fotografaram-se as imagens adquiridas em câmera multiformato MFC640®⁷, com seleções de janela e nível que permitissem adequada avaliação de partes moles e arcabouço ósseo, quando necessário.

4.4 Planejamento do Tratamento

Após o diagnóstico citológico da neoplasia e constatação de seu volume por meio da análise das imagens obtidas pelo exame de tomografia computadorizada, classificam-se as neoplasias e os melhores tratamentos possíveis puderam ser pensados e indicados. Na escolha do tratamento também se levou em consideração os exames de hemograma, função renal e hepática e a condição física dos pacientes. Além disso, a opinião e o consentimento do proprietário sempre foram critérios primordiais para proposição do tratamento.

Quando houve possibilidade de realização de procedimento cirúrgico amplo, com margens iguais ou maiores que 3cm este foi realizado. Aproximadamente 10 dias após o procedimento cirúrgico iniciou-se a quimioterapia adjuvante. Na impossibilidade de ressecção cirúrgica, instituiu-se o tratamento quimioterápico prontamente.

⁶ Schering do Brasil Indústria Química e Farmacêutica LTDA

⁷ General Eletric

4.5 Procedimento Cirúrgico

O protocolo anestésico empregado foi elaborado pelo Serviço de Anestesia – Departamento de Cirurgia – HOVET-FMVZ/USP, de acordo com as condições clínicas e fisiológicas de cada paciente, suportada pelos exames complementares. Antes de ser acomodado no centro cirúrgico, o paciente foi submetido à tricotomia ampla da neoplasia e regiões adjacentes. A antisepsia e medidas de assepsia foram padrões.

A remoção da neoplasia obedeceu aos princípios básicos da cirurgia oncológica (SZENTIMREY, 1998). A incisão da pele e planos profundos, foi executada com bisturi de radiofrequência, ao redor da neoplasia, respeitando-se uma margem de segurança de pelo menos 3cm. As margens de 3cm ou mais foram atingidas com base na análise do tamanho da neoplasia encontrada por meio do exame de tomografia computadorizada. A hemostasia foi realizada quando necessária. Após a excisão completa da peça cirúrgica, lavou-se copiosamente o leito da ferida cirúrgica com solução fisiológica 0,9%, sendo trocado todo o material cirúrgico utilizado, as luvas do cirurgião e auxiliar e os panos de campos, finalizando com fechamento da ferida. Quando necessária, empregou-se técnica de anaplastia para o fechamento adequado da ferida cirúrgica, diminuindo assim as chances de deiscência de pontos, edemas e não-cicatrização.

4.6 Protocolo Quimioterápico

A medicação quimioterápica de primeira escolha tratou-se da doxorrubicina em dose inicial de 1,5mg/kg intravenoso a cada 21 dias, período equivalente a um ciclo. Em casos específicos, nos quais o paciente já apresentava alguma enfermidade prévia, estado geral debilitado e/ou hiporexia, optou-se por redução da dose para 1mg/kg a cada 21 dias ou alteração na medicação optando-se por carboplatina na dose de 300mg/m² a cada 21 dias. No pós-operatório foram instituídos 4 ciclos como tratamento padrão. Em pacientes nos quais o procedimento

cirúrgico não foi possível, foram realizados quantos ciclos fosse necessários para controle de crescimento neoplásico, sem perda da qualidade de vida. Preconizou-se a realização de exames laboratoriais sanguíneos antes de cada procedimento quimioterápico, autorizando ou não a aplicação da medicação, detectando, assim, possíveis reações adversas da doxorubicina (quadro1).

Quadro 1 Critérios para efeitos tóxicos em gatos recebendo quimioterapia com doxorubicina na dose de 1,5mg/kg iv

EFEITO TÓXICO – GRAU	SINAIS CLÍNICOS
NEUTROPENIA 0	Nenhum
1	1.500-3.000 neutrófilos/ μ l
2	1.000-1.500 neutrófilos/ μ l
3	500-1.000 neutrófilos/ μ l
4	<500 neutrófilos/ μ l
TROMBOCITOPENIA 0	Nenhum
1	100.000-200.000 plaquetas/ μ l
2	50.000-100.000 plaquetas/ μ l
3	15.000-50.000 plaquetas/ μ l
4	<15.000
FUNÇÃO RENAL 0	Nenhum
1	Creatinina 1.5-3mg/dl
2	Creatinina 3-4mg/dl
3	Creatinina 4-5mg/dl
4	Creatinina > 5mg/dl
ANOREXIA 0	Nenhum
1	Inapetência
2	Anorexia <3 dias
3	Anorexia >3 ou <5 dias
4	Anorexia > 5 ou perda de 10% de peso
EMESE 0	Nenhum
1	Náusea
2	Esporádica, auto limitante
3	1-5 episódios/dia/< 2 dias
4	6-10 episódios/dia – hospitalização
DIARREIA 0	Nenhum
1	Fezes amolecidas
2	1-4 episódios de fezes aquosas/dia< 2 dias
3	4-7 episódios de fezes aquosas/dia/ou > 2 dias
4	>7 episódios de fezes aquosas/dia ou presença de sangramento

Fonte: Rassnick et al., 2000, modificado.

Durante o tratamento quimioterápico, quando houve redução neoplásica, avaliou-se a possibilidade de procedimento cirúrgico.

Os proprietários que optaram por tratamento adjuvante, a toxicidade do tratamento foi avaliada pelo modelo modificado apresentado por Rassnick et al., 2000. Atentando ao fato de que alguns proprietários optaram por realizar exames complementares somente em caso de sintomatologia de seu pet. Este escore avalia efeitos tóxicos nos neutrófilos, plaquetas, função renal e presença e grau de anorexia, êmese e diarreia, sendo que todos esses itens são classificados de 0 a 4, sendo 0 ausência de alteração e 4 alterações mais severas, segundo quadro 1.

Os pacientes foram reavaliados em todos os momentos do tratamento, os casos nos quais houve queda da qualidade de vida o tratamento foi suspenso imediatamente. Em pacientes com baixa qualidade de vida, incompatível com bem-estar, sugeriu-se a eutanásia.

4.7 Exames histopatológico e Imunoistoquímico

Após o exame de tomografia, sendo possível o procedimento cirúrgico, a excisão da neoplasia foi realizada, sendo a peça excisada, em sua totalidade, fixada em formol 10% e encaminhada ao Serviço de Patologia Animal junto ao HOVET – Departamento de Patologia da FMVZ/USP. Obtiveram-se fragmentos representativos das formações e estes submetidos às técnicas rotineiras de inclusão em parafina.

Selecionaram-se os blocos das neoplasias já inclusas em parafina. Para confecção das lâminas, os blocos foram colocados em refrigerador por 4 horas, no mínimo, e então inseridos, individualmente, em um micrótomo da marca Zeiss com navalha nova de perfil baixo para obtenção de cortes com aproximadamente 5µm de espessura. Após o corte, colocam-se os espécimes obtidos em banho-maria, em aproximadamente 37°C, sendo então estes depositados em lâmina de vidro tratada com silano, para melhor fixação do corte à lâmina. As lâminas com as amostras já posicionadas foram, então colocadas em estufa a 50°C para retirada o excesso de parafina e melhor aderência da amostra à lâmina.

Os cortes de 5µm, então já nas lâminas, são corados com hematoxilina-eosina, para o diagnóstico histopatológico, ou submetidos à técnica de imunohistoquímica. Posteriormente, as lâminas foram examinadas em microscópio de luz, obtendo-se o diagnóstico histopatológico e marcação imunológica.

4.7.1 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

A análise histopatológica baseou-se em classificação da Organização Mundial da Saúde – OMS (HENDRICK et al., 1998) na qual se caracteriza a forma e arranjo celular, relação núcleo/citoplasma, forma e hipercromatismo nuclear, presença de pseudo-cápsula, nucléolos inconspícuos e classificação do infiltrado inflamatório peri-neoplásico. Em seguida, para classificar o grau da neoplasia, adotou-se a classificação de Couto et al. (2002), que se baseia na diferenciação celular, presença e extensão de necrose e taxa de mitoses da neoplasia, variando entre grau I, grau II e grau III, conforme quadro 2.

Quadro 2 Escore de classificação histológica do sarcoma de aplicação felino

Escore	Diferenciação celular	Taxa de mitoses atípicas por 10 campos (aumento de 400x)	Necrose
1	Bem diferenciada	1 a 9 eventos	Ausência
2	Moderada	10-19 eventos	<50% da área
3	Pouco diferenciada	>20 eventos	>50% da área

Fonte: Couto et al., 2002.

A classificação final foi obtida pela soma dos escores alcançados no quadro I, sendo grau I quando a soma de escores for entre 3 ou 4; grau II em escores 5 ou 6; e grau III na presença de escores 7, 8 ou 9.

4.7.2 ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA

A técnica de imunoistoquímica foi realizada no Laboratório de Oncologia Experimental do Departamento de Patologia da FMVZ-USP. Empregou-se o método de marcação e coloração LSAB + System-HRP⁸ e revelação DAB – quadro 3.

Quadro 3 – Características dos anticorpos utilizados e sua diluição – São Paulo - 2012

Anticorpo	Código do fabricante	Tipo - espécie	Diluição
Vimentina	DAKO M0725	Monoclonal - camundongo	1:100
Citoqueratina	DAKO Z0622	Policlonal - coelho	1:100
Desmina	DAKO M0760	Monoclonal - camundongo	1:100
Cox-2	DAKO M3617	Monoclonal - camundongo	1:100
CD68	DAKO M0718	Monoclonal - camundongo	1:100
CD4	DAKO M7310	Monoclonal - camundongo	1:100
c-Kit	DAKO A4502	Policlonal - coelho	1:100
Proteína S-100	DAKO Z0311	Policlonal - coelho	1:100
Anti-FelV	LifeSpan-C71651	Monoclonal - camundongo	1:200

Fonte: Dako, Carpinteria, CA, USA.

Cortes histológicos em branco, obtidos dos materiais fixados em formol e rotineiramente processados para inclusão em parafina, foram desparafinizados da seguinte forma: (1) solução xilol I por 15 minutos; (2) solução xilol II por mais 15 minutos; (3) solução xilol e álcool, por 10 minutos; (4) solução de álcool absoluto em duas etapas de 5 minutos cada uma das imersões; (5) solução de álcool 95% por 5 minutos; (6) solução de álcool 70% por 5 minutos, findando com lavagem com solução de PBS, por 5 minutos. Como o material foi submetido à fixação por formol, houve necessidade de realizar a recuperação antigênica. Para tanto, as lâminas foram imersas em tampão citrato (pH 6,0), e fervidas durante 15 minutos em forno de microondas, deixando-se esfriar em temperatura ambiente. Foi, então, realizado o bloqueio da peroxidase em solução de 20 ml de peróxido de hidrogênio (30%) diluído em 80 ml de metanol, durante 20 minutos. Em seguida, realizou-se 3

⁸ Dako, Carpinteria, CA, USA

lavagens de 5 minutos cada com PBS 1x. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com imersão das lâminas durante 15 minutos em solução de leite desnatado em pó⁹ 5% diluído em PBS 1x, à temperatura de 37°C. As lâminas foram então incubadas com 100 a 200µl da diluição de anticorpo primário, conforme tabela 2, na mesma solução de leite desnatado supracitada, por 12 horas (*over night*) em câmara úmida.

Após estes procedimentos, 3 lavagens nas lâminas são feitas com solução de PBS, de 5 minutos cada, seguidas da incubação com o anticorpo secundário biotinilado¹⁰, durante 45 minutos em câmara úmida e temperatura ambiente. Após esse período, as lâminas foram novamente lavadas 3 vezes, 5 minutos cada, com solução de PBS 1x. As lâminas são incubadas com o complexo Estreptavidina-biotina-peroxidase¹¹, durante 45 minutos em câmara úmida e temperatura ambiente, finalizando com 3 lavagens de 5 minutos cada em solução de PBS 1x.

A revelação das marcações foi realizada com diaminobenzidina (método DAB¹²), sendo utilizada solução de 1 gota para 1ml de diluente, depositando 100µl da solução por lâmina, individualmente. Foram realizadas, novamente, 3 lavagens por 5 minutos cada, com solução PBS1x. Seguiu-se a contra-coloração com hematoxilina por um minuto, seguida de lavagem em água corrente. Logo após, as lâminas foram banhadas rapidamente em água amoniacal (0,5%) e lavadas em água corrente por 5 minutos.

Em seguida realizou-se a diafanização, com imersão das lâminas em soluções, em temperatura ambiente nesta sequência: (1) solução de álcool 70% durante 5 minutos; (2) solução de álcool 95% durante 5 minutos; (3) álcool absoluto, duas imersões de 5 minutos cada; (4) solução de xilol e álcool durante 10 minutos; (5) solução xilol I, durante 10 minutos; e, finalmente, (6) solução xilol II, por mais 10 minutos. Terminado esse processo as lâminas foram montadas com resina sintética Permout e lamínula.

⁹ Leite em pó Molico® – Nestlé

¹⁰ Dako, Carpinteria, CA, USA

¹¹ Dako, Carpinteria, CA, USA

¹² Dako, Carpinteria, CA, USA

A origem neoplásica foi caracterizada pela presença dos marcadores para vimentina, citoqueratina, desmina e proteína s100. O processo inflamatório foi qualificado por meio da presença de marcadores de células inflamatórias reguladoras, como Linfócito Treg e macrófagos associados ao tumor, pelos marcadores para CD3 e CD68, respectivamente, bem como, pela presença de receptores de COX-2. A presença do vírus da leucemia felina – FeLV – foi também avaliada por meio de imunoistoquímica.

