

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

Programa de Pós-Graduação em Veterinária



**Dissertação**

**Estudo da incidência, identificação e parâmetros prognósticos dos Hemangiomas e Hemangiossarcomas em animais de companhia**

**Michele Berselli**

Pelotas, 2011

**MICHELE BERSELLI**

**ESTUDO DA INCIDÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO E PARÂMETROS  
PROGNÓSTICOS DOS HEMANGIOMAS E HEMANGIOSSARCOMAS EM  
ANIMAIS DE COMPANHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Patologia Animal).

Orientadora: Cristina Gevehr Fernandes

Pelotas, 2011

**Dados de catalogação na fonte:**  
( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744 )

B535e Berselli, Michele

Estudo da incidência, identificação e parâmetros prognósticos dos hemangiomas e hemangiossarcomas em animais de companhia / Michele Berselli ; orientador Cristina Gevehr Fernandes.

Pelotas, 2011.-76f. : il.- Dissertação ( Mestrado em Patologia Animal) –Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Fatores prognósticos 2.Neoplasia  
3.Hemangioma 4.Hemangiossarcoma 5.Animais de

**Banca examinadora:**

Prof° Drª Cristina Gevehr Fernandes (Presidente)

Prof° Drª Fabiane Borelli Grecco

Prof° Drª Josiane Bonel Raposo

Prof° Drª Eliza Simone Viégas Sallis

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho em especial a minha família, pelo apoio e incentivo.

## **Agradecimentos**

Inicialmente da Deus pela incrível jornada da vida e por todas as realizações e crescimento conquistados nesta maravilhosa caminhada,

Aos meus pais Elias e Amabel e minha irmã gêmea Cristiane pelo carinho, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos e por acreditarem em mim,

Aos colegas de pós-graduação, Tainã Normanton Guim, Clairton Marcolongo, Pedro Quevedo e Lourdes Adrien por todos os momentos divididos,

À minha orientadora Cristina Gevehr Fernandes por me aceitar como orientada, pela amizade, pelos ensinamentos e por acreditar no meu potencial,

A professora Josiane Bonel Raposo pela amizade e incentivo,

Ao médicos veterinários do Laboratório Regional de Diagnóstico, Ana Lucia Schild e Mauro Pereira Soares, as professoras Fabiane Borelli Grecco, Eliza Simone Viegas e Margarida Buss Raffi pelos ensinamentos e apoio técnico e científico,

Ao professor Luiz Filipe Damé Schuch, pelo auxílio na parte estatística para a realização deste trabalho,

A equipe de profissionais técnicos do LRD, pelos momentos passados juntos,

Ao Hospital Veterinário da UFPel e clínicas veterinárias de Pelotas, pela cooperação na coleta de dados e envio de amostras,

A Universidade Federal de Pelotas e a Capes pela concessão da bolsa de estudos, possibilitando o crescimento profissional.

## **Resumo**

**BERSELLI, Michele, Estudo da incidência, identificação e parâmetros prognósticos dos hemangiomas e hemangiossarcomas em animais de companhia. 2011, 76p.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Tumores vasculares sanguíneos (hemangiomas e hemangiossarcomas) são neoplasmas comuns em caninos e felinos, no entanto sua freqüência de diagnóstico é menor que de outros neoplasmas e podem atingir a pele ou órgãos sistêmicos. O hemangioma é um neoplasma benigno, embora possa causar disfunção orgânica quando atinge órgãos sistêmicos. O hemangiossarcoma representa um problema sério, devido sua natureza maligna é considerado um dos sarcomas de tecidos moles de pior prognóstico causando morte súbita. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar a incidência, parâmetros prognósticos e o tempo e estimativa de sobrevida de animais de companhia portadores de hemangiomas e hemangiossarcomas. Foi realizado um levantamento dos casos de hemangiomas e hemangiossarcomas em cães e gatos diagnosticados no Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas, durante o período de 1998 a 2010. Foram recuperadas 53 amostras provenientes de biopsias e/ou necropsias. Do total de casos estudados, 20 animais portadores dos neoplasmas foram acompanhados durante um período de dois anos. Neste estudo, utilizaram-se os parâmetros histomorfológicos, invasividade, localização e tempo de sobrevida como critérios de avaliação prognóstica. Os parâmetros histológicos avaliados como: arranjo histológico, morfologia celular, índice mitótico, infiltrado linfoplasmacítico peritumoral, necrose, hemorragia e invasão para tecidos adjacentes foram confrontados com o grau histológico e com a sobrevida dos animais acometidos. Os neoplasmas atingiram a pele em 60% das amostras. Hemangiossarcomas foram bem mais freqüentes que hemangiomas. Quando os parâmetros histológicos foram confrontados, observou-se que a localização foi estatisticamente significativa quando comparada à morfologia ( $p= 0,0001$ ), assim como a quantidade de hemorragia ( $p=0,0001$ ) e invasão ( $p= 0,029$ ). Os demais parâmetros avaliados não mostraram relação com o grau histológico e/ou com a sobrevida, dessa forma, não são considerados fatores prognósticos preditivos. No presente estudo, a estimativa de sobrevida para animais portadores de hemangiomas e hemangiossarcomas cutâneos foi de 90,91% enquanto que para portadores de tumores sistêmicos foi de 41,67% em dois anos. A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a intensidade de invasão e localização são fatores prognósticos preditivos importantes para hemangiossarcomas em cães e gatos. Os demais parâmetros avaliados não mostraram relação com o grau histológico e/ou com a sobrevida, dessa forma, não são considerados fatores prognósticos preditivos. O tempo e a estimativa de sobrevida foram baixos para cães e gatos portadores de hemangiossarcomas viscerais e o prognóstico é, de um modo geral, desfavorável.

Palavras-chave: neoplasia, hemangioma, hemangiossarcoma, fatores prognósticos, animais de companhia, cães, gatos.

**BERSELLI, Michele Study of incidence, identification and prognostic parameters of hemangiomas and hemangiosarcomas in pets. 2011, 76p.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Blood vascular tumors (hemangioma and hemangiosarcomas) are common neoplasms in dogs and cats, although their frequency of diagnosis is lower than others neoplasms and may reach the skin or organ systems. The hemangioma is a benign, although it can cause organ dysfunction when reaching systemic organs. The hemangiosarcoma represents a serious problem, because their malignant nature is considered one of the soft tissue sarcomas of worse prognosis causing sudden death. In this sense, the objective was to identify the incidence, prognostic parameters and time and survival rate of pets suffering from hemangiomas and hemangiosarcomas. We conducted a survey of cases of hemangiomas and hemangiosarcomas in dogs and cats diagnosed at the Regional Diagnostic Laboratory, Federal University of Pelotas, during the period 1998 to 2010. We retrieved 53 samples from biopsies and/or necropsies. Of the total cases studied, 20 animals with neoplasms were monitored over a period of two years. In this study, we used histopathological parameters, invasion, survival time and location as criteria for assessing prognosis. Histological parameters were evaluated as histological arrangement, cell morphology, mitotic rate, peritumoral lymphoplasmocytic infiltrate, necrosis, hemorrhage, and invasion to adjacent tissues were compared with histological grade and survival of affected animals. The neoplasms affecting skin in 60% of samples. Hemangiosarcomas were much more common than hemangiomas. When histological parameters were compared, we observed that the location was statistically significant when compared to the morphology ( $p = 0.0001$ ), as well as the amount of bleeding ( $p = 0.0001$ ) and invasion ( $p = 0.029$ ). Other parameters showed no relation with the histologic grade and/or survival, thus, are not considered predictive prognostic factors. In this study, the survival rate for dogs with cutaneous hemangiomas and hemangiosarcomas was 90.91% while patients with systemic tumors was 41.67% in two years. From the results, we conclude that the intensity and location of invasion are important prognostic factors predictive for hemangiosarcomas in dogs and cats. Other parameters showed no relation with the histologic grade and/or survival, thus, are not considered predictive prognostic factors. The time and survival rate were lower for cats and dogs suffering from visceral hemangiosarcomas and the prognosis is generally unfavorable.

Key-words: neoplasms, hemangioma, hemangiosarcoma, prognostic factors, pets, dogs, cats.