4.8 Análise Estatística

Às amostras que obedecem a distribuição normal foi realizado o teste t de Student. Para amostras que não seguem uma distribuição definida, realizou-se o teste qui-quadrado. O teste ANOVA foi utilizado para comparação entre as médias de grupos diferentes. Para a avaliação da sobrevida frente às diferenças entre pacientes optou-se pelo método de análise de Kaplan-Meier, sendo realizado o teste de Long-rank para análise de significância entre os grupos. A correlação de Pearson foi aplicada para justificar correspondência, positiva ou negativa, entre duas variáveis.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Pacientes

Entre Fevereiro de 2009 e Fevereiro de 2012, **1434** casos novos da espécie felina foram encaminhados ao Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais do VCI – junto ao HOVET – FMVZ/USP. Destes **216** eram neoplasias e **1218** casos eram outras afecções passíveis de tratamento cirúrgico, como por exemplo, fraturas, obstrução e litíase vesical. Neste período foram diagnosticados **31(2,2%)** casos de sarcoma em felinos.

Foram selecionados **46** pacientes felinos portadores de sarcoma de aplicação. As informações do prontuário de 22 pacientes foram reanalisadas e foram atendidos 24 novos casos. No anexo B há descrição das variáveis clínicas dos pacientes selecionados.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os gêneros, sendo **21 (46%)** fêmeas e **25 (54%)** machos. A maioria dos pacientes, **41(89%)** indivíduos, não possuía raça definida, enquanto que **5(11%)** pacientes eram da raça siamesa.

Clinicamente a formação apresentou-se de forma nodular, superfície irregular em **23(50%)** pacientes e lisa nos outros **23(50%)**, com consistência firme em **31(68%)** indivíduos, macia em **13(28%)** e mista em **2(4%)**, não apresentava ulceração em **39(85%)** animais enquanto que em **7(15%)** pacientes esta estava presente. A base de inserção da maioria das formações foi séssil, **44(96%)** e somente em **2(4%)** pacientes a inserção era pedunculada. Além disso, observou-se **40(87%)** formações aderidas e **6(13%)** não aderidas. Em **36(78%)** neoplasias não apresentavam ulcera e em **10(22%)** ela estava presente. (anexo C)

A localização mais comumente acometida foi a região tóraco-abdominal **(78%)** seguida da região interescapular-cervical **(13%)** e de membros pélvicos-inguinal **(9%)**. A maioria dos pacientes, **36(78,3%)**, não havia sido submetida a tratamento cirúrgico prévio, somente **10(21,7%)** indivíduos apresentavam, na primeira consulta uma neoplasia redicivante.

A média de idade de pacientes acometidos foi de 9,6 anos, sem correlação estatisticamente significativa entre esta média e o tipo de sarcoma ($p=0,939$), localização neoplásica ($p=0,981$) e tratamentos realizados ($p=0,466$), por meio do teste ANOVA, presença de recidiva ($p=0,174$) e gênero ($p=0,420$) pelo teste t de Student (Gráfico 1).

A média de idade encontrada no grupo controle foi de 10,7 anos, não diferindo estatisticamente entre os grupos (teste t de Student, $p=0,215$).

Gráfico 1 – Idade dos pacientes do grupo SAF e dos pacientes do grupo controle. São Paulo - 2012

Fonte: Carneiro (2012).

O peso médio obtido na amostra foi de **5,33Kg (DP=1,17)**, sem correlação estatisticamente significativa entre ele e o tipo de sarcoma ($p=0,793$), localização neoplásica ($p=0,982$) e tratamentos realizados ($p=0,406$), por meio do teste ANOVA, presença de recidiva ($p=0,871$) e gênero ($p=0,276$) pelo teste t de Student.

Em **18(39%)** indivíduos foi realizado diagnóstico somente por meio de exame citológico sendo este sugestivo de neoplasia mesenquimal – sarcoma. Nos **28(61%)** indivíduos restantes foi realizado o diagnóstico por meio do exame histopatológico.

O volume clínico mensurado durante o exame físico do paciente mostrou-se bastante variável, com média **146,9 cm³** e **DP 313,4** grande, encontrando-se o mínimo volume de **1cm²** e o máximo de **1728cm³** (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Dispersão dos pacientes segundo o volume clínico da formação

Fonte: Carneiro (2012).

Realizou-se avaliação do escore de condição corporal (ECC) na primeira consulta ou o ECC foi proposto por acesso à ficha do animal no serviço. Todos os pacientes incluídos nesta pesquisa foram avaliados pela pesquisadora. O método de avaliação do ECC escolhido para o presente estudo é o proposto por Laflamme, em 1997. No anexo A encontra-se figura referente ao ECC.

O ECC foi sugerido pela pesquisadora, sendo que este escore foi validado por meio de análise e comparação do escore corporal proposto pelo proprietário e pela pesquisadora, na qual não foi encontrada diferença significativa entre os dois escores (teste t de Student, $p=0,70$). Além disso, a correlação de Pearson entre os dois escores foi de **0,913 com $p<0,001$** , mostrando a relação positiva entre os escores propostos pela pesquisadora e pelos proprietários, validando o escore definido pela pesquisadora.

Gráfico 3 Representação em colunas do número de pacientes por escore de condição corporal (ECC) do grupo SAF

Fonte: Carneiro (2012).

Em análise de dados, foram incluídos **46** pacientes portadores de SAF e **27** pacientes aleatórios encaminhados ao HOVET- FMVZ/USP como grupo controle, portadores de outras afecções. As amostras possuem distribuição normal pelo teste Shapiro-Wilk e foram submetidas em seguida ao Teste t de Student.

A maioria dos pacientes portadores de SAF, **31(67%)** apresentaram sobrepeso com ECC maior que 5 (Gráfico 3).

Não foi encontrada diferença de idade entre os grupos SAF (9,6 anos) e controle (10,7 anos), com $p=0,283$. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as médias de peso corporal (Tabela 1).

Tabela 1 Teste t de Student comparando peso corporal entre o grupo portador de SAF e grupo controle ($p<0,001$)

	Grupo	Estatística
Peso	Portadores de SAF	5,33 (DP 1,17)
	Controle	3,85 (DP 1,11)

Fonte: Carneiro (2012).

Os pacientes portadores de SAF apresentaram média de peso de **5,33kg (DP1,17)**, enquanto os indivíduos do grupo controle apresentaram média de **3,85kg (DP1,11)**, com **$p < 0,001$** (Gráfico 4).

A média de peso dos pacientes SAF não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado, pelo teste de ANOVA com o tipo de sarcoma apresentado (**$p = 0,793$**), com a localização neoplásica (**$p = 0,982$**) e tipo de tratamento escolhido (**$p = 0,406$**), e, pelo teste t de Student, com a observação de recidiva (**$p = 0,871$**) e com gênero (**$p = 0,276$**).

Gráfico 4 – Dispersão de peso para pacientes do grupo SAF e do grupo controle

Fonte: Carneiro (2012). Linha representa tendência linear das curvas.

A média de escore de condição corporal, proposta pela pesquisadora, do grupo SAF foi **6,2 (DP 1,6)**, enquanto que o do grupo controle foi **4,8 (DP=1,7)**, com **p = 0,001**. A maioria relativa (**71,7%**) dos pacientes apresentava algum grau de obesidade, com acúmulo de gordura corporal. (Tabela 2).

Tabela 2 Análise t de Student para escore de condição corporal para o grupo portador de SAF e grupo controle (p=0,001);

	Grupo	Estatística
Escore de Condição Corporal	Portadores SAF	6,2 (DP 1,6)
	Controle	4,8 (DP 1,7)

Fonte: Carneiro (2012).

O ECC não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado, entre indivíduos do grupo do SAF, pelo teste de ANOVA com o tipo de sarcoma apresentado (**p=0,449**), com a localização neoplásica (**p=0,692**) e tipo de tratamento escolhido (**p=0,227**), e, pelo teste t de Student, com a observação de recidiva (**p=0,858**) e com gênero (**p=0,155**).

5.2 Exame de Tomografia Computadorizada

Após a primeira abordagem, realizou-se 33 exames de tomografia computadorizada para avaliação das respectivas formações. (Figuras 1, 2 e 3) Todas as formações analisadas apresentaram atenuação de partes moles, não mostrando após análise pelo teste qui-quadrado, qualquer diferença com as demais características (**p=1,00**).

Figura 1 – Imagens de exame tomográfico do paciente nº102374, cortes de 2mm de espessura; pré e pós-contraste, apresentando formação em região caudal de membro pélvico direito

Aumento de volume com invasão muscular (seta).

Fonte: Carneiro (2012).

Ao exame, **25(76%)** formações apresentaram aspecto heterogêneo e **8(24%)** homogêneo. Além disso, após a administração de contraste, a maioria das formações, **27(82%)**, sofreu realce heterogêneo (Figuras 2 e 3) e somente em **6(18%)** amostras observou-se realce homogêneo (Figura1). Corroborando esta informação, **23(70%)** formações apresentaram imagem de liquefação central, enquanto que **10(30%)** amostras isso não foi registrado. O resumo das características das formações ao exame de tomografia computadorizada está descrito no anexo D.

A invasão de tecidos adjacentes esteve presente em **19(58%)** amostras, no restante das **14(42%)** formações, isso não foi observado. Ao mesmo tempo, notou-se borramento de gordura adjacente à formação em 12(44%) formações, enquanto que em **15(56%)** amostras isso não foi notado. O

O volume neoplásico medido pelo exame tomográfico apresentou grande variação, indicando volume mínimo de 1,2cm³ e volume máximo de 648cm³, bem como média de 147,1cm³, com desvio padrão de 153,2cm³ (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Dispersão dos pacientes segundo o volume da formação pelo exame de tomografia computadorizada

Fonte: Carneiro (2012).

Figura 2 – Imagens de exame tomográfico do paciente n°201626, cortes de 2mm de espessura; pré e pós-contraste, apresentando formação em região lateral de abdômen esquerdo

Fonte: Carneiro (2012).

Ao se comparar os volumes medidos por meio do exame físico e por análise das imagens do exame de tomografia computadorizada, não se encontrou diferenças significativas entre as médias de volumes (teste t de Student, $p=0,0996$). Porém quando calculamos a correlação de Pearson, entre as duas médias de volumes, observamos uma correlação igual a **0,510**, com **$p=0,002$** .

A comparação entre presença de invasão de estrutura adjacente e tipo de tratamento preconizado, por meio do teste qui-quadrado, apresentou diferença estatisticamente significativa (**$p=0,019$**).

Nenhuma das características do exame tomográfico mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis clínicas conforme Tabela 3. Utilizou-se o teste de qui-quadrado em todas as comparações, com exceção das realizadas com o volume neoplásico pela tomografia, nas quais foi aplicado teste de ANOVA. Para as comparações entre tipo de sarcoma, localização e tratamento realizado com recidiva e gênero, foi utilizado o teste t de Student.

Tabela 3 Resumo das análises estatísticas realizadas comparando as variáveis encontradas no exame TC e as variáveis clínicas

	Tipo Sarcoma	Recidiva	Local	Gênero	Tratamento
Aspecto	$p=0,997$	$p=0,456$	$p=0,528$	$p=0,618$	$p=0,544$
Atenuação	$p=1,000$	$p=1,000$	$p=1,000$	$p=1,000$	$p=1,000$
Realce	$p=0,745$	$p=0,519$	$p=0,341$	$p=0,618$	$p=0,609$
Liquefação Central	$p=0,810$	$p=0,536$	$p=0,810$	$p=0,341$	$p=0,481$
Borramento Gordura	$p=0,638$	$p=0,922$	$p=0,178$	$p=0,411$	$p=0,695$
Invasão	$p=0,097$	$p=0,533$	$p=0,359$	$p=0,598$	$p=0,019^*$
Volume	$p=0,078^\#$	$p=0,301^\ddagger$	$p=0,598^\#$	$p=0,965^\ddagger$	$p=0,110^\#$

* diferença estatisticamente significativa entre os grupos IC e QXT+IC e os grupos QXT e NDN; $^\#$ Teste ANOVA; ‡ Teste t de Student. Fonte: Carneiro (2012).

Figura 3 – Imagens de exame tomográfico do paciente n°200785, cortes de 2mm de espessura; pré e pós-contraste, apresentando formação em região de face interna de membro pélvico direito

Fonte: Carneiro (2012).

5.3 Planejamento Cirúrgico

Em **21(46%)** pacientes optou-se pelo procedimento cirúrgico primeiramente, sendo que destes **08(17%)** realizaram quimioterapia pós-operatória e **13(28%)** optaram por não realizar tratamento adjuvante. **2(4%)** pacientes realizaram quimioterapia prévia à excisão cirúrgica devido à grande extensão neoplásica e sua redução após o início do tratamento (Gráfico6).

Em metade (**23**) dos pacientes o procedimento cirúrgico não foi realizado. Em **11(24%)** devido à impossibilidade de obtenção de margens adequadas, e em **12 (26%)** pacientes à opção do proprietário em não realizar nenhum tratamento ou não retornar para consultas.

Gráfico 6 – Representação dos tratamentos realizados nos pacientes portadores de SAF

NDN: nenhum tratamento realizado; IC: Procedimento cirúrgico; IC+QXT: Procedimento cirúrgico associado à quimioterapia adjuvante; QXT: Quimioterapia isolada; QXT+IC: Quimioterapia neoadjuvante associada ao procedimento cirúrgico.
Fonte: Carneiro (2012).

Figura 4 – Paciente N° 102374 apresentando SAF localizado em face caudal de membro pélvico direito, terço proximal

A: Presença de formação nodular (seta); B: Margem cirúrgica; C: Ferida cirúrgica resultante; D: Anaplastia em forma de Y, para fechamento do defeito cirúrgico; E: Formação excisada em bloco, contendo fascia muscular adjacente; F: Aspecto da formação excisada ao corte; G: Pós-operatório 2 dias; e H: Pós-operatório 21 dias.
Fonte: Carneiro (2012).

5.4 Tratamento Cirúrgico

O tratamento cirúrgico foi sugerido após avaliação minuciosa das imagens do exame de tomografia computadorizada (TC). Realizou-se a cirurgia em 23(50%) pacientes (Figuras 4, 5 e 6), destes 13(28,3%) casos com procedimento isolado, 8(17,3%) casos associado à quimioterapia adjuvante e neo-adjuvante em 2(4,3%) indivíduos.

Todos os atos cirúrgicos foram realizados pela mesma equipe de cirurgiões, utilizando bisturi de radiofrequência e material cirúrgico adequado, realizando lavagem copiosa com solução fisiológica aquecida após a exereses, findando por trocar o material cirúrgico, os panos de campo e as luvas para realização da síntese.

Em todos os pacientes foram aplicadas técnicas de anaplastia, bem como suturas de aproximação *walking-suture*, visando melhor posicionamento de bordos e, portanto, evitando complicações pós-operatórias.

Após a intervenção cirúrgica foi realizada bandagem compressiva por pelo menos 48-72 horas. A retirada de pontos geralmente ocorreu após 20-25 dias de cirurgia. Em 6(26%) pacientes houve deiscência de pontos e a ferida cirúrgica foi cicatrizada por segunda intenção.

Figura 5 – Paciente N°201626 apresentando SAF localizado em região abdominal lateral esquerda

A: Aspecto clínico da formação; B: Margem cirúrgica; C: Aspecto da aderência e da retirada em bloco; D: Ferida cirúrgica resultante; E: Início do fechamento, com início de sutura do plano muscular; F: Anaplastia em forma de X; G e H: Formação excisada em bloco, contendo fascia muscular adjacente; I: Pós-operatório 2 dias; e J: 21 dia de pós-operatório.

Fonte: Carneiro (2012).

Figura 6 Paciente N° 200785 apresentando SAF localizado em face interna do membro pélvico direito, terço médio

A: Presença de formação nodular (seta); B: Margem cirúrgica; C: Ferida cirúrgica resultante; D: Anaplastia em forma de Y, para fechamento do defeito cirúrgico; E: Formação excisada em bloco, contendo fascia muscular adjacente; F: Aspecto da formação excisada ao corte; G: Pós-operatório 2 dias; e H: 21 dias de pós-operatório. Fonte: Carneiro (2012).

5.5 Tratamento Quimioterápico

O protocolo quimioterápico foi sugerido para maioria dos pacientes, sendo que naqueles que a intervenção cirúrgica não foi possível esta modalidade de terapia se tratava como única alternativa. Além disso, o estado geral do paciente, bem como, os resultados de seus exames laboratoriais serviram de base para propor o início, manutenção e suspensão do tratamento quimioterápico. O tratamento iniciou-se assim que os pontos foram retirados.

13(28%) pacientes foram submetidos à terapia medicamentosa, sendo que na maioria dos casos, **10(77%)** esta terapia foi associada ao procedimento cirúrgico. Antes de cada sessão de quimioterapia, exames laboratoriais foram realizados, a fim de verificação dos níveis de leucócitos (>4000 neutrófilos/ μL).

A medicação de primeira escolha foi a doxorrubicina, sendo aplicada em uma dose de 1,5mg/Kg, por via endovenosa lentamente, entre 15 e 30 minutos. A aplicação foi repetida a cada 21 dias. Nenhum dos pacientes apresentou alterações de exames laboratoriais e clínicos, como emese e diarreia, que indicassem toxicidade da medicação. Somente em uma paciente observou-se anorexia severa, grau 4. Dois pacientes desenvolveram alterações de uréia e creatinina sanguínea, com azotemia e uremia, grau 1. A maior parte dos pacientes, 11 indivíduos, foi submetida a 4 ciclos de quimioterapia, sendo que em um paciente foram realizados 8 ciclos e em outro somente 2 aplicações.

Somente em dois pacientes a medicação utilizada foi a carboplatina, na dose de 300mg/m², por via endovenosa, lentamente, entre 15 e 30 minutos. As aplicações eram realizadas a cada 21 dias, equivalente a um ciclo.

5.6 Análise de Sobrevida

Realizou-se avaliação de correlação com os animais que evoluíram para o óbito e os que continuaram vivos e analisou-se os dados, por meio do teste qui-quadrado, observando que esta variável não está correlacionada com o tipo de sarcoma diagnosticado (**p=0,085**), ser a formação primária ou recidivante (**p=0,081**), localização da neoplasia (**p=0,186**), gênero do paciente (**p=0,401**) e o tipo de tratamento instituído (**p=0,598**).

A sobrevida foi caracterizada por meio da análise de Kaplan-Meier. Estimou-se uma sobrevida média de **843 dias (DP=84)**, com intervalo de confiança de 95%. Utilizando-se o teste Long-rank, não se observou diferença na sobrevida dos pacientes que apresentavam diferentes tipos de sarcoma, formação primária ou recidivante, ou por sua localização. O gênero dos pacientes e o tratamento instituído também não influenciaram na sobrevida dos indivíduos.

5.7 Análise histopatológica

No total foram selecionadas 28 neoplasias excisadas. Dentre estes casos, foram diagnosticados no Serviço de Patologia Animal do Departamento de Patologia – HOVET - FMVZ/USP, **13(46%)** formações como “sarcoma pouco diferenciado”, **7(25%)** como “sarcoma de aplicação”, **5(18%)** como “fibrossarcoma”, **2(7%)** como “lipoma atípico” com invasão de musculatura e **1(4%)** “sarcoma de alto grau”. Uma lesão foi descrita como sarcoma em fase inicial, já que apresentava célula de tecido adiposo alterado com presença de mitoses atípicas, muitas células inflamatórias, necrose e destruição celular.

Porém, para análise histopatológica e imunoistoquímica foram encontrados blocos de 22 formações. Com finalidade de homogeneizar os diagnósticos, realizou-se análise criteriosa de 22 lâminas por patologista experiente e capacitado

observando **19(86%)** fibrossarcoma, **2(9%)** neurofibrossarcomas e **um(5%)** sarcoma pouco diferenciado, sugerindo análise imunoistoquímica.

As lâminas foram avaliadas para obtenção do grau histológico da neoplasia, com base na quantidade de mitoses presentes (Figura7), presença e extensão de necrose (Figura 4) e grau de diferenciação celular (Figura 1, 2 e 3), sendo que **11(50%)** apresentaram **grau I**, **6(27%)** **grau II** e **5(23%)** apresentaram **grau III** (Tabela 4).

Utilizando –se o teste qui-quadrado, não foi observada nenhuma correlação entre o grau histopatológico determinado e o tipo de sarcoma diagnosticado (**p=0,814**), a formação ser primária ou recidivante (**p=0,765**), com a localização (**p=0,668**), com o gênero (**p=0,078**) e o tipo de tratamento adotado (**p=0,320**).

Tabela 4 – Classificação de grau histológico do SAF segundo COUTO et al., 2002

Nº HISTOPATOLOGICO	Mitose	Necrose	Diferenciação	Soma	Grav
44635	3	2	2	7	III
45315	1	2	3	6	II
45441	1	1	1	3	I
45783	2	3	3	8	III
45786	1	2	2	5	II
46113	2	2	3	7	III
46715	1	1	2	4	I
46716	1	1	1	3	I
46731	1	2	1	4	I
46770	1	1	1	3	I
46942	1	1	1	3	I
47017	1	1	1	3	I
47093	2	2	3	7	III
47586	1	1	3	5	II
48802	1	1	1	3	I
49037	2	3	2	7	III
49256	1	3	2	6	II
49345	1	3	1	5	II
49438	1	3	1	5	II
49468	1	1	2	4	I
49612	1	1	2	4	I
49613	1	1	1	3	I

Fonte: Carneiro (2012).

Figura 7 Fotomicrografia de cortes histológicos de SAF, para classificação do grau

A: Formação bem diferenciada, aumento 400x; B: Formação apresentando moderada diferenciação celular e presença de mitoses (setas), 200x; C: Formação apresentando pouca diferenciação celular, 400x; D: Formação apresentando moderada diferenciação e mitoses (setas), 200x; e E e F: Presença de necrose, células inflamatórias (setas) e hemorragia (ponta de seta), 200x.

Fonte: Carneiro (2012).

5.8 Análise Imunoistoquímica

Todas as 22 amostras foram submetidas ao exame imunoistoquímico (Figuras 8 e 9). O resumo dos resultados obtidos está ilustrado na Tabela 5. Observou-se que 18(88%) formações apresentaram-se negativas para desmina. A marcação para vimentina só foi negativa em **uma(5%)** amostra. A proteína S-100 (Figura 9) apresentou marcação na maioria das lâminas, **21(95%)**, sendo negativa somente em **um(5%)** paciente. A marcação para c-Kit foi notada em **5(23%)** amostras, sendo negativa nas demais.

Tabela 5 – Resultados obtidos com análise imunoistoquímica

NºPRONT	NºHISTO	HISTOPATOLOGIA	S-100	DESM	VIM	CITO	FeLV	c-KIT	COX2
162655	44635	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	1
170361	45315	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	0
168623	45441	FIBROSSARCOMA	1	0	0	0	0	1	1
174732	45783	SARCOMA POUCO DIF	1	0	1	0	1	1	1
169714	45786	NEUROFIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	0	1
176991	46113	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	1
174792	46715	NEUROFIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	1
182307	46716	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	1
181981	46731	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	0	1
157869	46770	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	0	1
181165	46942	FIBROSSARCOMA	1	1	1	0	0	0	1
181942	47017	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	1
179260	47093	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	1	1
163503	47586	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	1	0
199554	48802	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	0
145527	49037	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	0	0
201626	49256	FIBROSSARCOMA	1	1	1	0	0	0	0
205558	49345	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	0	0
205287	49438	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	0	1	1
102374	49468	FIBROSSARCOMA	0	1	1	0	0	0	0
200785	49613	FIBROSSARCOMA	1	1	1	0	0	0	1
207634	49651	FIBROSSARCOMA	1	0	1	0	1	0	0

Nº: número; Pront: prontuário; HP: Histopatológico; S-100: proteína sarcomérica; DESM: desmina; VIM: vimentina; CITO: citoqueratina, FeLV: marcação para vírus da leucemia felina, c-Kit: receptor tirosina quinase; Cox-2: receptor da ciclooxigenase 2.

Fonte: Carneiro (2012).

Figura 8 – Fotomicrografias de imunoistoquímica para vimentina, desmina e c-kit em SAF

A e B: Marcação positiva para vimentina (400x); C e D: Marcação negativa para desmina, porém com marcação positiva de musculatura (40x); E, F e G: Marcação positiva para c-Kit (400x); H: Marcação neoplásica negativa e células endoteliais positivas (400x).
Fonte: Carneiro (2012).

A marcação para citoqueratina foi positiva somente em porção epitelial, de **11(50%)** amostras analisadas. Entretanto, essa marcação foi negativa no tecido neoplásico de todas as amostras avaliadas (Figura 9).

A marcação de Cox-2 foi padronizada e mostrou positividade em **14(64%)** amostras. O mesmo ocorreu com a marcação para FeIV, sendo positiva em **9(41%)** amostras. Houve tentativa de padronização e marcação utilizando os anticorpos anti CD3 e CD68, porém o processo não resultou em marcação evidente em nenhuma neoplasia.

Tabela 6 – Resumo das análises estatísticas realizadas comparando as variáveis encontradas no exame imunoistoquímico e as variáveis clínicas

	Tipo Sarcoma	Formação primária ou Recidivante	Localização	Gênero	Tratamento Instituído
S-100	p=0,684	p=0,579	p=0,252	p=0,394	p=0,252
Desm	p=0,380	p=0,230	p=0,490	p=0,683	p=0,573
Vim	p=0,684	p=0,579	p=0,087	p=0,394	p=0,116
FeIV	p=0,329	p=0,116	p=0,344	p=0,548	p=0,241
c-Kit	p=0,637	p=0,168	p=0,241	p=0,279	p=0,221
Cox-2	p=0,814	p=0,765	p=0,688	p=0,078	p=0,320

S-100: proteína sarcomérica; DESM: desmina; VIM: vimentina; FeIV: marcação para vírus da leucemia felina, c-Kit: receptor tirosina quinase; Cox-2: receptor da cicloxigenase 2.

Fonte: Carneiro (2012).

Figura 9 – Fotomicrografias de imunoistoquímica para Cox-2, FeIV, S-100 e citoqueratina de SAF

Aumento 400x: A e B: Marcação positiva para Cox-2; C e D: Marcação positiva para FeIV; E e F: Marcação positiva para S-100; G: Marcação neoplásica negativa para citoqueratina; H: Marcação neoplásica negativa para citoqueratina, com porção epitelial saudável positiva.
 Fonte: Carneiro (2012).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Mesmo com o avanço nas pesquisas o Sarcoma de Aplicação Felino (SAF) continua gerando divergência no que tange suas características e seu comportamento. Desde sua primeira descrição em 1991 (HENDRICK; DUNAGAN, 1991), houve tentativas de elucidar as dúvidas que rodeiam a gênese e o tratamento desta neoplasia.

A única correlação comprovada entre vacinação e a gênese do sarcoma está na presença do adjuvante a base de alumínio das vacinas de FeLV e antirrábica (HENDRICK et al., 1992; KASS et al., 1993).

Após a formação da Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force (VAFSTF, 1996) e a publicação de suas recomendações, sugerindo medidas preventivas, de diagnóstico e alteração do local das aplicações, a prevalência desta neoplasia não se alterou (WILCOCK; WILCOCK; BOTTOMS, 2012).