## Lista de figuras

- Figura 1.** Aspecto macroscópico dos HSAs. **A e B)** Canino, pele; Lesão de aspecto nodular e avermelhada na pele glabra do abdômen. **C e D)** Canino, crânio; Nódulos metastáticos na musculatura cranial, após a abertura, observou-se metástase no cérebro (seta) **E)** Canino, pulmão; HSA disseminado. **F)** Canino, fígado; Múltiplos nódulos avermelhados e arredondados se protruindo da superfície hepática. **G)** Canino, baço; Grande HSA esplênico e vários nódulos avermelhados variando de 0,1 a 5 cm de diâmetro no mesentério (seta). **H)** Canino; HSA sistêmico disseminado e hemorragia cavitária (seta) .....34
- Figura 2.** Distribuição dos hemangiomas de acordo com a localização corpórea.....35
- Figura 3.** Distribuição dos Hemangiossarcomas de acordo com a localização corpórea .....36
- Figura 4.** **A)** Tecido cutâneo, cão; HSA moderadamente diferenciado, formando canais vasculares anastomosados contendo sangue. HE (Obj 20x). **B)** Tecido subcutâneo, pina, felino; HSA bem diferenciado formando canais vasculares bem definidos em meio a finas faixas de tecido conjuntivo (Obj 40x). **C)** Fígado, canino; Células endoteliais moderadamente diferenciadas arranjadas de forma sólida com uma grande área central contendo sangue, comprimindo os hepatócitos adjacentes (Obj 10x). **D)** Coração, canino; HSA apresentando dois tipos histológicos distintos, um arranjo de forma sólida e outra com um aspecto bem definido com espaços vasculares anastomosados contendo sangue (Obj 10x). **E)** Pulmão, canino; este HSA mestastático possui aspecto bem diferenciado, formando canais vasculares bem definidos, semelhante a um hemangioma (Obj 20x) **F)** Baço cão; HSA pobremente diferenciado, com células pleomórficas, apresentando áreas sólidas contendo hemorragia (Obj 20 x). .....38
- Figura 5** **A)** Células endoteliais fusiformes proliferadas em meio ao tecido estromal tumoral (setas), HE (Obj 10x). **B)** Pele, canino; HSA moderadamente diferenciado sustentado por faixas delicadas de tecido conjuntivo, TM (Obj 40x). **C)** Pele, canino; HSA subcutâneo invadindo

a epiderme superficial (setas) e destruição do tecido conjuntivo dérmico. Em meio a proliferação tumoral o estroma não é evidente, TM(Obj 10x) .**D)** HSA pouco diferenciado, apresentando células pleomórficas (setas) em meio ao estroma adjacente, TM (Obj 20x).....42

**Figura 6.** Imunomarcação pelo método Streptoavidina-biotina peroxidase, contracorante hematoxilina de Mayer. **A)** Pele, canino; Hemangioma cavernoso com forte marcação positiva para vimentina (Obj 10x). **B)** Pele, canino; HSA cutâneo com forte marcação positiva para vimentina, em contraste com as células epiteliais negativas (Obj 10x). **C)** Pele, canino; HSA cutâneo com forte marcação positiva para o fator de von Willebrand (Obj 40x). **D)** Tecido subcutâneo, felino. HSA apresentando forte marcação para vimentina. Observa-se a marcação de células vacuolizadas individuais (Obj 20x).....44

**Figura 7. A)** Baço, canino. HSA com moderada marcação para o fator de von Willebrand. Este tumor apresenta alto grau de malignidade (Obj 20x). **B)** Tecido subcutâneo, canino. HSA fortemente marcado para o fator de von Willebrand (Obj 20x). **C)** Baço, canino. HSA apresentando células endoteliais fusiformes com moderada marcação para o fator de von Willebrand (Obj 10x). **D)** Baço, canino. HSA tipo sólido com fraca marcação para o fator de von Willebrand, apenas algumas células individuais marcadas em contraste com a forte marcação vascular (setas), (Obj 40x). .....45

**Figura 8.** Curva geral de sobrevida de caninos portadores de hemangiomas e hemangiossarcomas não sistêmicos e sistêmicos. ....47

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Graduação histológica dos hemangiossarcomas baseado no tipo histológico, morfologia celular e índice mitótico.....	28
<b>Tabela 2.</b> Contagem de mitoses por campo de maior aumento.....	29
<b>Tabela 3.</b> Sumário da análise imunoistoquímica dos tumores vasculares caninos e felinos.....	46
<b>Tabela 4.</b> Sumário dos caninos acompanhados durante o estudo diagnosticados com hemangioma e hemangiossarcoma. ....	51

## Sumário

Resumo .....	6
Abstract .....	7
Lista de figuras .....	8
Lista de tabelas .....	10
Sumário .....	11
1 Introdução .....	13
2 Revisão de literatura.....	14
2.1 Caracterização clinica e patológica .....	16
2.2.1 Hemangioma.....	16
2.1.2 Hemangiossarcoma .....	17
2.2 Fatores prognósticos.....	19
2.2.1 Graduação histológica .....	20
2.2.2 Índice mitótico .....	21
2.2.3 Estroma.....	21
2.2.4 Invasão e metástase .....	22
2.3 Marcadores celulares .....	23
3 Material e métodos .....	26
3.1 Obtenção das amostras .....	26
3.2 Avaliação histopatológica.....	26
3.2.1 Hematoxilina-eosina (HE) .....	26
3.2.1.1 Graduação histológica .....	27
3.2.1.2 Tipo histológico (arranjo) .....	27
3.2.1.3 Morfologia celular.....	28
3.2.1.4 Índice mitótico .....	28
3.2.1.5 Invasão .....	29
3.2.1.6 Hemorragia .....	29
3.2.1.7 Trombo .....	29

3.2.1.8 Úlceração.....	29
3.2.1.9 Necrose .....	29
3.2.1.10 Infiltrado linfoplasmocítico peritumoral.....	30
3.2.2 Estroma .....	30
3.3 Avaliação imunoistoquímica.....	30
3.4 Localização corpórea .....	32
3.5 Avaliação de sobrevida .....	32
3.6 Análise estatística .....	32
4 Resultados .....	33
4.1 Avaliação histológica.....	36
4.1.1 Hematoxilina eosina (HE) .....	36
4.1.1.1 Graduação histológica .....	36
4.1.1.2 Arranjo histológico .....	36
4.1.1.3 Morfologia .....	39
4.1.1.4 Mitose .....	39
4.1.1.5 Invasão para tecidos adjacentes .....	40
4.1.1.6 Trombo .....	40
4.1.1.7 Úlcera .....	40
4.1.1.8 Necrose .....	40
4.1.1.9 Hemorragia.....	41
4.1.1.10 Infiltrado linfoplasmocítico peritumoral.....	41
4.2 Estroma.....	41
4.3 Avaliação imunoistoquímica.....	43
4.4 Localização corpórea .....	45
4.5 Avaliação de sobrevida .....	46
5 Discussão.....	50
6 Conclusão .....	57
Referências .....	68
Apêndices.....	64

## 1 Introdução

Tumores espontâneos das células endoteliais são comumente descritos em caninos, menos frequentemente em felinos e equinos, e esporadicamente nas demais espécies domésticas (WARREN e SUMMERS, 2007).

Hemangiomas são tumores benignos do endotélio vascular, comum em cães e raros em gatos. Em cães localiza-se principalmente na pele, língua, conjuntiva, baço, fígado, rins e medula espinhal, enquanto que nos gatos, são encontrados na pele, língua e conjuntiva (SCHONIGER et al., 2008).

O hemangiossarcoma (HSA) é um neoplasma maligno derivado da linhagem endotelial caracterizado por metástase precoces e agressivas (SILVEIRA, 2009). Embora seja o sarcoma de tecidos moles mais comum, representa menos de 2% do total de tumores caninos, e em felinos, essa taxa é ainda menor representando menos de 1,7% (CULP et al., 2008; SCHULTHEISS, 2004). Em humanos, HSAs representam apenas 1% a 2% dos sarcomas de tecidos moles (ANTONESCU et al., 2009).

Vários fatores prognósticos são importantes para prever o comportamento biológico de muitos neoplasmas, incluindo sarcomas de tecidos moles, como o tipo histológico e grau histológico, morfologia, índice mitótico, tamanho do tumor, localização, invasão e padrão das margens cirúrgicas. No entanto fatores prognósticos fidedignos ainda precisam ser estabelecidos em HSAs caninos e felinos (DENNIS et al., 2010, SILVEIRA, 2009; BERTAZZOLO et al., 2005)

Neste sentido, realizou-se um estudo retrospectivo e prospectivo de hemangiomas e HSAs cutâneos e viscerais em caninos e felinos, com o objetivo de determinar potenciais fatores prognósticos e estimar o tempo de sobrevivência de animais portadores desses neoplasmas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Hemangiomas e hemangiossarcomas (HSAs) são neoplasias de origem mesenquimal, provenientes de células endoteliais vasculares (BELLEI et al., 2004; COHEN et al., 2009; SCHULTHEISS, 2004; WARREN e SUMMERS, 2007). Os tumores endoteliais vasculares são mais comumente designados como angiomatose, hemangiomas e HSAs. São descritas variações morfológicas dos hemangiomas, tais como hemangioma cavernoso e capilar, infiltrativo, arteriovenoso, tipo tecido de granulação, de células fusiformes, dérmico solar induzido, angioqueratomas e angioliomas. Reconhecidas variantes de HSA incluem HSA solar induzido e HSA (histiocitóide) epitelióide (WARREN e SUMMERS, 2007). Na pele do cão o hemangioma é mais comum do que HSA.

Gatos desenvolvem hemangiossarcomas com menos frequência do que os cães e seus tumores geralmente não são viscerais (SCHULTHEISS, 2004). A frequência do HSA visceral felino é de apenas 0,04%, em contrapartida, os HSAs viscerais em caninos são neoplasmas altamente metastáticos que respondem por 2-7% de todas as neoplasias caninas (CULP et al., 2008; LOCKE e BARBER, 2006). Quando localizado na pele, sítio comum de neoplasia em felinos, os hemangiomas e HSAs atingem geralmente a pele inguinal ou do abdômen (MILLER et al., 1992).

Cães com hemangiomas são mais jovens do que aqueles com HSA. Os cães com HSA não visceral são, em média, um ano mais novos do que os com tumores viscerais. Qualquer tipo de HSA é raro em cães jovens (SCHULTHEISS, 2004).

O HSA que ocorre naturalmente em cães assemelha-se ao angiossarcoma humano (SABBATTINI e BETTINI, 2009). O angiossarcoma humano é um sarcoma raro de tecidos moles que pode surgir em uma

variedade de locais, incluindo fígado, baço, pele, mama e órgãos endócrinos. Entre esses tumores, subtipos específicos estão associados com uma variedade de fatores de risco, tais como a exposição ocupacional ao cloreto de vinil para o desenvolvimento de angiossarcoma hepático (COHEN et al., 2009; FOSMIRE et al., 2004), terapia de radiação para angiossarcoma mamário, infecção pelo HIV-1 no caso de sarcoma de Kaposi, e defeitos hereditários do gene supressor de tumor em angiossarcomas humanos e hemangiomas infantis. Exposição a radiação ionizante parece ser um fator de risco compartilhado para o desenvolvimento de HSA em cães (FOSMIRE et al., 2004). Da mesma forma, a possibilidade que a exposição à fumaça ambiental do tabaco podem contribuir para a patogênese do HSA canino deve ser cuidadosamente analisado, a nicotina tem demonstrado aumentar proliferação de células endoteliais primitivas em vários modelos de angiogênese. (FOSMIRE et al., 2004).

A proliferação e regressão das células endoteliais são rigidamente controladas por mecanismos fisiopatológicos sob várias condições de angiogênese. No entanto, nas células neoplásicas, o equilíbrio entre proliferação e morte celular é interrompido (MURAKAMI et al., 2008). Os eventos que ocorrem nos HSAs são muito semelhantes ao processo angiogênico no tecido normal. As células endoteliais neoplásicas exibem proliferação invasiva, formando fendas irregulares ou canais, tendo um comportamento semelhante as células endoteliais ativas angiogênicas e assim como na angiogênese ativa sofre influência de vários estímulos e fatores de crescimento (FOSMIRE et al., 2004).

Fatores de crescimento são um importante grupo de estímulos extracelulares, visto que eles desempenham papel essencial na regulação da proliferação celular, crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular embrionária durante toda a vida de um organismo. (HALPER, 2010; YONEMARU et al., 2006). São produzidos por praticamente todas as células do organismo possuem receptores específicos nas membranas e em alguns casos núcleos das células. Por estarem envolvidos na proliferação e crescimento celular, são também importantes promotores do crescimento tumoral (HALPER, 2010).



## 2.1 Caracterização clínica e patológica

### 2.1.1 Hemangioma

Embora os hemangiomas sejam considerados neoplasias benignas, acredita-se que transformação maligna possa ocorrer em alguns casos multicêntricos e nos tumores induzidos pelo sol. Há dúvidas quanto a isso, pois é mais provável que as neoplasias malignas iniciem como tal (SOUZA, 2005). Esses tumores podem se desenvolver em qualquer região corpórea, entretanto, são mais comuns na pele. Podem ser classificados em capilares ou cavernosos, dependendo do tamanho dos espaços vasculares, ou ainda como angiomatose cutânea (SILVA JUNIOR et al., 2008).

Os hemangiomas cavernosos são assim classificados pela formação de grandes canais vasculares com sangue. Quando localizados no fígado, se apresentam como nódulos circunscritos, múltiplos ou solitários, não sendo invasivos nem metastáticos. Entretanto, podem comprimir os hepatócitos adjacentes, ocasionando disfunção hepática progressiva (BORTOLUZZI et al., 2008).

A angiomatose cutânea é um hemangioma multinodular difuso com tecido conjuntivo estromal inflamatório que se estende acima da superfície dérmica e sangra espontaneamente, semelhante ao granuloma piogênico humano. (GINN et al., 2007; KIM et al., 2005).

Os tumores vasculares dérmicos podem ocorrer em qualquer lugar do corpo, mas parece haver uma predileção pelo abdômen ventral e inguinal de cães com a pele não pigmentada e pêlo curto (BELLEI et al., 2004; SOUZA, 2005; WARREN e SUMMERS, 2007). Usualmente são massas solitárias bem delimitadas, de formato oval a discóide variando de 0,5 a 4 cm. A pele elevada e alopecica de coloração avermelhada ou azulada e ulceração secundária é comum (LEE-GROSS et al., 1992).

O diagnóstico definitivo é obtido a partir de exame histopatológico. Faz-se necessária, portanto, biópsia ou excisão do tumor primário ou metastático. O diagnóstico por punção aspirativa por agulha fina é difícil, confirmando a necessidade da biópsia incisional ou a utilização de saca-bocado dérmico (FERRAZ et al., 2008).

Microscopicamente, hemangiomas se originam de células endoteliais e consistem de espaços vasculares cheios de sangue, arranjados em fileiras ou camadas simples de células endoteliais achatadas bem diferenciadas. As margens são bem demarcadas, mas não encapsuladas e não há recorrência após excisão cirúrgica completa (SILVA JUNIOR et al., 2008). Uma pequena porcentagem dos hemangiomas cavernosos tem amplos septos colagenosos resultando em maior componente estromal. Este frequentemente apresenta infiltrado de mastócitos, linfócitos e hemossiderose (HARGIS et al., 2002; LEE-GROSS et al., 1992).

### **2.1.2 Hemangiossarcoma**

O HSA é uma neoplasia maligna que pode atingir um único órgão, desenvolver metástases regionais ou distantes, ou ainda, apresentar-se sob a forma multicêntrica, atingindo principalmente o baço, ou ainda o átrio direito, tecido subcutâneo e fígado. Os HSAs viscerais correspondem a menos de 2% das amostras enviadas para exame histopatológico e nos casos de HSAs cutâneos (não viscerais) essa taxa é de apenas 1%, em comparação com os neoplasmas cutâneos. As informações a respeito do comportamento biológico dos HSAs são limitados (SCHULTHEISS, 2004). Sua causa ainda é desconhecida, embora cães levemente pigmentados e de pelagem esparsa, expostos à radiação solar crônica, possam apresentar maior risco de desenvolvimento da forma cutânea dessa neoplasia (BELLEI et al., 2004; FERRAZ et al., 2008; WARREN e SUMMERS, 2007).

Duas hipóteses podem ser formuladas sobre acerca da ontogênese do HSA. Uma afirma que o HSA origina-se a partir de células diferenciadas no revestimento endotelial dos vasos sanguíneos ou de células-tronco hemangioblásticas que sofrem mutações capazes de dotá-los de potencial maligno (LAMERATO-KOZICKI et al., 2006). Cohen et al. (2009), também sugere que os HSAs podem resultar não só da transformação das células endoteliais residentes do tecido e das células-tronco adultas recrutadas da medula óssea, mas possivelmente também a partir de sítios de hematopoiese extramedular, como no fígado e baço. HSAs ocorrem com maior frequência nos cães em comparação com todas as demais espécies, fato que ressalta a

importância de um estudo detalhado da doença neste grupo de animais. Acomete principalmente indivíduos com idade variando entre oito e treze anos. Seus sinais clínicos são inespecíficos e variam de acordo com a localização do tumor. Por ser altamente vascularizado, pode se disseminar rapidamente pelos vasos sanguíneos e linfáticos causando metástases em quase todos os tecidos, principalmente no pulmão (BORTOLUZZI et al., 2008). A manifestação mais grave do HSA é a morte súbita decorrente de hemorragias severas na cavidade torácica ou abdominal providas da ruptura do tumor (FERRAZ et al., 2008; FOSMIRE et al., 2004).

Histologicamente, o HSA é um tumor não encapsulado, mal demarcado e apresenta áreas difusas de hemorragia e necrose. O HSA pode apresentar morfologia heterogênea dentro da mesma massa neoplásica (BERTAZZOLO, et al., 2005; FOSMIRE et al., 2004). O tecido é composto por células endoteliais imaturas ovóides a fusiformes que se arranjam em camadas sólidas formando canais rudimentares tortuosos contendo hemácias. Esses espaços podem ser compostos de uma ou mais camadas de células endoteliais pleomórficas com núcleos hipercromáticos e citoplasma abundante. As células são invasivas para o parênquima adjacente (FOSMIRE et al., 2004). O HSA também pode ter um arranjo formando pequenos espaços vasculares e capilares, podendo ser difícil a diferenciação com os hemangiomas, além das formas predominantemente vacuolizadas. Nos HSA pobremente diferenciados as células neoplásicas se proliferam num padrão sólido, e a formação de luz vascular pode estar ausente (GÜLBAHAR et al., 1998; LEE-GROSS et al., 1992; WARREN e SUMMERS, 2007).

Além disso, tanto em seres humanos e cães, características epitelióides (foliáceas, tubulares, ou aninhadas, estes com padrões de crescimento com diferenciação vascular mínimo) também foram descritas (BERTAZZOLO et al., 2005). Estroma colagenoso pode estar ausente ou presente, de forma moderada a densa, e em algumas áreas pode formar finas faixas de colágeno delicado a denso (BERTAZZOLO et al., 2005; GÜLBAHAR et al., 1998; LEE-GROSS et al., 1992; WARREN e SUMMERS, 2007). Se a avaliação histopatológica não se mostrar suficiente, deve se recorrer ao exame imunoistoquímico. Amostras coradas para antígeno relacionado a fator VIII permitem identificação precisa de células endoteliais (MILLER et al., 1996;

VON-BEUST et al., 1988; WARREN e SUMMERS, 2007). Expressão de marcadores endoteliais selecionados com CD31, CD44 e CD117 também conferem alta precisão ao diagnóstico de HSA (FERRAZ et al., 2008; SABATTINI e BETTINI, 2009). No entanto, a imunomarcagem deve ser interpretada com o conhecimento das limitações do processo, em tumores pobremente diferenciados muitas vezes o antígeno não é expresso pela célula neoplásica (GINN et al, 2007).