Hoje se presume que após uma injúria, por traumatismo constante e aplicação medicamentosa ou vacinal, há, inicialmente, um processo inflamatório exagerado e descontrolado promovido pelo sistema imune do felino a fim de sanar a causa da injúria. Porém, por motivos ainda desconhecidos, há um estímulo modulador da inflamação, tornando o processo inflamatório menos eficiente, estimulando constantemente o ambiente em torno da neoplasia. Este estímulo estável e de baixa intensidade é capaz de modificar malignamente as células mesenquimais da espécie felina, iniciando o processo de neogênese (MACY; HENDRICK, 1996; CARROLL et al., 2002; MOORE; HOGENESCH, 2010). As neoplasias na espécie felina são menos observadas que na espécie canina, porém, geralmente, apresentam comportamento mais agressivo, evoluindo para recidivas frequentes e sobrevida menor (OLGIVE; MOORE, 2001).

As neoplasias epiteliais e do tecido conjuntivo são a segunda mais comum neoplasia de felinos, sendo o linfoma a primeira. (YAGER; WILCOCK, 1994; OLGIVE; MOORE, 2001).

O aumento da população de felinos nos Estados Unidos e os avanços na medicina felina podem ter contribuído para o aumento da incidência das neoplasias nessa espécie (MOORE, HOGENESCH, 2010).

A idade média de acometimento de pacientes com SAF descrita é em torno de 8-9 anos e é menor daquela encontrada em pacientes com sarcomas não relacionados à aplicação, 10-12 anos (HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996; VASCELARI et al., 2003; CARNEIRO, 2006). Neste estudo observou-se uma média de idade igual a 9,6 anos, assemelhando-se às aquelas encontradas na maioria das pesquisas publicadas.

A baixa taxa metastática, de até 25%, descrita na literatura também foi observada nesta pesquisa, sendo que somente em um(2,2%) paciente houve o aparecimento de metástase (HERSHEY et al., 2000; KOBAYASHI et al., 2002; HAUCK, 2003). Esta se manifestou após procedimento cirúrgico e quimioterapia adjuvante incompleta, 7 meses após a primeira consulta, sendo observada em pulmões. Houve evolução, mesmo com quimioterapia, com perda de visão repentina bilateral em 6 meses, com eutanásia em 1 mês, comprovando a presença de metástases em pulmão, retina, fígado, rins e baço. Este caso corrobora o fato de que a célula capaz de se desligar do tecido de origem e de se implantar em outro tecido, sendo o seu comportamento mais agressivo e, geralmente, é menos responsiva à quimioterapia (WITHROW; MACEWEN, 2001).

O período de latência desta afecção é amplo, variando de 3 meses até 10 anos (ESPLIN et al., 1993; HENDRICK et al., 1994). Por esse motivo principal, a correlação entre a aplicação ou trauma e a gênese neoplásica fica mais duvidosa, sendo possível exposição a diferentes tipos de carcinógenos durante o tempo de vida do paciente. Além disso, a comprovação de que o início do processo neoplásico tenha sido há mais de 3 anos é muito questionável. Além disso, sempre após a vacinação há um processo inflamatório desejável e necessário à estimulação e proteção imunológica, com nodulação em 100% dos casos, sendo que somente 5% destes sofrem transformação maligna, sugerindo-se acompanhamento deste por pelo menos 3 meses antes de se indicar a sua excisão (MACY; COUTO, 2001; GOBAR; KASS, 2002). Este critério também foi considerado, sendo que pacientes novos que apresentavam nodulações pós-aplicações recentes (com menos de 1 mês) eram aconselhados a acompanharem a formação e retornassem caso esta persistisse, desta forma estes casos não foram incluídos nesta pesquisa.

Além do estímulo inflamatório das aplicações, sugere-se, também, que a incidência de SAF pode estar relacionada com a estimulação imunológica constante

e com características inerentes a espécie felina (JELINEK, 2003; BANERJI et al., 2007; MOORE; HODENESCH, 2011).

Após a análise imunoistoquímica não foi possível obter marcação para células inflamatórias do tipo T e B, por meio dos marcadores CD3 e CD68 respectivamente. O intuito desta seria avaliar as possíveis células inflamatórias presentes na periferia neoplásica, justificando um provável auxílio inflamatório no microambiente de seu entorno. O que pode ser observado foi um agregado inflamatório linfo-plasmocítico perineoplásico, com presença de células gigantes, conforme observado por Hendrick e Brooks (1994), Macy e Couto (2001) e Hauck (2003). Para diferenciação entre os fenótipos 1 e 2, sendo o primeiro a resposta inflamatória propriamente dita, estimuladora, e o segundo uma resposta moduladora, gerenciadora da inflamação são necessárias mais pesquisas e padronização de técnicas e anticorpos.

Como a inflamação parece estar ligada intimamente à gênese do sarcoma e o tecido adiposo é sabidamente um produtor de hormônio ativo, sugerimos que possivelmente o local de aplicação utilizado nas administrações seja favorável ao aparecimento dessa neoplasia.

Nos felinos que apresentam obesidade, temos como característica o acúmulo de gordura em região torácica e abdominal (LAFLAMME, 2006), locais nos quais, no Brasil, comumente são realizadas aplicações e vacinações. O tecido adiposo é capaz de estimular e manter o processo inflamatório (COPPACK, 2001; TRAYHURN; BING, 2006). Em ratos, quando estimulado por meio de agonistas de PPAR induziu-se sarcoma em tecido subcutâneo de parede torácica-abdominal (GLINGHAMMAR, 2011).

A maioria dos pacientes que foram atendidos no HOVET – USP são animais domésticos, de hábitos sedentários, que possuem restrição de espaço e que, por vezes, são castrados, podendo apresentar obesidade, com acúmulo de gordura corporal, contribuindo para doenças.

Nesse trabalho observou-se que nossos pacientes apresentavam, em sua maioria, sobrepeso, 31(67,4%) pacientes. Além disso, durante o procedimento cirúrgico verificou-se também a presença de grande quantidade de gordura em tecido subcutâneo e esta, por vezes, mostrava-se alterada macroscopicamente.

Ocorreu diferença significativa por meio do teste t de Student quando comparou-se o peso ($p<0,001$) e o ECC ($p=0,001$) entre o grupo de pacientes que apresentaram SAF e o grupo controle. Os pacientes do grupo SAF e controle,

apresentavam idades semelhantes e todos haviam sido tratados com medicamentos injetáveis, bem como vacinados. O peso corpóreo médio do grupo SAF foi de 5,33Kg e 3,85Kg do grupo controle. O ECC médio do grupo SAF foi de 6,2, enquanto que do grupo controle foi de 4,8. Por meio do teste t de Student não houve diferença significativa na análise da média de idade 9,6 anos para o grupo SAF e 10,7 anos para o grupo controle. Não foi observada diferença significativa entre os gêneros e o peso de ambos os grupos (teste t de Student, $p=0,276$).

Esses dados sugerem que nossos pacientes realmente apresentam sobrepeso, porém os pacientes do grupo controle eram portadores de afecções crônicas, que podem levar a perda de peso. Acreditamos que seja necessária pesquisa mais ampla com maior número de pacientes no grupo controle e maior domínio das variáveis (enfermidade, data e local de vacinação ou aplicação, idade e ECC). O peso e o ECC não influenciaram no tipo de tratamento instituído (ANOVA, $P=0,406$ e $p=0,227$, respectivamente).

O ECC proposto pela pesquisadora foi validado, por meio do teste t de Student ($p=0,70$), demonstrando que não houve diferença estatística significativa com o sugerido pelos proprietários dos pacientes do grupo controle. Bem como, constatou-se na correlação de Pearson um coeficiente de 0,93 ($p<0,001$), o que significa uma alta correlação entre os escores, comprovada estatisticamente.

Conforme já demonstrado em outros estudos (ESPLIN et al., 1993; HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996; GOBAR; KASS, 2002) não houve diferença entre os gêneros sendo 21(46%) fêmeas e 25(54%) machos.

Ao exame físico as formações apresentaram superfície lisa e irregular (50%). A consistência variou entre firme 31(68%), macia 13(28%) e mista 2(4%). A variação da consistência pode ser explicada pela evolução da doença, quando do aparecimento de área de necrose central (DODDY et al., 1996; GOBAR; KASS, 2002; HAUCK, 2003).

A localização de sarcomas não relacionados à vacinação difere daqueles associados a ela, sendo a região mais acometida a cabeça, seguida de membros, ossos e cauda (DODDY et al., 1996). No nosso estudo, em 36(78%) pacientes a formação localizou-se na parede tóraco-abdominal, 6(13%) na região interescapular-cervical e, por fim, 4(9%) com formação em membro pélvico. Em concordância com Carneiro (2006).

A distribuição encontrada neste estudo não condiz com o observado na literatura. Olgive e Moore (2001) e Kass et al. (2003) descrevem a região interescapular como a mais acometida pelo SAF (84%) , seguida do membro pélvico (6%) e regiões, glútea, paralombar e abdominal lateral (10%).

A maioria dos pacientes, 36(78%) encaminhou-se ao tratamento pela primeira vez, sendo que 10(22%) já haviam sido submetidos à intervenção cirúrgica prévia.

Por recomendação da VAFSTF, o diagnóstico do SAF deve ser feito por meio de biópsia, porém Chalita et al (2002), publicaram trabalho no qual demonstram que a citologia é um método eficiente, não invasivo, de baixo risco e baixo custo para o diagnóstico precoce de neoplasias. Neste estudo foram realizadas citologias de todos os pacientes, porém, destes, somente 28(61%) indivíduos realizaram exame histopatológico. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que os pacientes necessitam de anestesia geral para realização do procedimento para biópsia, sendo maior o risco para o paciente e maior o custo para o proprietário. Muitos proprietários optaram por não realizar a biópsia, pois não queriam arcar com o pagamento dos exames pré-anestésicos.

Histologicamente observamos que a maioria das formações (86%) foram classificadas como fibrossarcomas, conforme em estudos anteriores (HENDRICK et al., 1994; DODDY et al., 1996; COUTO et al., 2002; WILCOCK; WILCOCK; BOTTOMS, 2012).

Observou-se que o grau das neoplasias mais encontrado foi o I, com 50% das formações classificadas, seguido do grau II, com 27% e grau III em 23% das amostras analisadas. Dados que diferem dos encontrados por Couto et al. (2002) que classificou 25% de neoplasias como grau I, 47,7% como grau II e 25% como grau III. Na medicina humana o grau histológico dos sarcomas de partes moles é um importante fator prognóstico para recidivas, metástases e sobrevida total (KENDEL et al., 1999). Romanelli et al. (2008) descrevem que em sarcomas de alto grau as metástases são mais comuns, porém este risco não está excluído em sarcomas de baixo grau. Nesta pesquisa não detectamos influencia do grau histológico nas variáveis clínicas, nem na sobrevida total dos pacientes.

A análise imunoistoquímica demonstrou marcação positiva para vimentina na maioria das neoplasias, com exceção de uma, provavelmente devido ao estado avançado de degradação da peça fixada. Esse resultado é esperado já que o SAF é uma neoplasia de origem mesenquimal e o anticorpo anti-vimentina marca filamento

de proteína exclusiva de células mesenquimais (HENDRICK; BROOKS, 1994; MADEWELL et al., 2001).

Já a citoqueratina é uma proteína exclusiva de células de origem epitelial, não foi observada marcação para esta proteína em nenhuma amostra. A marcação para citoqueratina foi detectada somente na porção epitelial nas neoplasias, nas quais esta foi representada.

A marcação para desmina, filamento proteico presente nos três tipos de fibras musculares, foi positiva em 4 amostras, sendo negativa nas demais. Isso sugere que estas formações foram originadas de tecido muscular, sendo que todas tiveram como diagnóstico primário fibrossarcoma. Isso pode ter ocorrido devido ao fato de que a maioria dos sarcomas apresenta-se com diferenciação moderada a baixa, dificultando o exame histopatológico.

A proteína S-100, geralmente, é encontrada em diversos tipos de células, porém o isotipo S-100B é mais abundante em células gliais do sistema nervoso central e periférico, bem como em melanócitos, condrócitos e adipócitos. A marcação para proteína S-100 foi positiva na maioria das lâminas (95%), sendo negativa somente em um paciente. Acreditamos que as marcações sejam referentes à presença de células do tecido adiposo, não à origem de bainha neural, como sugerido pela marcação. Isso se deve a falta de especificidade da marcação na amostra.

Houve marcação para receptor CD117/c-kit em 5(23%) amostras sugerindo que nestes pacientes o tratamento com inibidores da quinase poderia ser eficiente. Smith, Njaa e Lamm (2009) publicaram estudo sobre imunoistoquímica para c-kit em sarcomas de partes moles felinos, sendo que foi encontrada porcentagem de marcação semelhante, positiva em 26% das amostras, não apresentando correlação com sobrevida total. A presença de marcação para c-kit neste estudo também não influenciou a sobrevida.

A marcação para Cox-2 foi observada em 64% das amostras, sugerindo um possível envolvimento dessa enzima na gênese neoplásica e que uma possível terapia com anti-inflamatórios não esteroidais possa ser utilizada para esse de neoplásia. A marcação para Cox-2 já está padronizada para diversos tipos de neoplasias, principalmente de origem epitelial, como os carcinomas e adenocarcinomas. Além disso, a enzima Cox-2 pode estar envolvida com o processo de transformação maligna e progressão neoplásica, afetando a proliferação, divisão,

adesão, apoptose, angiogênese neoplásicas e alterando a vigilância do sistema imune (WILLIAMS; MANN; DUBOIS, 1999). A gênese do SAF mostra-se correlacionada com o processo inflamatório, podendo a marcação para Cox-2 ser um importante passo para essa elucidação.

Foi verificada marcação positiva para anticorpo anti-FelV em 41% das amostras testadas. Não influenciando nenhuma alteração de características clínicas, bem como na sobrevida.

O volume neoplásico medido por meio do exame clínico variou, sendo que a média apresentada foi de 146,9cm³. A demora em procurar o tratamento justifica os volumes amplos apresentados, todavia houve alguns pacientes que foram trazidos à consulta com formações pequenas de 1-3 cm, permitindo um tratamento mais eficiente.