## **2.2 Fatores Prognósticos**

Um fator prognóstico pode ser definido como sendo uma ou mais características clínicas, patológicas e biológicas dos indivíduos e de seus neoplasmas, que permitem prever a evolução clínica e o tempo de sobrevivência do paciente, sem que o mesmo tenha sido submetido a terapias adicionais e adjuvantes após a cirurgia inicial (ALLRED et al., 1998; CAVALCANTI; CASSALI, 2006). Para tanto, muitas informações podem ser obtidas através da definição de grupos de pacientes com um padrão distinto de sobrevivência (KURZMAN; GILBERTSON, 1986).

O exame histopatológico visa a identificação, classificação e prognóstico dos neoplasmas, correlacionando-o com o comportamento biológico da doença, baseado principalmente nas características morfológicas do tumor, incluindo o tamanho tumoral, status linfonodal, histologia e, mais recentemente, expressão de marcadores específicos associados ao curso clínico, fornecendo dessa forma informações para a terapia apropriada, (NAMBIAR et al., 2005; SPANGLER et al., 1994).

Nos sarcomas de tecidos moles vários fatores prognósticos e preditivos tem sido considerados, incluindo tipo histológico e grau histológico, tamanho do tumor, localização, tratamento prévio, invasão clínica evidente e padrão das margens cirúrgicas ( DENNIS et al., 2010; SILVEIRA, 2009).

Em humanos, os fatores prognósticos mais empregados em angiossarcomas são o tamanho do tumor, localização anatômica e invasão das margens cirúrgicas. Outros fatores citados são contagem mitótica, localização primária e idade do paciente (ALBORES-SAAVEDRA et al., 2010; BIEN et al.,

2010; PENEL et al., 2010). A graduação histológica parece ser importante somente nos HSAs de mama humanos (BERTAZZOLO et al., 2005).

No entanto, em veterinária, estudos referentes à fatores prognósticos específicos dos HSAs são escassos.

### **2.2.1 Graduação histológica**

A distinção entre hemangioma e HSA é baseada no grau de diferenciação histológica e extensão da invasão local no tecido. Esta distinção é de particular importância no que se refere ao comportamento biológico do tumor, crescimento específico e taxa de recorrência (PIRIE et al., 2006).

O grau de diferenciação histológica e de malignidade são critérios que se baseiam em parâmetros que incluem: o grau de diferenciação celular, celularidade tumoral, quantidade de estroma, presença de necrose, alterações no estroma colagenoso e índice mitótico (BERTAZZOLO et al., 2005; MCSPORRAN, 2009). Estudos anteriores sobre os demais sarcomas de tecidos moles de cães têm mostrado uma forte correlação entre grau histológico (com base no índice mitótico, grau de diferenciação, e necrose) e prognóstico (BERTAZZOLO et al., 2005, HELLER et al., 2005).

Em humanos, os HSAs são considerados tumores altamente agressivos, e o grau de diferenciação ou graduação não parece afetar a sobrevivência global, exceto nos casos de angiossarcomas de mama humano. Nos angiossarcomas mamários humanos, um sistema de classificação baseado no grau de diferenciação, pleomorfismo celular, hiper cromasia e índice mitótico tem sido proposto, dividindo mama como baixo grau (bem diferenciado), grau intermediário (moderadamente diferenciado), e de alto grau (pouco diferenciado) (BERTAZZOLO et al., 2005).

A graduação histológica é fortemente ligada ao prognóstico nos tumores mamários humanos. No entanto, um sistema de classificação semelhante para o hemangiossarcoma canino não tem sido descrita. Mais estudos são necessários para determinar se um sistema de classificação similar pode ser aplicada ao hemangiossarcoma canino e se a graduação é associado com o resultado (BERTAZZOLO et al., 2005; HELLER et al., 2005).

### **2.2.2 Índice Mitótico**

O índice mitótico é um parâmetro comumente empregado para avaliar crescimento tumoral. O índice mitótico das células tumorais também se correlaciona com a velocidade de proliferação celular, e tem sido relatado como um fator prognóstico significativo (SUZUKI et al., 2009).

Tem sido demonstrado que o índice mitótico é um forte preditor de resultados para uma variedade de cânceres humanos e caninos, incluindo o carcinoma da tireóide, carcinoma da mama, sarcomas, entre outros (ROMANSKY et al., 2007).

Contagem mitótica é o método mais comumente usado de avaliar a atividade proliferativa nos tumores humanos (MATHEUS et al., 2004; SUZUKI et al., 2009). O valor potencial do índice mitótico como parâmetro prognóstico tem sido questionado por diversos autores os quais obtiveram resultados variados (KARJALAINEN et al., 1998). Em humanos é um dos indicadores mais úteis para o prognóstico de carcinomas pouco diferenciados da tireóide e para o tumor estromal gastrointestinal. Além disso, diversos estudos indicam que o índice mitótico é um importante fator prognóstico para câncer de mama humano e, portanto, muitas vezes incluídos na determinação da graduação tumoral. Em medicina veterinária, é um importante fator preditivo em sarcomas de partes moles de cães, dos tumores de mama, bem como melanoma cutâneo (MACSPORRAN, 2009; ROMANSKY et al., 2007).

Por último, foi demonstrado que índice mitótico se correlaciona fortemente com outros parâmetros utilizados para avaliar proliferação celular em tumores sólidos de caninos e felinos, incluindo AgNOR, MIB1 e PCNA e Ki-67 (ROMANSKY et al., 2007).

### **2.2.3 Estroma**

Estroma tumoral é composto por tecido conjuntivo não neoplásico, vasos sanguíneos e células inflamatórias. Os componentes não celulares do estroma incluem colágeno tipo I, III e V, glicosaminoglicanas, proteoglicanas, fibronectina, fibrina e proteínas plasmáticas. Fibroblastos, células endoteliais e

células inflamatórias são o principal constituinte celular (CULLEN et al., 2002; LOUKOPOULOS et al., 2003; TAKEUCHI et al., 2010).

Inicialmente o estroma tumoral assemelha-se ao tecido de granulação, com alta densidade de vasos sanguíneos e pequeno número de fibroblastos. A permeabilidade persistente possibilita a passagem de macromoléculas, o que gera deposição perivascular de fibrina e esta serve como estrutura para migração do estroma hospedeiro e formação de estroma tumoral. O estroma produzido varia consideravelmente para diferentes neoplasmas (CULLEN et al., 2002).

Invasão e construção do estroma de células de tumoral maligna exige a destruição da membrana basal e proteólise da matriz extracelular. As metaloproteinases da matriz (MMPs) estão envolvidas na degradação e remodelação da matriz extracelular e na vascularização e MMP-1 é a única enzima capaz de iniciar o colapso dos colágenos intersticiais, tais como colágeno tipo I, II e III, as gelatinases em especial têm se mostrado capazes de degradar a membrana basal e os componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno não fibrilar tipo IV, tipo V, colágeno tipo VII, colágeno tipo X, elastina e fibronectina (LOUKOPOULOS et al., 2003; TAKEUCHI et al., 2010).

Estas enzimas são produzidas por uma variedade células e tecidos em condições fisiológicas e estão envolvidos em processos patológicos como a invasão tumoral e a metástase do câncer em modelos experimentais, em tumores humanos e de caninos (LOUKOPOULOS et al, 2003).

#### **2.2.4 Invasão e metástase**

Mudanças drásticas fenotípicas e bioquímicas ocorrem durante a metamorfose de uma célula normal em uma célula neoplásica invasiva. Estas alterações consistem de uma série de processos biológicos distintos e permitem a movimentação da célula tumoral do tumor primário para um local distante (LEBER e EFFERTH, 2009; STEEG, 2006). Durante a progressão de células tumorais para um fenótipo metastático, as células sofrem uma série de mudanças que começam com perda da adesão e aumento de mobilidade, e afetam a expressão de fatores de crescimento, a expressão gênica, ou a forma da célula, permitindo a migração do tumor do sítio primário, invasão de órgãos

distantes, e indução de neovascularização, resultando em metástases (YOSHIOKA et al., 2003; STEEG, 2006).

Vários oncogenes, genes supressores tumorais e genes supressores de metástase são conhecidos por afetar a capacidade de invasão e potencial metastático das células tumorais. As células da imunidade inata e adaptativa e células do estroma adjacente, também tem um papel fundamental na disseminação das células cancerosas (LEBER e EFFERTH, 2009; STEEG, 2006). Muitas destas alterações estão associadas a reorganização da actina e dinâmica ativação de vias de sinalização através de receptores transmembrana e receptores de tirosinaquinase, receptor de quimiocinas e transformação do receptor de crescimento. Em associação com as moléculas de adesão celulares da membrana plasmática, afetam as interações célula-célula e célula-substrato via integrinas transmembrana associados a matriz extracelular (YOSHIOKA, et al., 2003). Normalmente, a quimiotaxia das células endoteliais é impulsionada pelos fatores de crescimento como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e o fator de crescimento fibroblástico básico (BFGF), enquanto haptotaxia está associado ao aumento da migração de células endoteliais ativadas em resposta a integrinas vinculadas a matriz extracelular (MEC) (LAMALICE et al., 2007). As células tumorais podem invadir o tecido circundante do tumor primário, introduzir-se em vasos linfáticos ou sanguíneos, sobreviver e eventualmente, extravasar em um tecido e crescer no novo local (STEEG, 2006).