Nenhuma das variáveis clínicas mostrou-se correlacionadas entre si, bem como, com a recidiva e sobrevida. Esta informação encontrada difere do observado nas publicações, nas quais o volume da formação inicial e a presença de recidiva são considerados fatores prognósticos negativos para os pacientes portadores de SAF (BREGAZZI et al., 2001; COHEN et al., 2001; ROMANELI et al., 2008).

Ao exame de tomografia computadorizada observou-se em todas as formações analisadas atenuação partes-moles (33 amostras). A maioria das formações apresentou aspecto heterogêneo anterior (76%) e posterior (82%) à administração de contraste endovenoso. Enquanto que somente 24% mostrou aspecto homogêneo e 18% mantiveram essa característica de realce após à administração de contraste iodado. Além disso, notou-se presença de área de liquefação central em 70% das formações. As características citadas anteriormente corroboram estudos anteriores nos quais o sarcoma é descrito como formação de nodulação única ou massa difusa multinodulada, de centro necrótico e bordos firmes (MCENTEE; PAGE, 2001; CARNEIRO, 2006; MARTANO; MORELLO; BURACCO, 2011). Por vezes o aspecto heterogêneo, ponto de liquefação central deve-se ao fato da neoplasia estar presente por um período longo.

Ao mesmo tempo, observou-se invasão na maioria das amostras, sendo que 19(58%) apresentaram comprometimento muscular, e em 12(36%) houve presença de borramento de gordura adjacente à formação. Somente 2(6%) formações não apresentaram invasão nem borramento de gordura. Porém estes paciente apresentavam formações de pequenas dimensões não ultrapassando 2cm de

diâmetro. Estes dados obtidos vão de encontro ao publicado por Hauck (2003); Macy (2004); North e Banks (2009) e Wilcock, Wilcock e Bottoms (2012), que descrevem o SAF altamente agressivo, como projeções em forma de dedo que, geralmente, invadem os tecidos adjacentes.

O exame de TC é de extrema importância para obtenção do volume exato da formação bem como sua extensão, promovendo um planejamento cirúrgico mais acurado (MCENTEE; PAGE, 2001; HAUCK, 2003; MACY, 2004; ROMANELLI et al., 2008; NORTH; BANKS, 2009; CARNEIRO et al., 2009), sendo imprescindível na decisão do tipo de tratamento.

Segundo análise realizada, a presença de invasão de tecidos adjacentes no exame tomográfico influenciou na decisão do tipo de tratamento instituído (teste qui-quadrado, $p=0,019$). Os pacientes nos quais foram aplicados os tratamentos “procedimento cirúrgico” (IC) e “quimioterapia seguida de IC” (QXT+IC) apresentaram invasão neoplásica menor em relação aos pacientes que receberam como tratamento somente a quimioterapia (QXT), bem como os proprietários que optaram por não realizar nenhum tipo de tratamento (NDN).

Com exceção da presença de invasão de tecidos adjacentes, nenhuma característica analisada no exame TC mostrou correlação com as variáveis clínicas e sobrevida, desta forma contrariando publicações anteriores que sugerem a influencia do volume inicial de forma negativa na sobrevida do paciente (COHEN et al., 2001; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005).

O tratamento de escolha para as neoplasias sólidas presentes em animais é a cirurgia (WITHROW; MACEWEN, 2001). Para o sarcoma isso também é descrito, como melhor tratamento, com maior tempo livre de doença e sobrevida é a cirurgia radical, com ressecção em bloco (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; HERSHEY et al., 2000; ROMANELLI et al., 2008; WILCOCK; WILCOCK; BOTTOMS, 2012).

O tratamento cirúrgico realizado por profissional com experiência e certificação está associado com menor presença de complicações pós-operatórias (DAVIS et al., 2007; PHELPS et al., 2011). Na maioria dos nossos pacientes (74%) não houve intercorrências após a cirurgia. Em 6(26%) pacientes houve deiscência de pontos e a ferida foi cicatrizada por segunda intenção, sendo que em um paciente isso não foi observado, devido a recidiva local, com evolução para a eutanásia.

Após a cirurgia foi sugerido o tratamento quimioterápico para todos os 23 pacientes, mas somente 10 proprietários autorizaram a terapia. Além disso, foi

realizada quimioterapia isolada em 3 pacientes, após a TC e a constatação de impossibilidade de intervenção cirúrgica. A terapia com medicação quimioterápica apresenta altos índices de rejeição pelos proprietários, principalmente os da espécie felina. Na medicina veterinária os efeitos adversos oriundos da quimioterapia variam de 0 a 10% dos casos, sendo que estes dependem do tipo de medicação aplicada e a forma de administração (WITHROW; MACEWEN, 2001).

Neste trabalho utilizou-se uma dose de doxorubicina (1,5mg/Kg), maior do que a recomendada na literatura (1mg/Kg), (BABER et al., 2000; OLGIVE.; MOORE, 2001; KOBAYASHI et al., 2002; POIRIER et al., 2002;). Não obstante não detectamos efeitos adversos em 77% dos pacientes, sendo que a maioria foi submetida a pelo menos 4 ciclos de aplicação. Somente um paciente apresentou anorexia severa, grau 4, e dois sofreram alterações dos níveis sanguíneos de uréia e creatinina, grau 1. A doxorubicina tem como principal efeito adverso em felinos a anorexia severa, tendo como indicação a colocação de tubo gástrico para alimentação do paciente (OLGIVE; MOORE, 2001).

Neste estudo houve a preocupação de elucidar possíveis fatores prognósticos para os pacientes portadores de SAF, sendo realizada a análise de sobrevida. A sobrevida média observada foi de 843 dias (DP=84), sendo maior do que a citada na literatura que varia de 154 até 608 dias (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; HERSHEY et al., 2000; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005; SMITH; NJAA; LLAMM, 2009). O sucesso do tratamento depende da análise das imagens da TC e do planejamento cirúrgico, associados à destreza da equipe de cirurgiões que realizaram os procedimentos cirúrgicos com margens livres de células neoplásicas. Bem como do tratamento quimioterápico, da dose administrada e do número de ciclos. Hendrick et al. (1994) obtiveram, quando compararam pacientes SAF aos portadores de sarcoma de partes moles, recidiva em menor tempo, porém com maior sobrevida total.

Utilizou-se o teste qui-quadrado para verificar a relação entre o óbito e as variáveis clínicas, não sendo observada significância estatística em nenhuma das correlações. Como dito anteriormente, isso contraria alguns estudos nos quais a localização da neoplasia e seu volume inicial são considerados fatores prognósticos para o aumento da sobrevida (DAVIDSON; GREGORY; KASS, 1997; DILLON; MAULDIN; BAER, 2005; GIUDICE et al., 2010).

Com o progresso nas pesquisas da gênese neoplásica, sabe-se que para o seu desenvolvimento são necessárias transformações celulares, sendo somadas capacidades que promovem, mantêm e estimulam o crescimento neoplásico (HANAHAHAN; WEINBERG, 2011). A participação do tecido adiposo e da inflamação nessas modificações já foi observada na literatura. Assim sendo, estes passos deverão ser elucidados e empregados para se desvendar a gênese e o comportamento do SAF.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, e após análise crítica podemos concluir que:

- O exame imunoistoquímico é essencial ao adequado diagnóstico do sarcoma de aplicação felino.
- A presença de marcação para Cox-2 e/ou c-Kit no sarcoma de aplicação felino, sugere a possibilidade de tratamento dos pacientes com antiinflamatórios não esteroidais e/ou inibidores da quinase, respectivamente.
- Felinos obesos e com ECC superior a 5 apresentam tendência a desenvolver SAF.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ARGYRIS, T. S. Regeneration and the mechanism of epidermal tumor promotion. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 14, n. 3, p. 211–258, 1985.

BARBER, L. G.; SORENMO, K. U.; CRONIN, K. L.; SHOFER, F. S. Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 36, n. 5, p. 416-421, 2000.

BAECHER-ALLAN, C.; ANDERSON, D. E. Immune regulation in tumor-bearing hosts. **Current Opinion in Immunology**, v. 18, n. 2, p. 214-219, 2006.

BALKWILL, F. Cancer and the chemokine network. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 7, p. 540-550, 2004.

BANERJI, N.; KAPUR, V.; KANJILAL, S. Association of germ-line polymorphisms in the feline p53 gene with genetic predisposition to vaccine-associated feline sarcoma. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 5, p. 421-427, 2007.

BERGMAN, P. J. Etiology of feline vaccine-associated sarcomas: history and update. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 10, p. 1424-1425, 1998. Vaccine-associated Feline Sarcoma Symposium

BISWAS, S. K.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. **Nature immunology** v.11, n. 10, p 889-896, 2010.

BISWAS, S. K.; LOPEZ-COLLAZO, E. Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance. **Trends in Immunology**, v. 30, n. 10, p. 475-487, 2009.

BLANTON, J. D.; BOWDEN, N. Y.; EIDSON, M.; WYATT, J. D.; HANLON, C. A. Rabies postexposure prophylaxis, New York, 1995-2000. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 12, p. 1921-1927, 2005.

BLATTMAN, J.N.; GREENBERG, P.D. Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. **Science**, v. 305, n. 5681, p. 200-205, 2004.

BREGAZZI, V. S.; LARUE, S. M.; MCNIEL, E.; MACY, D. W.; DERNELL, W. S.; POWERS, B. E.; WITHROW, S. J. Treatment with a combination of doxorubicin, surgery, and radiation versus surgery and radiation alone for cats with vaccine-

associated sarcomas: 25 cases (1995-2000). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 4, p. 547-550, 2001.

BROWN, N. O.; PATNAIK, A. K.; MOONEY, S.; HAYES, A.; HARVEY, H. J.; MACEWEN, E. G. Soft tissue sarcomas in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 173, n. 6, p. 744-749, 1978.

BUNT, S. K.; YANG, L.; SINHA, P.; CLEMENTS, V. K.; LEIPS, J.; OSTRAND-ROSENBERG, S. Reduced inflammation in the tumor microenvironment delays the accumulation of myeloid-derived suppressor cells and limits tumor progression. **Cancer Research**, v. 67, n. 20, p. 10019-10026, 2007.

BURACCO, E.; MARTANO, M.; MORELLO, E.; RATTO, A. Vaccine associated-like fibrosarcoma in the site of a deep non absorbable suture in a cat. **Veterinary Journal**, v. 163:150-107, 2002.

CARMINATO, A.; VASCELLARI, M.; MARCHIORO, W.; MELCHIOTTI, E.; MUTINELLI, F. Microchip-associated fibrosarcoma in a cat. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 6, p. 565-569, 2011.

CARNEIRO, C. S. **Estudo clínico sobre o efeito da administração de doxorubicina no sarcoma de aplicação em felino**. 2006. 94f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006, 94fl, 2006.

CARNEIRO, C. S.; RIBEIRO, A. A. C. M.; COSTA, T. A.; GOMES, S. P.; OLIVEIRA, F. R.; FONSECA-PINTO, A. C. B. C.; MATERA, J. M. Three-dimensional assessment of sarcomas in cats, using computerised tomography coupled with design-based stereology – a case report. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL VETERINARY RADIOLOGY ASSOCIATION, 15. 2009, Búzios-RJ. Proceedings... 2009.

CARROLL, E. E.; DUBIELZIG, R. R.; SCHULTZ, R. D. Cats differ from mink and ferrets in their response to commercial vaccines: a histologic comparison of early vaccine reactions. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 2, p. 216-227, 2002.

COHEN, M.; WRIGHT, J. C.; BRAWNER, W. R.; SMITH, A. N.; HENDERSON, R.; BEHREND, E. N. Use of surgery and electron beam irradiation, with or without chemotherapy, for treatment of vaccine-associated sarcomas in cats: 78 cases (1996-2000). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.219, n. 11, p. 1582-1589, 2001.

COINDRE, J. M.; NGUYEN, B. B.; BONICHON, F.; DE MASCAREL, I.; TROJANI, M. Histopathologic grading in spindle cell soft tissue sarcomas. **Cancer**, v. 61, n. 11, p. 2305-2309, 1988.

COLLIARD, L.; PARAGON, B. M.; LEMUET, B.; BÉNET, J. J.; BLANCHARD, G. Prevalence and risk factors of obesity in an urban population of healthy cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 2, p. 135-140, 2008.

CONDEELIS, J.; POLLARD, J. W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. **Cell**, v. 124, n. 2, p. 263-266, 2006.

COPPACK, S. W. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. **The Proceedings of Nutrition Society**, v. 60, n. 3, p. 349-360, 2001.

COURCIER, E. A.; O'HIGGINS, R.; MELLOR, D. J.; YAM, P. S. Prevalence and risk factors for feline obesity in a first opinion practice in Glasgow, Scotland. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 10, p. 746-753, 2010.

COUTO, C. G.; MACY, D. W. Review of treatment options for vaccine-associated feline sarcoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 10, p. 1426-1427, 1998. Vaccine-associated Feline Sarcoma Symposium.

COUTO, S. S.; GRIFFEY, S. M.; DUARTE, P. C.; MADEWELL, B. R. Feline vaccine-associated fibrosarcoma: morphologic distinctions. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 1, p. 33-41, 2002.

COYNE, M. J. REEVES, N. C.; ROSEN, D. K. Estimated prevalence of injection site sarcomas in cats during 1992. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 2, p. 249-251, 1997.

CHUN, R.; GARRETT, L. D.; VAIL, D. M. Cancer chemotherapy. In: WHITROW & MACEWEN'S. **Small animal clinical oncology**. 4.ed. WB Saunders, 2007.p. 163-192, 2007.