### **2.3 Marcadores celulares**

Marcadores celulares específicos para células endoteliais têm sido usados em estudos imunohistoquímicos para auxiliar no diagnóstico e caracterização dos hemangiomas e HSAs.

Vimentina é uma proteína de filamento intermediário que é parte do citoesqueleto das células mesenquimais é amplamente expressa no citoplasma de células endoteliais neoplásicas e não neoplásicas (SABATTINI e BETTINI, 2009). Tumores endoteliais vasculares caninos e felinos não expressam outros filamentos intermediários como os neoplasmas humanos (MILLER et al., 1992).



Entretanto, o Fator de Von Willebrand (Fator VIII) e CD31 podem distinguir os tumores endoteliais pouco diferenciados de outros tumores mesenquimais (SABATTINI e BETTINI, 2009).

O Fator de Von Willebrand é uma glicoproteína que faz parte do complexo fator VIII/fator Von Willebrand presente no plasma e desempenha papel importante na coagulação sanguínea e função plaquetária (FERRER et al., 1995; VON-BEUST et al., 1988). Este fator é sintetizado por células endoteliais e megacariócitos e está presente em plaquetas. É um marcador confiável para células endoteliais não só nas células normais como reativas, mas também em células endoteliais neoplásicas. Alguns HSAs pobremente diferenciados podem ser negativos para o fator de Von Willebrand, a marcação positiva confirma o diagnóstico, mas um resultado negativo não o exclui definitivamente (AUGUSTIN-VOSS et al., 1990; FERRER et al., 1995; MILLER et al., 1992; VON-BEUST et al., 1988). Acredita-se que células atípicas podem não produzir o antígeno específico ou produzir um antígeno modificado o qual não será reconhecido pelo anticorpo primário. Outras possíveis explicações estão na má conservação e destruição do antígeno por autólise ou fixação inadequada (VON-BEUST et al., 1988).

O antígeno CD31 é uma glicoproteína expressa apenas por células endoteliais, plaquetas e macrófagos e participa da adesão plaquetária. No homem é considerado um marcador útil para células endoteliais, porque é constantemente expressa em todos os tipos de células endoteliais, e a expressão se mantém nas neoplasias com origem endotelial (FERRER et al., 1995).

A molécula CD117 é um receptor de tirosina-quinase codificado pelo gene c-kit e seu ligante é o fator de células-tronco envolvido no desenvolvimento e manutenção das células-tronco, mastócitos, células germinativas e melanócitos. Mutações na tirosina quinase ou domínios do gene c-kit tem sido detectados nos mastocitomas, seminomas, tumores estromais gastrointestinais e HSAs (MIETTINEN et al., 2000; SABATTINI e BETTINI, 2009). Em humanos, o CD 117 é expresso em mais da metade dos HSAs, mas não tem sido detectado em tumores vasculares benignos (MIETTINEN et al., 2000).

Fosmire, et al. (2004), sugere que no baço a expressão de CD117 (c-Kit) pode oferecer uma maneira sensível para distinguir hematoma esplênico

canino (negativo) de hemangiossarcoma (positiva), pois o CD117 não é expresso em células endoteliais adultas, somente em células imaturas como as células-tronco hematopoéticas e células mais primitivas derivadas hematopoéticas.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Obtenção das amostras**

No período de janeiro de 1998 a setembro de 2010 foram registrados 85 casos de tumores de origem endotelial vascular, dentre estes para a realização deste estudo, foram resgatados dos arquivos 53 casos, dos quais, oito casos de Hemangiomas e 45 casos de HSAs, provenientes de biopsias ou necropsias, de cães e gatos dos municípios de abrangência do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel).

Foram excluídos do estudo casos cujas amostras não foram localizadas (seções histológicas, material embocado ou formolinizado), materiais mal conservados e autolíticos.

Foram acompanhados para a avaliação da estimativa e do tempo de sobrevivência 20 animais portadores dos neoplasmas. Os casos em que não foi possível contato com o proprietário ou veterinário responsável, foram excluídos do estudo.

### **3.2 Avaliação histopatológica**

#### **3.2.1 Hematoxilina-eosina (HE)**

A partir do material incluído em parafina, foram obtidos cortes de 3 $\mu$ m, os quais foram montados em lâminas histológicas. Estas foram coradas com hematoxilina-eosina e avaliadas através de microscopia de luz. As amostras foram categorizadas conforme o sistema de classificação preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

### 3.2.1.1 Graduação Histológica

Foram atribuídos os seguintes graus histológicos para os HSAs: bem diferenciados (Grau I), moderadamente diferenciados (grau II) e pouco diferenciados (Grau III). Os critérios utilizados para determinar o grau histológico foram: o tipo histológico, morfologia celular e nuclear e índice mitótico. Através da soma dos escores obteve-se o grau histológico dos HSAs conforme a tabela.

**Tabela 1.** Graduação histológica dos hemangiossarcomas baseado no tipo histológico, morfologia celular e índice mitótico:

	escores		
	1	2	3
<b>Tipo histológico</b>	Espaços vasculares anastomosados	Tumores com arranjos mistos	Tumor sólido ou vacuolizado
<b>Morfologia celular</b>	Bem diferenciado	Moderada variação no tamanho e forma nuclear	Acentuada variação, pleomórficos
<b>Mitoses</b>	Ausente, baixo	moderado	acentuado
<b>Soma dos escores</b>	<b>Graduação histológica</b>		
<b>3-5</b>	<b>I</b>		
<b>6-7</b>	<b>II</b>		
<b>8-9</b>	<b>III</b>		

### 3.2.1.2 Tipo histológico (Arranjo)

O arranjo celular dos hemangiomas e HSAs foram agrupados conforme o padrão predominante do tumor em: Espaços vasculares bem definidos (EVB),

Espaços vasculares irregulares (EVI), Sólido (S), Capilar (CAP), Cavernoso (CAV) e Vacuolizado (VAC) e combinações entre eles (COMB).

### 3.2.1.3 Morfologia celular

De acordo com a morfologia celular, os tumores foram categorizados em 4 grupos distintos como: Mínima variação no tamanho e forma nuclear, células bem diferenciadas (1); Moderada variação no tamanho e forma nuclear (2); Marcada variação no tamanho e forma nuclear, tamanho nuclear muitas vezes diferindo entre duas ou mais células tumorais (3); Pleomorfismo celular e nuclear, células indiferenciadas (4). Os casos em que não era possível discernir o grau de diferenciação celular não foram avaliados (NA).

### 3.2.1.4 Índice mitótico

Para avaliação do índice mitótico, as amostras foram avaliadas em microscópio de luz marca Olympus, modelo BX-41, com ocular de 10x e objetiva de 40x de aumento. A área do campo de visão foi calculada através da equação:  $\text{área} = \pi \times r^2$ , onde  $\pi = 3,14$  e  $r = 0,5 \times \text{diâmetro}$ . O diâmetro do campo obtido através de régua histológica foi de 0,55mm, gerando um campo de visão de 0,237 mm<sup>2</sup>

O índice mitótico dos HSAs foi obtido através da contagem de mitoses em cinco campos aleatórios de grande aumento (cga; 400x). O número de mitoses de cada campo foi somado e dividido por cinco resultando na média de mitoses/campo. As mitoses foram classificadas quanto a intensidade, conforme a tabela (tabela 2).

**Tabela 2.** Contagem de mitoses por campo de maior aumento:

Escores	0	I	II	III
Contagem (5xcga)	ausente	1-3	3-5	>6

Foram excluídas da análise as áreas ulceradas, hemorrágicas, necróticas ou autolíticas, nas quais a morfologia celular e as figuras mitóticas não eram nítidas e aquelas em que a área do corte histológico era insuficiente para a contagem de cinco campos.

#### **3.2.1.5 Invasão**

Os hemangiomas e HSAs foram classificados quanto à magnitude da invasão tecidual em Discreto, Moderado e Acentuado.

#### **3.2.1.6 Hemorragia**

A hemorragia foi classificada como presente ou ausente nas amostras analisadas.

#### **3.2.1.7 Trombo**

A presença de trombos foi quantificada como ausente (0), presente em menos de 25% do tumor (1), presente em menos de 50% do tumor (2) e presente em mais de 50% do tumor (3).

#### **3.2.1.8 Ulceração**

Ulceração foi avaliada somente nos tumores de pele como ausente ou presente.

#### **3.2.1.9 Necrose**

A presença de necrose nos cortes histológicos foi assim caracterizada: sem necrose (0), pouca necrose (1), necrose moderada (menos de 50%) ou áreas multifocais de necrose (2) e área extensa de necrose, quando mais de 50% do tumor apresentava necrose (3).

### **3.2.1.10 Infiltrado linfoplasmocítico peritumoral**

O infiltrado linfoplasmocítico foi classificado de acordo com a intensidade como: ausente (0); presente, tumoral (1); presente extra-tumoral (2); presente tumoral e extra tumoral (3). Para avaliação foram selecionadas áreas representativas do corte histológico, em meio às áreas de proliferação endotelial e na periferia tumoral. Áreas ulceradas e necróticas não foram incluídas na avaliação.

### **3.2.2. Estroma**

Através da técnica histoquímica com Tricrômico de Masson foi possível quantificar o tecido conjuntivo como: nenhum estroma colagenoso (0); Faixas de colágeno delicado (1); Faixas de colágeno denso (2); Trabecular, muito tecido colagenoso (3).

Cortes de 3µm de espessura foram obtidos de cada um dos hemangiomas e hemangiossarcomas, e após desparafinados, foram lavados em água corrente por 5 minutos, posteriormente imersos em líquido de Bouin e aquecidos a 56° C por uma hora. Os cortes refixados foram lavados em água corrente até desaparecer a cor do fixador de Bouin. Posteriormente foram lavados em água destilada.

Após, os cortes foram corados com Hematoxilina férrica de Harris, lavadas em água da torneira e água destilada e coradas pela Fucsina Ácida-escarlate de Biebrich. Foram então submetidos à lavagem para retirada do excesso de corante e tratados pelo ácido fosfotúngstico-ácido-fosfolíbdico. Sem lavagem, foram corados pelo azul de anilina-acética, lavados em água destilada e após em solução de ácido acético 1% e em água destilada. Foram então desidratadas e montadas.

## **3.3 Avaliação imunoistoquímica**

Dois marcadores foram utilizados, a vimentina e o fator de Von Willebrand em 20 casos representativos selecionados para avaliação através da técnica de imunoistoquímica.

A intensidade de marcação foi categorizada como: sem marcação (0); marcação fraca (1); marcação moderada (2); forte marcação (3).

O método de imunistoquímica usado foi o complexo streptoavidina-biotina-peroxidase.

Cortes de 3  $\mu\text{m}$  de espessura foram montados em lâminas positivadas. No momento da reação, as lâminas foram deixadas em estufa a 80°C por 10 minutos. A desparafinização e a reidratação foram feitas em baterias de xilóis e álcoois em concentrações decrescentes. Após lavagem em água e água destilada, receberam tratamento com peróxido de hidrogênio (2,4%) para bloqueio da peroxidase endógena, duas vezes durante 10 minutos.

Para a recuperação antigênica, os espécimes receberam tratamento em microondas por 10 minutos em solução de tampão tris EDTA (pH 9).

Depois de resfriados, foram incubados com solução de clara de ovo para bloqueio da biotina endógena por 15 minutos. Em seguida, foram lavados em água e água destilada e incubados com solução de leite em pó por mais 30 minutos pra bloqueio da avidina endógena. Posteriormente as laminas foram novamente lavadas em água e água destilada e incubadas em estufa por 2 horas a 37°C com o anticorpo primário em câmara úmida e coberta. Os anticorpos primários utilizados foram o anticorpo policlonal anti-Vimentina na diluição de 1:100, 1:150 e 1:300 e o anticorpo policlonal anti-fator VIII (Fator de von Willebrand) na diluição de 1:1000.

Para detecção do anticorpo primário foi utilizado o kit LSAB (Sistema de Detecção Ultra Estreptavidina Universal, DakoCytomation, Ref. K0690), utilizou-se LSAB gotas marelas (Aticorpo secundário + biotina) por 30 minutos, lavados duas vezes por 5 minutos com PBST e LSAB gotas vermelhas (treptoavidina-HRP) por 30 minutos e lavados mais duas vezes com PBST. Após cada um dos tratamentos recebidos, as lâminas foram lavadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 7,2, três vezes por cinco minutos cada.

As reações foram reveladas pelo substrato cromogênico 3,3 diaminobenzidina, e contracorados pela hematoxilina de Harris por um minuto, e então lavados em água corrente.



A desidratação dos cortes foi feita em gradiente crescente de álcoois e xilóis, seguidas pela montagem em lamínula em meio permanente bálsamo do Canadá.

Como controle negativo, os anticorpos primários anti-vimentina e anti-fator VIII foram substituídos por tampão PBS.

### **3.4 Localização corpórea**

Quanto à localização dos hemangiomas e HSAs, estes foram categorizados em quatro grupos distintos: (1) restritos a pele, (2) restritos a um órgão, (3) mais de um órgão e (4) pele e órgãos.

### **3.5 Avaliação de sobrevida**

Para a avaliação de sobrevida os animais selecionados foram acompanhados através de contato telefônico com o proprietário e/ou contato com o veterinário que atendeu o animal. Foram acompanhados 20 animais, todos caninos e submetidos a procedimento cirúrgico. Os proprietários eram interrogados a cada 2 meses a respeito do estado geral do animal, aparecimento de recidivas e metástases, durante o tempo mínimo de 6 meses até 2 anos após o diagnóstico.

Se algum dos animais acompanhados vinha a óbito durante o tempo de acompanhamento, o proprietário era questionado a respeito das condições da morte do animal, se as causas eram ou não relacionadas ao tumor, quais os sinais clínicos antes da morte e se foi realizado eutanásia.

### **3.6 Análise estatística**

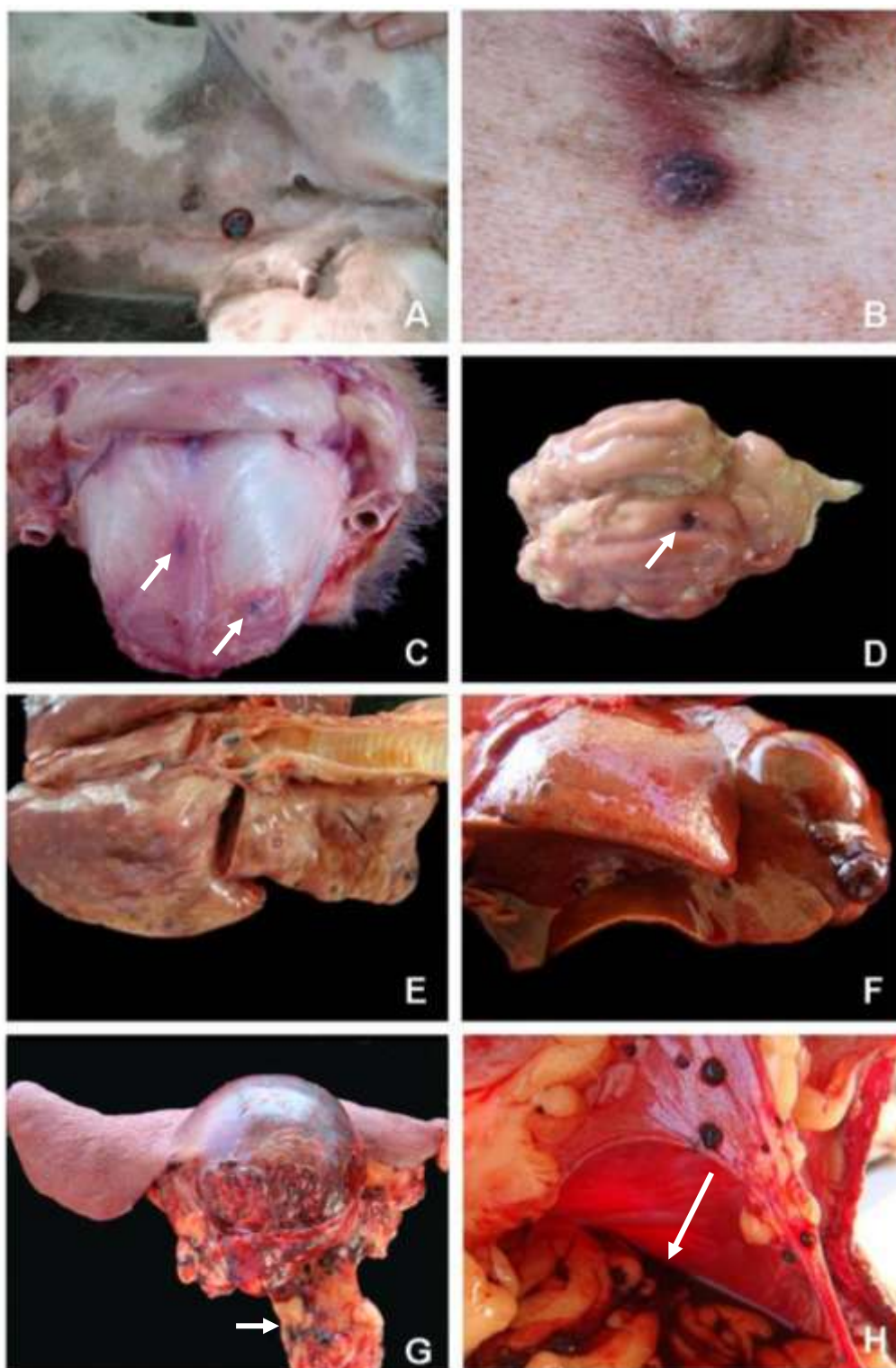
Para a análise estatística os dados foram comparados entre si. Para tal, foi utilizado o teste Qui-quadrado para as variáveis hemorragia e localização e o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis necrose, invasão, infiltrado inflamatório, índice mitótico, morfologia e estroma, sendo considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ . A curva de sobrevida foi obtida através das estimativas de Kaplan-Meier.

## 4 RESULTADOS

Dos 53 casos obtidos dos arquivos do LRD, 15,1% (n=8) eram hemangiomas e 84,9% (n=45) HSAs.