CRONIN, K.; PAGE, R. L.; SPODNICK, G.; DODGE, R.; HARDIE, E. N.; PRICE, G. S.; RUSLANDER, D.; THRALL, D. E. Radiation therapy and surgery for fibrosarcoma in 33 cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 39, n. 1, p. 51-56, 1998.

DAVIDSON, E. B.; GREGORY, C. R.; KASS, P. H. Surgical excision of soft tissue fibrosarcomas in cats. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 4, p. 265-269, 1997.

DAVIS, K. M.; HARDIE, E. M.; MARTIN, F. R.; ZHU, J.; BROWNIE, C. Correlation between perioperative factors and successful outcome in fibrosarcoma resection in cats. **The Veterinary Record**, v. 161, p. 199-200, 2007. Short Communications.

DEPALMA, M.; VENNERI, M. A.; GALLI, R.; SERGI SERGI, L.; POLITI, L. S.; SAMPAOLESI, M.; NALDINI, L. Tie2 identifies a hematopoietic lineage of proangiogenic monocytes required for tumor vessel formation and a mesenchymal population of pericyte progenitors. **Cancer Cell**, v. 8, n. 3, p.211-226, 2005.

DILLON, C. J.; MAULDIN, G. N.; BAER, K. E. Outcome following surgical removal of non-visceral soft tissue sarcomas in cats: 42 cases (1992-2000). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 12, p. 1955-1957, 2005.

DODDY, F. D.; GLICKMAN, L. T.; GLICKMAN, N. W.; JANOVITZ, E. B. Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, n. 2, p. 165-174, 1996.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLEER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; DEANS, R.; KEATING, A.; PROCKOP, D. J.; HORWITZ, E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy. **Cytotherapy**, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.

DUBIELZIG, R. R. Ocular sarcoma following trauma in three cats. **Journal of American Veterinary Association**, v. 184, p. 578-581, 1984.

DUBIELZIG, R. R.; EVERITT, J.; SHADDUCK, J. A.; ALBERT, D. M. Clinical and morphologic features of post-traumatic ocular sarcomas in cats. **Veterinary Pathology**, v. 27, n. 1, p. 62-65, 1990.

ECKSTEIN, C.; GUSCETTI, F.; ROOS, M.; MARTÍN, D. E.; LAS MULAS, J.; KASERHOTZ, B.; ROHRER BLEY, C. A retrospective analysis of radiation therapy for the treatment of feline vaccine-associated sarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 1, p. 54-68, 2009.

ELLIS, J. A.; JACKSON, M. L.; BARTSCH, R. C.; MCGILL, L. G.; MARTIN, K. M.; TRASK, B. R.; HAINES, D. M. Use of immunohistochemistry and polymerase chain reaction for detection of oncornaviruses in formalin-fixed, paraffin-embedded fibrosarcomas from cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 4, p. 767-771, 1996.

EREZ, N.; TRUITT, M.; OLSON, P.; HANAHAN, D. Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF- κ B-dependent manner. **Cancer Cell**, v. 17, n. 2, p. 135-147, 2010.

ESPLIN, D. G.; MCGILL, L. D. Fibrosarcoma at the site of lufenuron injection in a cat. **Veterinary Cancer Society Newsletter**, v. 23, n. 2, p. 8-9, 1999.

ESPLIN, D. G.; MCGILL, L. D.; MEININGER, A. C.; WILSON, S. R. Post vaccination sarcomas in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 8, p. 1245-1247, 1993.

GOBAR, G. M.; KASS, P. H. World wide web-based survey of vaccination practices, postvaccinal reactions, and vaccine-associated sarcomas in cats. **Journal of American Veterinary Association**, v. 220, n. 10, p. 1477-1482, 2002.

GIMBLE, J. M.; KATZ, A. J.; BUNNEL, B. A. Adipose stem cells for regenerative medicine. **Circulation Research**, v. 100, n. 9, p. 1249-1260, 2007.

GLINGHAMMAR, B.; BERG, A-L.; BJURSTROM, S.; STOCKLING, K.; BLOMGREN, B.; WESTERBERG, R.; SKANBERG, I.; HELLMOLD, H.; ANDERSSON, U. Proliferative and molecular effects of the dual PPAR α / γ agonist Tesaglitazar in rat adipose tissues: relevance for induction of fibrossarcoma. **Toxicologic Pathology**, v. 39, n. 2, p. 325-336, 2011.

GORDON, S.; TAYLOR, P. R. Monocyte and macrophage heterogeneity. **Nature Review Immunology**, v. 5, n. 12, p. 953-964, 2005.

GIUDICE, C.; STEFANELLO, D.; SALA, M.; CANTATORE, M.; RUSSO, F.; ROMUSSI, S.; TRAVETTI, O.; DI GIANCAMILLO, M.; GRIECO, V. Feline injection-site sarcoma: recurrence, tumour grading and surgical margin status evaluated using the three-dimensional histological technique. **Veterinary Journal**, v. 186, n. 1, p. 84-88, 2010.

HAHN, K. A.; ENDICOTT, M. M.; KING, G. K.; HARRIS-KING, F. D. Evaluation of radiotherapy alone or in combination with doxorubicin chemotherapy for the treatment of cats with incompletely excised soft tissue sarcomas: 71 cases (1989-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 231, n. 5, p. 742-745, 2007.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HAUCK, M. Feline injection site sarcomas. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 33, p. 553-571, 2003.

HENDRICK, M. J.; GOLDSCHMIDT, M. H. Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats? **Journal of American Veterinary Association**, v. 199, p. 968, 1991.

HENDRICK, M. J.; GOLDSCHMIDT, M. H.; SHOFER, F. S.; WANG, Y. Y.; SOMLYO, A. P. Postvaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum. **Cancer Research**, v. 52, n. 19, p. 5391-5394, 1992.

HENDRICK, M. J.; SHOFER, F. S.; GOLDSCHMIDT, M. H.; HAVILAND, J. C.; SCHELLING, S. H.; ENGLER, S. J.; GLIATTO, J. M. Comparison of fibrosarcomas that developed at vaccination sites and at non vaccination sites in cats: 239 cases (1991-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 10, p. 1425-1429, 1994.

HENDRICK, M. J.; BROOKS, J. J. Post vaccinal sarcomas in the cat: histology and immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v. 31, n. 1, p. 126-129, 1994.

HENDRICK, M. J.; MAHAFFEY, E. A.; MOORE, F. M.; VOS, J. H.; WALDER, E. J. **Histological classification of mesenchymal tumors of skin and soft tissues of domestic animals**. Washington, D. C. ; WHO, 1998 v. 2. WHO (Second Series).

HENDRICK, M. J. Historical review and current knowledge of risk factors involved in feline vaccine-associated sarcomas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 10, p. 1422-1423, 1998a, Vaccine-associated Feline Sarcoma Symposium.

HENDRICK, M.J. Feline vaccine-associated sarcomas: current studies on pathogenesis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 10, p. 1425-1426 – Vaccine-associated Feline Sarcoma Symposium, 1998b.

HENDRICK, M. J. Feline vaccine-associated sarcomas. **Cancer Investigation**, v. 17, n. 4, p. 273-277, 1999.

HENRY, C. J. Update on Vaccine-Associated Sarcomas. In: AUGUST, J. R.; Consultations in Feline Internal Medicine. Philadelphia: WB Saunders, 2001, v. 4, p. 541-547.

HERSHEY, A. E.; SORENMO, K. U.; HENDRICK, M. J.; SHOFER, F. S.; VAIL, D. M. Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision: 61 cases (1986-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 1, p. 58-61, 2000.

HERSHEY, A.E; DUBIELZIG, R.R.; PADILLA, M.L. Aberrant p53 expression in feline vaccine-associated sarcomas and correlation with prognosis. **Veterinary Pathology**, v.67, n.10, p.805-811, 2005.

HORI, S.; NOMURA, T.; SAKAGUCHI, S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor foxp3. **Science**, v. 299, n. 5609, p. 1057-1061, 2003.

HÜTTINGER, C.; HIRSCHBERGER, J.; JAHNKE, A.; KÖSTLIN, R.; BRILL, T.; PLANK, C.; KÜCHENHOFF, H.; KRIEGER, S.; SCHILLINGER, U. Neoadjuvant gene delivery of feline granulocyte-macrophage colony-stimulating factor using magnetofection for the treatment of feline fibrosarcomas: a phase I trial. **The Journal of Gene Medicine**, v.10, n. 6, p. 655-667, 2008.

JAHNKE, A.; HIRSCHBERGER, J.; FISCHER, C.; BRILL, T.; KÖSTLIN, R.; PLANK, C.; KÜCHENHOFF, H.; KRIEGER, S.; KAMENICA, K.; SCHILLINGER, U. Intra-tumoral gene delivery of feline IL-2, feline IFN-gamma and feline GM-CSF using magnetofection as a neoadjuvant treatment option for feline fibrosarcomas: a phase-I study. **Journal of Veterinary Medicine: A Physiology, Pathology, Clinical Medicine**, v. 54, n. 10, p. 599-606, 2007.

JELINEK, F. Postinflammatory sarcoma in cats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 55, n. 2-3, p. 167-172, 2003.

KAHLER, S. Collective effort needed to unlock factors related to feline injection-site sarcomas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 10, p. 1551-1554, 1993.

KANJILAL, S.; BANERJI, N.; FIFER, A.; WOOD, C.; KLAUSNER, J. S.; KAPUR, V. p53 tumor suppressor gene alterations in vaccine-associated feline sarcoma. **Proceedings of Annual Veterinary Cancer Society Conference**, v. 19, p.48, 1999.

KASS, P. H.; BARNES, W. G.; SPANGLER, W. L.; CHOMEL, B. B.; CULBERTSON, M. R. Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrossarcoma tumorigenesis in cats. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 203, n. 3, p. 396-405, 1993.

KASS, P.H.; SPANGLER, W.L.; HENDRICK, M.J.; MCGILL, L. D.; ESPLIN, D. G.; LESTER, S.; SLATER, M.; MEYER, E. K.; BOUCHER, F.; PETERS, E. M.; GOBAR, G. G.; HTOO, T.; DECILE, K.. Multicenter case-control study of risk factors associated with development of vaccine-associated sarcomas in cats. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 223, n. 9, p. 1283-1292, 2003.

KATAYAMA, R.; HUELSMEYER, M. K.; MARR, A. K.; KURZMAN, I. D.; THAMM, D. H.; VAIL, D. M. Imatinibmesylate inhibits platelet-derived growth factor activity and increases chemosensitivity in feline vaccine-associated sarcoma. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 54, n. 1, p. 25-33, 2004.

KAWADA, K.; SONOSHITA, M.; SAKASHITA, H.; TAKABAYASHI, A.; YAMAOKA, Y.; MANABE, T.; INABA, K.; MINATO, N.; OSHIMA, M.; TAKETO, M. M. Pivotal role of CXCR3 in melanoma cell metastasis to lymph nodes. **Cancer Research**, v. 64, n. 11, p. 4010-4017, 2004.

KENDEL, R. A.; BELL, R. S.; WUNDER, J. S.; O'SULLIVAN, B.; CATTON, C. N.; WHITE, L. M.; DAVIS A. M. Comparison between a 2-and 3- grade system in predicting metastatc-free survival in extremity soft tissue sarcoma. **Journal of Surgical Oncology**, v. 72, n. 2, p. 77-82, 1999.

KIDNEY, B. A.; ELLIS, J. A.; HAINES, D. M.; JACKSON, M. L. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues obtained from vaccine site-associated sarcomas of cats for DNA of feline immunodeficiency virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 9, p. 1037-1041, 2000.

KIDNEY, B. A.; HAINES, D. M.; ELLIS, J. A.; BURNHAM, M.; JACKSON, M. L. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from vaccine site-associated sarcomas of cats for polyomavirus DNA and antigen. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 6, p. 828-832, 2001a.

KIDNEY, B. A.; HAINES, D. M.; ELLIS, J. A.; BURNHAM, M. L.; TEIFKE, J. P.; CZERWINSKI, G.; JACKSON, M. L. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from vaccine site-associated sarcomas of cats for papillomavirus DNA and antigen. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 6, p. 833-839, 2001b.

KIDNEY, B. A.; ELLIS, J. A.; HAINES, D. M.; JACKSON, M. L. Comparison of endogenous feline leukemia virus RNA content in feline vaccine and nonvaccine site-associated sarcomas. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 12, p. 1990-1994, 2001c.

KIDNEY, B. A.; HAINES, D. M.; ELLIS, J. A.; BURNHAM, M. L.; JACKSON, M. L. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from feline vaccine site-associated sarcomas for feline foamy virus DNA. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 1, p. 60-63, 2002.

KOBAYASHI, T.; HAUCK, M. L.; DODGE, R.; PAGE, R. L.; PRICE, G. S.; WILLIAMS, L. E.; HARDIE, E. M.; MATHEWS, K. G.; THRALL, D. E. Preoperative radiotherapy for vaccine associated sarcoma in 92 cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 43, n. 5, p. 473-479, 2002.

LAFLAMME, D.P. Development and validation of a body condition score system for cats: a clinical tool. **Feline Practice**, v. 25, n. 5-6, p. 13-18, 1997.

LAFLAMME, D. P. Understanding and managing obesity in dogs and cats. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 36, p. 1283-1295, 2006.

LAIRD, D. J.; VON ADRIAN U. H.; WAGERS, A. J. Stem cell trafficking in tissue development, growth, and disease. **Cell**, v. 22, n.132, p. 612-630, 2008.

LANA, S. E.; OGILVIE, G. K.; Clinical perspectives on Vaccine-Associated Sarcomas. In: AUGUST J. R. **Consultations in feline internal medicine**. Philadelphia: WB Saunders, 1997. v. .3, p. 541-545, 1997.