Quanto às espécies, houve uma frequência de 96,2% (n=51) de caninos e 3,8% (n=2) de felinos. Dentre as raças caninas acometidas, 19,6% (10/51) eram de raça mista, e 64,7% (33/51) de raça pura, não foram informadas as raças de 15,7% (8/51) animais. Dentre os animais de raça pura, 15,1% (5/33) eram Fila Brasileiro, 12,2% (4/33) eram Labradores, 12,2% (4/33) eram Pit bulls, 9,1% (3/33) eram Boxers, 9,1% (3/33) eram Pastores Alemães, 6,1% (2/33) eram Daschunds, 6,1% (2/33) eram Dogue Alemães, 6,1% (2/33) eram Dogo Argentinos, e os demais eram 3% (1/33) Poodle, 3% (1/33) Cocker spainel, 3% (1/33) Pointer, 3% (1/33) Beagle, 3% (1/33) Collie, 3% (1/33) Golden Retriver, 3% (1/33) Basset Hound e 3% (1/33) Rottweiler.

Macroscopicamente, observaram-se lesões proliferativas com aspecto avermelhado ou azulado, achatados ou protruindo do órgão atingido com ou sem hemorragia e em alguns casos as lesões tinham aspecto friável e outros esbranquiçadas e sólidas, atingindo a pele e órgãos sistêmicos (Figura 1). Também foram encontrados lesões na cavidade oral e nasal, mama, vagina e prepúcio.



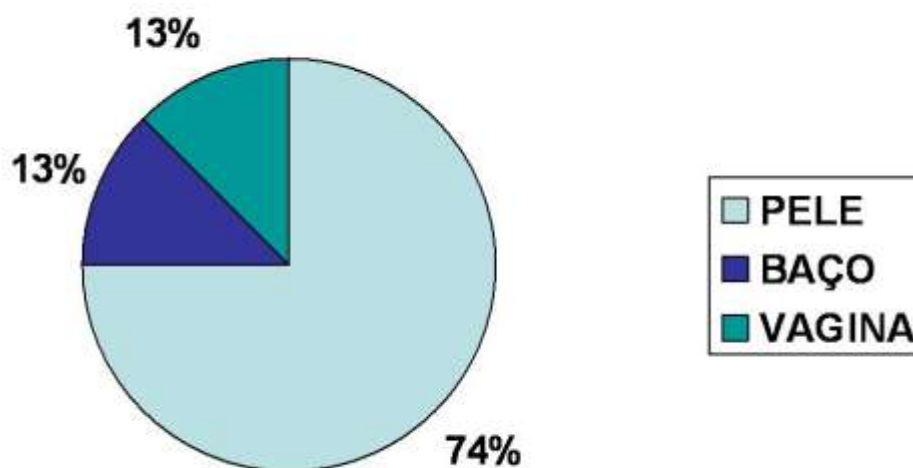
**Figura 1.** Aspecto macroscópico dos HSAs. **A e B)** Canino, pele; Lesão de aspecto nodular e avermelhada na pele glabra do abdômen. **C e D)** Canino, crânio; Nódulos metastáticos na musculatura cranial, após a abertura, observou-se metástase no cérebro (seta) **E)** Canino, pulmão; HSA disseminado. **F)** Canino, fígado; Múltiplos nódulos avermelhados e arredondados se protruindo da superfície hepática. **G)** Canino, baço; Grande HSA esplênico e vários nódulos avermelhados variando de 0,1 a 5 cm de diâmetro no mesentério (seta). **H)** Canino; HSA sistêmico disseminado e hemorragia cavitária (seta).

Na pele as lesões estavam presentes em locais de pigmentação clara e pelos esparsos tais como: região abdominal, ponta da orelha, cabeça (escalpo), cervical, e membros. Nos hemangiossarcomas cutâneos a presença de úlceras foi frequente.

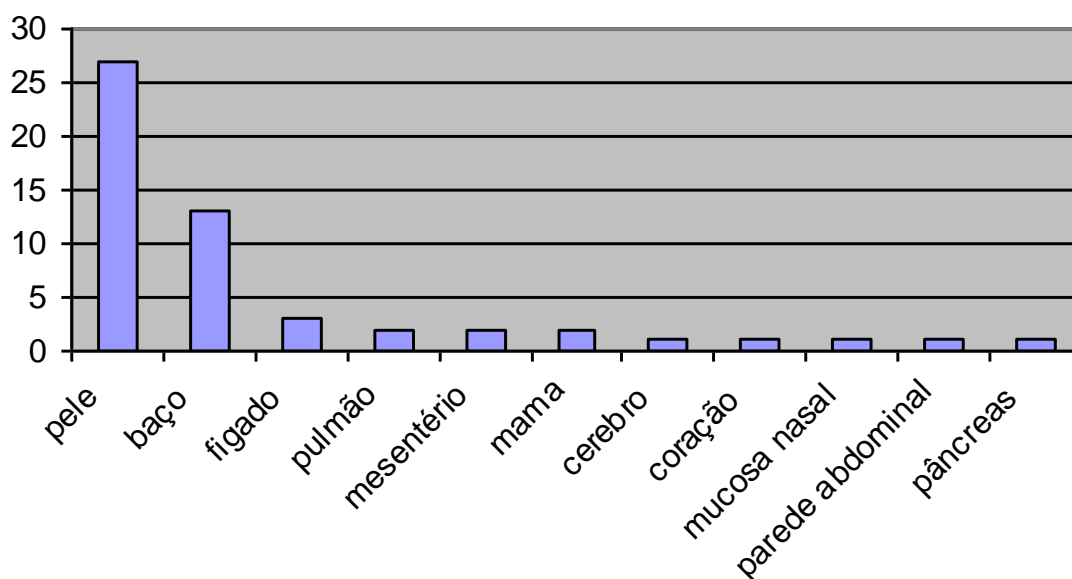
Dos hemangiomas, 74% (n=6) dos casos estavam localizados na pele, 13% (n=1) no baço e 13% (n=1) na vagina. Todos eram localizados e restritos a um único sítio primário (Figura 2).

Dos 45 casos de hemangiossarcomas, 40 casos se tratavam de biópsias e 5 foram achados de necropsia. Deste total, 60% (n=27) se localizavam exclusivamente na pele, 28,9% (n=13) em um único órgão, 8,9% (n=4) atingiram mais de um órgão sistêmico e 2,2% (n=1) atingiu pele e órgãos sistêmicos. Dos 45 casos de HSAs, obteve-se 54 amostras, pois alguns animais apresentaram múltiplos tumores, atingindo pele e diferentes órgãos. Cada órgão foi avaliado separadamente (Figura 3).

Nos HSAs sistêmicos, as lesões foram observadas no baço, fígado, pulmões, coração, mesentério, peritônio, pâncreas, serosas do intestino, cérebro, musculatura esquelética e testículos. Nos casos de animais com múltiplos nódulos, não foi possível determinar a natureza metastática ou multicêntrica da doença.



**Figura 2.** Distribuição dos hemangiomas de acordo com a localização corpórea.



**Figura 3.** Distribuição dos Hemangiossarcomas de acordo com a localização corpórea.

#### 4.1. Avaliação histopatológica

##### 4.1.1 Hematoxilina-eosina (HE)

Os hemangiomas eram constituídos por células endoteliais achatadas bem diferenciadas, com espaços vasculares cheios de sangue, arranjadas em fileiras ou camadas simples. As margens eram bem demarcadas, com presença de tecido conjuntivo. Alguns hemangiomas cavernosos apresentaram septos colagenosos.

Os HSAs cutâneos apresentaram diferentes tipos histológicos, constituído predominantemente de espaços vasculares irregulares, muitas vezes com um arranjo heterogêneo com áreas sólidas e vacuolizadas. Alguns HSAs apresentaram grandes áreas de estroma conjuntivo no tecido cutâneo, e invadindo o subcutâneo. Áreas de ulcera podiam ser vistas e infiltrado inflamatório polimorfonuclear. Alguns tumores cutâneos apresentaram áreas multifocais de hemorragia e hiperqueratose.

Os HSAs sistêmicos apresentaram áreas constituídas predominantemente de espaços vasculares irregulares anastomosados, composta por células endoteliais imaturas ovóides a fusiformes que se arranjam em camadas de uma ou mais células endoteliais formando canais rudimentares tortuosos

contendo hemácias. Também apresentou áreas formando pequenos espaços vasculares e capilares além das formas predominantemente vacuolizadas. Os hemangiossarcomas pobremente diferenciados as células neoplásicas se proliferam de forma sólida, e a formação de luz vascular estava ausente. Presença de hemorragia e formação de trombos foi observado, assim como grandes áreas de necrose, principalmente no baço.

#### **4.1.1.1 Graduação histológica**

Para a graduação histológica dos HSAs, foram quantificados 29 amostras e verificou-se que 58,6% (17/29) eram grau I, 34,5% (10/29) grau II e 6,9% (2/29) grau III. Não foram avaliadas 25 amostras.