LAWRENCE, J.; SABA, C.; GOGAL, R.; LAMBERTH, O.; VANDENPLAS, M. L.; HURLEY, D.J.; DUBREUIL, P.; HERMINE, O.; DOBBIN, K.; TUREK, M. Masitinib demonstrates anti-proliferative and pro-apoptotic activity in primary and metastatic feline injection-site sarcoma cells. **Veterinary and Comparative Oncology** [Epub ahead of print], 2011.

LESTER, S.; CLEMETT, T.; BURT, A. Vaccine site-associated sarcomas in cats: clinical experience and a laboratory review (1982-1993). **Journal of American Animal Hospital Association**, v.32, n., p. 91-95, 1996.

LI, J.; QIAN, C-N.; ZENG, Y-X. Regulatory T cells and EBV associated malignancies. **International Immunopharmacology**, v. 9, n. 5, p. 590-592, 2009.

LIN, E. Y.; NGUYEN, A. V.; RUSSELL, R. G.; POLLARD, J. W. Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 193, n. 6, p. 727-740, 2001.

LIN, E. Y.; LI, J. F.; GNATOVSKIY, L.; DENG, Y.; ZHU, L.; GRZESIK, D. A.; QIAN, H.; XUE, X. N.; POLLARD, J.W. Macrophages regulate the angiogenic switch in a

mouse model of breast cancer. **Cancer Research**, v. 66, n. 23, p. 11238-11246, 2006.

LIPTAK, J. M.; FORREST, L. J. Soft Tissue Sarcomas. In: WHITROW & MACEWEN'S. **Small animal clinical oncology**. 4ed. Philadelphia: WB Saunders, p. 425-454, 2007.

LUMENG, C. N.; BODZIN, J. L.; SALTIEL, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 1, p. 175-184, 2007.

MACY D. W. Feline vaccine-associated sarcomas: progress? **Animal Health Research Reviews**, v. 5, n. 2, p. 287-289, 2004.

MACY, D. W.; COUTO, C. G.; Prevention and treatment of injection-site sarcomas. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, p. 169-170, 2001.

MACY, D. W.; HENDRICK, M. J. The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. **The Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 103-109, 1996.

MADEWELL, B. R.; GRIFFEY, S. M.; MCENTEE, M. C.; LEPPERT, V. J.; MUNN, R. J. Feline vaccine-associated fibrosarcoma: an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999). **Veterinary Pathology**, v. 38, n. 2, p. 196-202, 2001.

MANTOVANI, A.; BOTTAZZI, B.; COLOTTA, F.; RUCO, L. The origin and function of tumor-associated macrophages. **Immunology Today**, v. 13, n. 7, p. 265-270, 1992.

MANTOVANI, A.; SOZZANI, S.; LOCATI, M.; ALLAVENA, P.; SICA, A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. **Trends in immunology**, v. 23, n.11, p. 549-555, 2002.

MANTOVANI, A.; ALLAVENA, P.; SICA, A.; BALKWILL, F. Cancer-related inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 436-44, 2008.

MARTANO, M.; MORELLO, E.; UGHETTO, M.; I USSICH, S.; PETTERINO, C.; CASCIO, P.; BURACCO, P. Surgery alone versus surgery and doxorubicin for the treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases. **Veterinary Journal**, v. 170, n.1, p. 84-90, 2005.

MARTANO, M.; MORELLO, E.; BURACCO, P. Feline injection-site sarcoma: Past, present and future perspectives. **The Veterinary Journal**, v.188, n. 2, p. 136-141, 2011.

MCENTEE, M. C.; PAGE, R. L. Feline vaccine-associated sarcomas. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n. 3, p. 176-182, 2001.

MILLER, D.; BARTGES, J.; CORNELIUS, L.; NORTON, N.; BARTON, M. Tumor necrosis factor- α levels in adipose tissue of lean and obese cats. *The Journal of Nutrition*, v. 128, n. 12, p. 2751S-2752S, 1998.

MIYARA, M.; SAKAGUCHI, S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends in Molecular Medicine*, v. 13, n. 3, p. 108-116, 2007.

MOORE, G.E.; HOGENESCH, H. Adverse vaccinal events in dogs and cats. *Veterinary Clinic of Small Animal*, v.40, p. 393 – 407, 2010.

MULLER, A.; HOMEY, B.; SOTO, H.; G. E.; N.; CATRON, D.; BUCHANAN, M. E.; MCCKANAHAN, T.; MURPHY, E.; YUAN, W.; WAGNER, S. N.; BARRERA, J. L.; MOHAR, A.; VERASTEGUI, E.; ZLOTNIK, A. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. **Nature**, v. 410, n. 6824, p. 50-56, 2001.

MUNDAY, J. S.; DACVPKATALIN, B.; BVSCDANIELLE, A.; ADRIENNE, F. Development of an injection site sarcoma shortly after meloxicam injection in an unvaccinated cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v 13, n. 12, p. 988-991, 2011.

MURDOCH, C. MUTHANA, M.; COFFELT, S. B.; LEWIS, C. E. The role of myeloid cells in the promotion of tumor angiogenesis. *Nature Reviews Cancer*, v. 8, n. 8, p. 618-631, 2008.

NAMBIAR PR, HAINES DM, ELLIS JA, KIDNEY BA, JACKSON ML. Mutation alanalysis of tumor suppressor genep53 in feline vaccine site-associated sarcomas. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 10, p. 1277-1281, 2000.

NAMBIAR, P. R.; JACKSON, M. L.; ELLIS, J. A.; CHELACK, B. J.; KIDNEY, B. A.; HAINES, D. M. Immunohistochemical detection of tumor suppressor genep53 protein in feline injection site-associated sarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 38, n. 2, p. 236-238, 2001.

NIETO, .A.; SÁNCHEZ, M. A.; MARTÍNEZ, E.; ROLLÁN, E. Immunohistochemical expression of p53, fibroblast growth factor-b, and transforming growth factor-alpha in feline vaccine-associated sarcomas. **Veterinary Pathology**, v 40, n. 6, p. 651-658, 2003.

NOËL, D.; DJOUAD, F.; BOUFFI, C.; MRUGALA, D.; JORGENSEN, C. Multipotent mesenchymal stromal cells and immune tolerance. **Leukemia & Limphoma**, v. 48, n. 7, p. 1283-1289, 2007.

NORTH, S.; BANKS, T. Sarcomas of the skin and subcutaneous tissue – Feline sarcomas. In: _____. **Small animal oncology an introduction**, Saunders Elsevier, 2009.

NOVOSAD, C. A. Principles of treatment for vaccine-associated sarcomas. **Clinical Technic Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 115-117, 2003.

OLGIVE, G. K.; MOORE, A. S. Vaccine associated sarcomas in cats. In: _____ **Managing the veterinary cancer patient**. Trenton N.J.: Veterinary Learning Systems, 1995. p. 515-518.

OLGIVE, G. K.; MOORE, A. S. Soft Tissue Sarcomas. In: _____. **Feline Oncology: a comprehensive guide to compassionate care**. Trenton N.J.: Veterinary Learning Systems, 2001.

PHELPS, H. A.; KUNTZ, C. A.; MILNER, R. J.; POWERS, B. E.; BACON, N. J. Radical excision with five-centimeter margins for treatment of feline injection-site sarcomas: 91 cases (1998-2002). **Journal of American Veterinary Medical Association** v. 239, n. 1, p. 97-106, 2011.

POIRIER, V. J.; THAMM, D. H.; KURZMAN, I. D.; JEGLUM, K. A.; CHUN, R.; OBRADOVICH, J. E.; O'BRIEN, M.; FRED, R. M.; PHILLIPS, B. S.; VAIL, D. M. Liposome-encapsulated doxorubicin (Doxil) and doxorubicin in the treatment of vaccine-associated sarcoma in cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 16, n. 6, p. 726-731, 2002.

POLLARD, J. W. Trophic macrophages in development and disease. *Nature Reviews Immunology* v. 9, n. 4, p. 259-270, 2009.

POWERS, B. E.; HOOPES, P. J.; EHRHART, E. J. Tumor diagnosis, grading, and staging. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.10, n. 3, p. 158-167, 1995.

QUINTIN-COLONNA, F.; DEVAUCHELLE, P.; FRADELIZI, D.; MOUROT, B.; FAURE, T.; KOURILSKY, P.; ROTH, C.; MEHTALI, M. Genethrapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. **GeneTherapy**, v. 3, n. 12, p. 1104-1112, 1996.

RASSNICK, K. M.; FRIMBERGER, A. E.; WOOD, C. A.; WILLIAMS, L. E.; COTTER, S. M.; MOORE, A. S. Evaluation of ifosfamide for treatment of various canine neoplasms. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, n. 3, p. 271-276, 2000.

REIMANN, M.; LEE, S.; LODDENKEMPER, C.; DORR, J.R.; TABOR, V.; AICHELE, P.; STEIN, H.; DORKEN, B.; JENUWEIN, T.; SCHMITT, C.A. Tumor stroma-derived TGF- β limits myc-driven lymphomagenesis via Suv39h1-dependent senescence. **Cancer Cell**, v. 17, n. 3, p. 262-272, 2010.

RODRIGUEZ, A.-M.; ELABD, C.; AMRI, EZ-Z.; AILHAUD, G.; DANI, C. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. **Biochimie**, v. 87, n.1, p.125-128, 2005.

ROMANELLI, G.; MARCONATO, L.; OLIVERO, D.; MASSARI, F.; ZINI, E. Analysis of prognostic factors associated with injection-site sarcomas in cats: 57 cases (2001-2007). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 8, p. 1193-1199, 2008.

SCHMIDT, T.; CARMELIET, P. Blood-vessel formation: bridges that guide and unite. **Nature**, v. 465, n. 7299, p. 697-699, 2010.

SHAW, S. C.; KENT, M. S.; GORDON, I. K.; COLLINS, C. J.; GREASBY, T. A.; BECKETT, L. A.; HAMMOND, G. M.; SKORUPSKI, K. A. Temporal changes in characteristics of injection-site sarcomas in cats: 392 cases (1990-2006). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 3, p. 376-380, 2009.

SHIELDS, J. D.; FLEURY, M. E.; YONG, C.; TOMEI, A. A.; RANDOLPH, G. J.; SWARTZ, M. A. Autologous chemotaxis as a mechanism of tumor cell homing to lymphatics via interstitial flow and autocrine CCR7 signaling. **Cancer Cell**, v. 11, n. 6, p. 526-538, 2007.

SLOTH, C. Practical management of obesity in dogs and cats. **Journal Small Animal Practice**, v. 33, n. 4, p.178-182, 1992.

SMITH, C. A.; Are we vaccinating too much? **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 207, p. 421-425, 1995.

SMITH, A. J.; NJAA, B. L.; LAMM, C. G. Immunohistochemical expression of c-KIT protein in feline soft tissue fibrosarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 5, p. 934-939, 2009.

STARR, R. M. Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force: a new model for problem solving in veterinary medicine. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 10, p.1428-1429, 1998. Vaccine-associated Feline Sarcoma Symposium.

SUN, T.; SUN, B. C.; NI, C. S.; ZHAO, X. L.; WANG, X. L.; QIE, S.; ZHANG, D. F.; GU, Q.; QI, H.; ZHAO, N. Pilot study on the interaction between B16 melanoma cell-line and bone-marrow derived mesenchymal stem cells. **Cancer Letters**, v. 1, n. 263, p. 35-43, 2008.

SZENTIMREY, D. Principles of reconstructive surgery for the tumor patient. **Clinical techniques in Small Animal Practice**, v. 13, n. 1, p. 70-76, 1998.

TABE, Y.; JIN, L.; TSUTSUMI-ISHII, Y.; XU, Y.; MCQUEEN, T.; PRIEBE, W.; MILLS, G. B.; OHSAKA, A.; NAGAOKA, I.; ANDREEFF, M.; KONOPLEVA, M. Activation of integrin-linked kinase is a critical prosurvival pathway induced in leukemic cells by bone marrow-derived stromal cells. **Cancer Research**, v. 2, n. 67, p. 684-694, 2007.

TENNANT, B. Feline injection-site fibrosarcomas: results of a BSAVA survey. **Journal of Small Animal Practice**, v. 4, n. 4, p. 181-182, 2000.

TRAYHURN, P.; BING, C. Appetite and energy balance signals from adipocytes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Science**, v.361, n.1471, p.1237-1249, 2006.

VACCINE-ASSOCIATED FELINE SARCOMA TASK FORCE. The current understanding and management of vaccine-associated sarcomas in cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 11, p.1821-1842, 2005.

VALTIERI, M.; SORRENTINO, A. The mesenchymal stromal cell contribution to homeostasis. **Journal of Cellular Physiology**, v. 217, p. 296-300, 2008.

VASCELLARI, E; MELCHIOTTI, M. A.; BOZZA, J. Fibrosarcomas at Presumed Sites of Injection in Dogs: Characteristics and Comparison with Non-vaccination Site Fibrosarcomas and Feline Post-vaccinal Fibrosarcomas. **Veterinary Medicine**, v. 50, n. 6, p. 286-291, 2003.

WANG, H.Y.; WANG, R. F. Regulatory T cells and cancer. **Current Opinion in Immunology**, v 19, n. 2, p. 217-223, 2007.

WANG, H.Y.; LEE, D.A.; PENG, G.; GUO, Z.; LI, Y.; KINIWA, Y.; SHEVACH, E.M.; WANG, R.F. Tumor-specific human CD4+ regulatory T cells and their ligands: implication for immunotherapy. **Immunity**, v. 20, n. 1, p. 107-118, 2004.

WILCOK, B.; WILCOK, A.; BOTTONS, K. Feline postvaccinal sarcoma: 20 years later. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 4, p. 430-434, 2012.

WILLIAMS, C. S.; MANN, M.; DUBOIS, R. N. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. **Oncogene**, v. 18, n. 55, p. 7908-7916, 1999.

WILLIAMS, L.; ZINGGELER, J.; KANJILAL, S. Field Cancerization. **Veterinary Cancer Society Newsletter**, v. 22, p. 8-9, 1998-1999.

WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G.; Small animal clinical oncology. Philadelphia: WB Saunders Company, Philadelphia, 2001.

ZIPIN-ROITMAN, A.; MESHEL, T.; SAGI-ASSIF, O.; SHALMON, B.; AVIVI, C.; PFEFFER, R. M.; WITZ, I.P.; BEN-BARUCH, A. CXCL10 promotes invasion-related properties in human colorectal carcinoma cells. **Cancer Research**, v. 67, n. 7, p. 3396-3405, 2007.

APÊNDICES

APENDICE

APÊNDICE A – Ilustração utilizada pela pesquisadora e apresentada aos proprietários de pacientes do grupo controle, para sugestão do ECC. Adaptada de LAFLAME, 1997

Nestlé PURINA

BODY CONDITION SYSTEM

TOO THIN	1	Ribs visible on shorthaired cats; no palpable fat; severe abdominal tuck; lumbar vertebrae and wings of ilia easily palpated.	1
	2	Ribs easily visible on shorthaired cats; lumbar vertebrae obvious with minimal muscle mass; pronounced abdominal tuck; no palpable fat.	
	3	Ribs easily palpable with minimal fat covering; lumbar vertebrae obvious; obvious waist behind ribs; minimal abdominal fat.	
	4	Ribs palpable with minimal fat covering; noticeable waist behind ribs; slight abdominal tuck; abdominal fat pad absent.	
IDEAL	5	Well-proportioned; observe waist behind ribs; ribs palpable with slight fat covering; abdominal fat pad minimal.	5
TOO HEAVY	6	Ribs palpable with slight excess fat covering; waist and abdominal fat pad distinguishable but not obvious; abdominal tuck absent.	6
	7	Ribs not easily palpated with moderate fat covering; waist poorly discernible; obvious rounding of abdomen; moderate abdominal fat pad.	
	8	Ribs not palpable with excess fat covering; waist absent; obvious rounding of abdomen with prominent abdominal fat pad; fat deposits present over lumbar area.	
	9	Ribs not palpable under heavy fat cover; heavy fat deposits over lumbar area, face and limbs; distention of abdomen with no waist; extensive abdominal fat deposits.	

Call 1-800-222-VETS (8387), weekdays, 8:00 a.m. to 4:30 p.m. CT

Nestlé PURINA

APÊNDICE B – Descrição dos pacientes e seus respectivos dados clínicos

Paciente	Número do Prontuário	Histopatológico	Recidiva	Raça	Gênero	Tratamento	Idade anos	Peso Kg	EEC	Sobrevida meses	Morte, Recidiva ou Metástases
1	039020 TICO	CITO SARCOMA	N	SRD	M	NDN	13	4,4	4	26	M
2	102374J HONNY	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	12	6	6	16	R
3	107217 RAUL	SARCOMA DE APLIC	N	SRD	M	IC+QXT	13	4,5	4	29	M
4	145527 NEGUINHO	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	14	4	4	7	M
5	157869 GABRIEL	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	9	5,6	6	8	R
6	160503 DUDUCA	FIBROSSARCOMA	N	SRD	F	IC	14	6,1	7	39	M
7	162655 KIKO	FIBROSSARCOMA	S	SRD	M	IC+QXT	3	4	4	x	X
8	163870 MIMI	CITO SUG SARCOMA	N	SRD	F	NDN	8	5,6	5	NI	NI
9	164082 LIV	CITO SUG SARCOMA	N	SRD	F	NDN	12	5	6	25	M
10	164772 PEPE	CITO SUG SARCOMA	N	SRD	F	NDN	10	4,6	4	X	X
11	168234 JUJU	CITO SUG SARCOMA	N	SRD	M	QXT	6	6,6	9	X	X
12	168623 RUSSINHO	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	NDN	13	4,2	6	4	M
13	169714 PAULISTANA	NEUROFIBROSSARCOMA	N	SRD	F	QXT+IC	9	5,3	7	9	M
14	170361 SANCHOPANÇA	FIBROSSARCOMA	S	SRD	M	IC+QXT	13	6,8	9	13	M
15	172566 TININHA	CITO SUG SARCOMA	N	SRD	F	NDN	9	4	4	8	M

SRD: sem raça definida; ECC: escore de condição corporal; Kg: Quilograma; IC: cirurgia; IC+QXT: cirurgia e quimioterapia; QXT: quimioterapia; QXT+IC: quimioterapia e cirurgia; F: fêmea; M: macho; S: sim; N: não; X: paciente ainda vivo; M: morte; R: recidiva; NI: não informado. Fonte: Carneiro, 2012.

Paciente	Número do Prontuário	Histopatológico	Recidiva	Raça	Gênero	Tratamento	Idade anos	Peso Kg	EEC	Sobrevida meses	Morte, Recidiva ou Metástases
16	174732 CHICO	SARCOMA POUCO DIFERENCIADO	N	SRD	M	IC	8	5,1	6	NI	NI
17	174792 LIVY	NEURO FIBROSSARCOMA	N	SRD	F	IC+QXT	8	3,4	4	23	MET
18	174961 CRISTAL	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	F	NDN	6	5,2	6	NI	NI
19	176991 FERRUGEM	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	10	4,8	7	NI	NI
20	179260 BATMAN	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	11	5,3	6	22	M
21	180043 FIFI	FIBROSSARCOMA	S	SRD	F	IC+QXT	10	6,8	8	8	M
22	181165 FELIX	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	QXT+IC	10	7,3	9	16	M
23	181942 BALU	FIBROSSARCOMA	N	SRD	F	NDN	10	4,2	5	3	M
24	181981 NENA	FIBROSSARCOMA	N	SIAMÊS	F	IC	5	5,5	6	NI	NI
25	182307 NEGUINHO	FIBROSSARCOMA	S	SRD	M	NDN	2	4,8	5	X	V
26	198306 MUSTAFA	CITOLOGIA SARCOMA	N	SIAMÊS	M	NDN	3	5,1	5	4 DIAS	M
27	199554 BARTOLOMEU	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC+QXT	2	7	9	39	M
28	200785 ZERLINA	FIBROSSARCOMA	N	SRD	F	IC	11	5,5	6	32	X
29	201533 PANQUECA	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	F	NDN	3	5,5	5	6	M
30	201626 NICOLE	FIBROSSARCOMA	N	SRD	F	IC	8	4,5	7	12	M

SRD: sem raça definida; ECC: escore de condição corporal; Kg: Quilograma; IC: cirurgia; IC+QXT: cirurgia e quimioterapia; QXT: quimioterapia; QXT+IC: quimioterapia e cirurgia; F: fêmea; M: macho; S: sim; N: não; X: paciente ainda vivo; M: morte; R: recidiva; MET: metástase; NI: não informado. Fonte: Carneiro, 2012.

Paciente	Número do Prontuário	Histopatológico	Recidiva	Raça	Gênero	Tratamento	Idade anos	Peso Kg	EEC	Sobrevida meses	Morte, Recidiva ou Metástases
31	202087 MINGAU	LIPOMA ATÍPICO	N	SRD	M	IC	10	8,6	9	39	X
32	202935 SPIKELEE	CITOLOGIA SARCOMA	N	SIAMÊS	M	NDN	16	3,1	4	4	M
33	205287 TANGIRICA	FIBROSSARCOMA	N	SRD	M	IC	14	5,8	9	11	R
34	205558 NANA	FIBROSSARCOMA	S	SRD	F	IC+QXT	9	4,7	6	X	X
35	206809 LECA	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	F	NDN	4	5,9	7	NI	NI
36	207625 TIBI	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	M	NDN	11	5	7	2	M
37	207634 LILI	FIBROSSARCOMA	S	SRD	F	IC	11	6,5	8	X	V
38	207824 PRETINHA	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	F	NDN	18	3	4	20DIAS	M
39	208057 TICO	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	M	NDN	13	6,1	7	6	M
40	208163 MIRRA	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	M	NDN	15	5,6	7	5	M
41	210621 KIKO	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	M	NDN	13	7,5	8	NI	NI
42	211013 BINKS	CITOLOGIA SARCOMA	N	SRD	M	NDN	7	6,3	8	NI	NI
43	211435 ISNAMEILA	FIBROSSARCOMA	S	SIAMÊS	F	QXT	9	6	6	21	M
44	211577 FREDERIQUE	FIBROSSARCOMA	S	SIAMÊS	M	QXT	8	4	5	NI	NI
45	211632 OLIVIA JADE	CITOLOGIA SARCOMA	S	SRD	F	NDN	9	4,7	6	NI	NI
46	217039 NINA	FIBROSSARCOMA	S	SRD	F	IC+QXT	7	5,5	6	X	X

SRD: sem raça definida; ECC: escore de condição corporal; Kg: Quilograma; IC: cirurgia; IC+QXT: cirurgia e quimioterapia; QXT: quimioterapia; F: fêmea; M: macho; S: sim; N: não; X: paciente ainda vivo; M: morte; R: recidiva; NI: não informado. Fonte: Carneiro, 2012.

APÊNDICE C – Caracterização da formação apresentada pelos pacientes

Paciente	Localização	Consistência	Superfície	Ulceração	Inserção	Alopecia	Aderida	Volume Clínico cm³
1	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	19,8
2	MP	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	N	1,0
3	IE-C	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	S	54,0
4	T-A	MACIA	IRREGULAR	S	SÉSSIL	N	S	64,0
5	IE-C	MACIA	IRREGULAR	S	SÉSSIL	S	S	192,0
6	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	1728,0
7	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	12,5
8	MP	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	N	0,1
9	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	3,4
10	MP	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	S	S	27,0
11	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	78,8
12	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	PEDUNCULADA	N	S	4,1
13	IE-C	MISTA	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	75,0
14	T-A	FIRME	LISA	N	PEDUNCULADA	N	S	5,8
15	IE-C	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	12,8
16	MP	FIRME	IRREGULAR	S	SÉSSIL	S	S	1000,0
17	T-A	FIRME	IRREGULAR	S	SÉSSIL	S	S	15,8
18	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	S	S	1,0
19	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	1,0
20	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	N	27,0
21	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	343,0
22	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	8,0
23	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	196,0
24	IE-C	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	1,0
25	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	64,0
26	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	27,0

T-A: toraco-abdominal; MP: membro pélvico; IE-C: interescapular-cervical; S: sim; N: não; X: paciente ainda vivo; M: morte; R: recidiva; Fonte: Carneiro, 2012.

Paciente	Localização	Consistência	Superfície	Ulceração	Inserção	Alopecia	Aderida	Volume Clínico cm³
27	T-A	MACIA	IRREGULAR	S	SÉSSIL	N	S	112,0
28	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	N	8,0
29	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	12,0
30	T-A	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	S	18,8
31	IE-Cr	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	N	8,0
32	T-A	MISTA	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	27,0
33	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	125,0
34	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	8,0
35	T-A	MACIA	IRREGULAR	S	SÉSSIL	S	S	350,0
36	T-A	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	S	S	600,0
37	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	S	S	6,8
38	T-A	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	S	S	1000,0
39	T-A	FIRME	IRREGULAR	S	SÉSSIL	S	S	250,0
40	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	343,0
41	T-A	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	N	1,0
42	T-A	MACIA	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	125,0
43	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	64,0
44	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	125,0
45	T-A	FIRME	LISA	N	SÉSSIL	N	S	216,0
46	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	125,0
31	IE-C	MACIA	LISA	N	SÉSSIL	N	N	8,0
32	T-A	MISTA	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	27,0
33	T-A	FIRME	IRREGULAR	N	SÉSSIL	N	S	125,0

T-A: toraco-abdominal; MP: membro pélvico; IE-C: interescapular-cervical; S: sim; N: não; X: paciente ainda vivo; M: morte; R: recidiva; Fonte: Carneiro, 2012.

APÊNDICE D

Caracterização do exame de tomografia computadorizada

Paciente	Aspecto	Atenuação	Realce	Liquefação Central	Invasão	Borrimento Gordura	Volume TC cm ³
1	HT	PM	HT	N	S	N	60
2	HT	PM	HT	S	S	N	1,15
3	HT	PM	HT	S	S	N	93,6
5	HT	PM	HT	S	S	N	140,3904
6	HT	PM	HT	S	S	N	355,6306
7	HT	PM	HT	S	N	S	25,012
9	HM	PM	HM	N	N	NI	14,784
11	HM	PM	HM	N	S	S	294
12	HT	PM	HT	S	S	N	185,22
13	HT	PM	HT	S	S	NI	185,6
14	HM	PM	HM	N	S	N	86,304
17	HT	PM	HT	S	S	S	42
19	HT	PM	HT	S	N	N	6,24
20	HM	PM	HM	N	N	NI	12
22	HT	PM	HT	N	N	N	49,14
23	HT	PM	HT	S	S	NI	277,2
24	HM	PM	HM	N	N	S	210
25	HT	PM	HT	S	S	N	188
27	HT	PM	HT	N	N	S	64
28	HT	PM	HT	S	S	N	11,9
30	HT	PM	HT	S	N	S	181,44
31	HM	PM	HM	N	N	S	6,25
33	HT	PM	HT	S	S	S	198,44
34	HM	PM	HT	S	N	N	12,716
35	HT	PM	HT	S	S	S	168,35
36	HT	PM	HT	S	S	N	648
37	HM	PM	HT	S	N	S	70,35
39	HT	PM	HT	S	S	S	566,15
40	HT	PM	HT	S	S	N	169,936
43	HT	PM	HT	N	S	N	255,75
44	HT	PM	HT	S	S	S	20,4
45	HT	PM	HT	S	S	NI	78,12
46	HT	PM	HT	S	S	S	175,56

HT: heterogêneo; HM: homogêneo; PM: partes-moles; S: sim; N: não; NI: não informado; TC: tomografia computadorizada;

Fonte: Carneiro (2012)