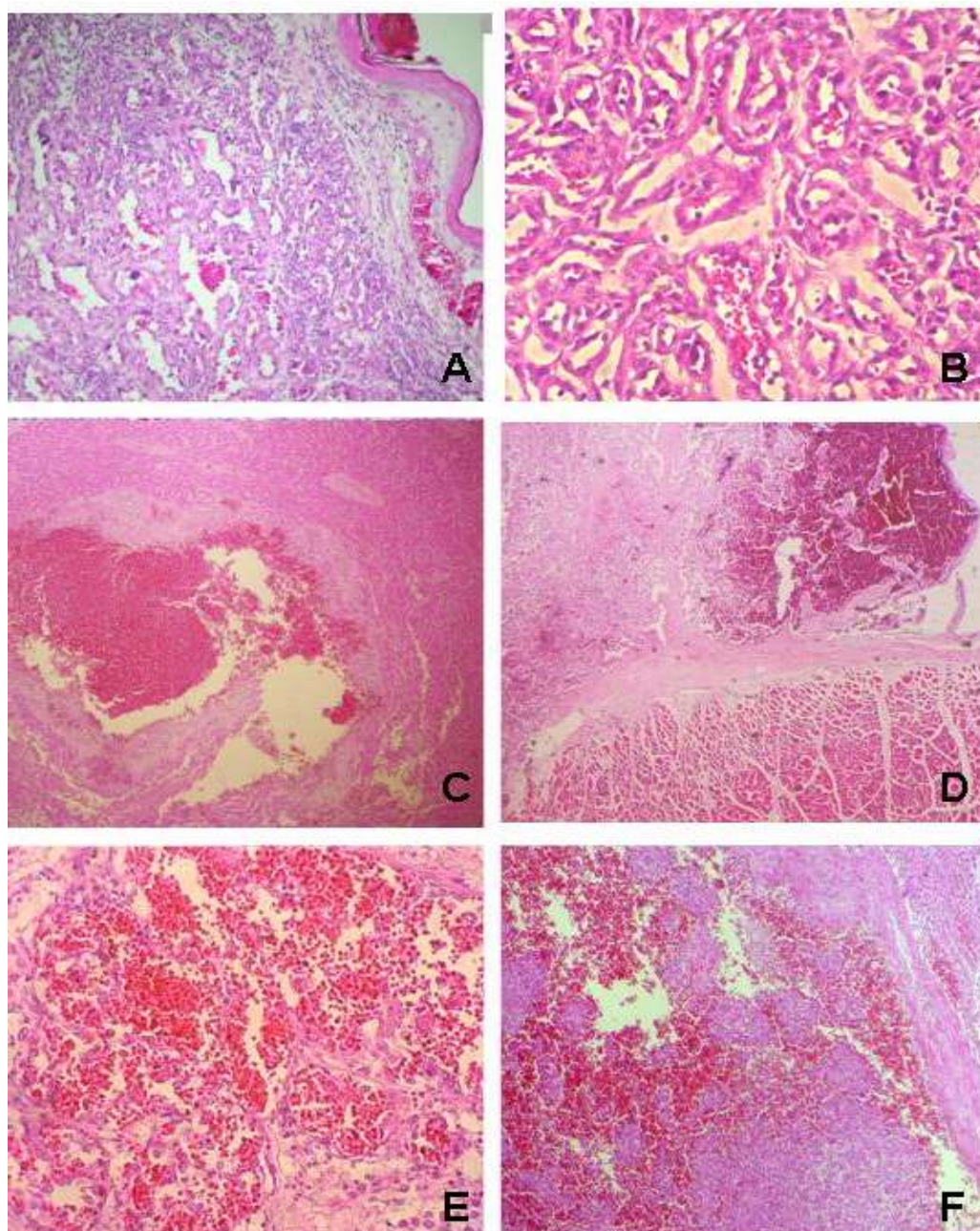
#### **4.1.1.2 Arranjo Histológico**

Quanto ao arranjo, observou-se que em 50% (n=4) dos hemangiomas o padrão dominante foi cavernoso, 37,5% (n=3) apresentavam espaços vasculares bem definidos e 12,5% (n=1) apresentou os dois tipos de arranjo.

Dos 45 casos de HSAs obteve-se 54 amostras, onde o arranjo dominante dos HSAs foi a formação de espaços vasculares irregulares e anastomosados em 48,1% (26/54) dos casos, sendo que 9,2% (5/54) apresentaram arranjo predominantemente sólido, 1,9% (1/54) dos casos apresentou somente áreas de células vacuolizadas contendo hemácias no seu interior. Também foi observado que 27,8% (15/54) dos casos apresentaram arranjo misto. Não foram avaliados 13% (7/54) casos (Figura 4).

Dentre os que apresentaram padrão misto, 53,3% (8/15) apresentou como arranjos predominantes áreas de formação vascular irregular contendo sangue no seu interior com áreas predominantemente sólidas, 40% (6/15) apresentou como arranjos predominantes áreas de formação vascular irregular contendo sangue no seu interior com áreas predominantemente vacuolizadas e 6,7% (1/15) eram sólidos entremeados de áreas de células vacuolizadas.

Nos casos em que havia mais de um órgão acometido, não houve diferença no arranjo histológico predominante em cada um dos diferentes órgãos.



**Figura 4.** **A)** Tecido cutâneo, cão; HSA moderadamente diferenciado, formando canais vasculares anastomosados contendo sangue. HE (Obj 20x). **B)** Tecido subcutâneo, pina, felino; HSA bem diferenciado formando canais vasculares bem definidos em meio a finas faixas de tecido conjuntivo (Obj 40x). **C)** Fígado, canino; Células endoteliais moderadamente diferenciadas arranjadas de forma sólida com uma grande área central contendo sangue, comprimindo os hepatócitos adjacentes (Obj 10x). **D)** Coração, canino; HSA apresentando dois tipos histológicos distintos, um arranjo de forma sólida e outra com um aspecto bem definido com espaços vasculares anastomosados contendo sangue (Obj 10x). **E)** Pulmão, canino; este HSA metastático possui aspecto bem diferenciado, formando canais vasculares bem definidos, semelhante a um hemangioma (Obj 20x) **F)** Baço cão; HSA pobremente diferenciado, com células pleomórficas, apresentando áreas sólidas contendo hemorragia (Obj 20 x).

#### 4.1.1.3 Morfologia

Quanto à morfologia, os hemangiomas por se tratarem de neoplasmas benignos, apresentaram células bem diferenciadas com mínima variação no tamanho e forma nuclear, entretanto, pode ser observado que 5,5% (3/54) das amostras de HSA apresentaram uma morfologia bem diferenciada semelhante aos hemangiomas.

Apresentaram moderada variação no tamanho e forma nuclear 61% (33/54) HSAs, 22,2% (12/54) apresentaram marcada variação no tamanho e forma nuclear e 3,7% (2/54) apresentaram pleomorfismo celular e nuclear. Não foram avaliadas 4 amostras. Não houve diferença na morfologia tumoral nos casos onde mais de um órgão atingido.

#### 4.1.1.4 Mitose

As figuras de mitoses foram identificadas como estruturas cuja ausência de membrana nuclear era óbvia, e havia presença de cromatina condensada, estando evidentes as fases de metáfase, anáfase ou telófase. Do total de 54 amostras de hemangiossarcomas, somente 30 foram quantificadas quanto ao índice mitótico independente da localização. A partir da análise da contagem mitótica, verificou-se que 53,3% (16/30) das amostras apresentaram baixo índice mitótico, seguido de moderado com 30% (9/30) e 16,7% (5/30) alto.

Quando avaliados quanto à localização corpórea, o índice mitótico das amostras de pele, 50% (10/20) apresentaram baixo índice mitótico, seguido de 30% (6/20) com moderado e 20% (4/20) alto índice mitótico.

Dos órgão únicos atingidos, 50% (3/6) apresentaram baixo índice mitótico, seguido de 33,3% (2/6) com moderado índice mitótico e 16,7% (1/6) com alto índice mitótico.

Dos animais com múltiplos tumores sistêmicos, os órgãos apresentaram baixo índice mitótico em 75% (3/4) dos órgão avaliados, seguido de 25%(1/4) com moderado índice mitótico.



#### **4.1.1.5 Invasão para tecidos adjacentes**

Em relação à invasão, observou-se que em 50% (n=4) dos hemangiomas a invasão foi discreta e em 37,5% (n=3) moderada e em 12,5% (n=1) foi acentuada.

Com relação aos HSA a invasão foi acentuada e em 42,6% (n=23) dos casos, moderada em 35,2% (n=19) dos casos e em 3,7% (n=2) a invasão foi discreta. Não foram avaliados 18,5% (n=10) amostras. A presença de células neoplasias individuais ou coletivas estava presente no lúmen dos espaços vasculares neoplásicos, em meio ao estroma, e em alguns casos na derme superficial e profunda. A invasão foi considerada estatisticamente significativa quando comparada à morfologia ( $p= 0,029$ ).

#### **4.1.1.6 Trombo**

Nos HSA não foi observada trombose em 53,7% (n=29) dos casos. Por outro lado, estava presente em pequena quantidade em áreas de formação de vascular em 16,6% (n=9) dos casos, com um ou dois trombos observados, presença de trombose de forma moderada em 7,4% (n=4) dos casos onde havia trombos em até metade dos espaços vasculares avaliados da amostra, e apenas 1,9% (n=1) caso apresentou trombose em mais de 50% da amostra. Não foram avaliados 20,4% (n=11) amostras. Foi observado trombo em apenas um caso de hemangioma.

#### **4.1.1.7 Úlcera**

Nos hemangiomas e HSAs de pele, a presença de úlcera foi de 16,6% (1/6) e 26 % (7/ 27) respectivamente.

#### **4.1.1.8 Necrose**

Do total de 13 amostras de HSAs esplênicos a presença de necrose foi de 30,7% (4/13). Outros órgãos não apresentaram áreas de necrose.

#### **4.1.1.9 Hemorragia**

Houve presença de hemorragia evidente em 8 amostras histológicas, 12,5% (1/8) em hemangioma e 13 % (7/54) em hemangiossarcomas, independente de sua localização anatômica. Não foram avaliadas 7 amostras de hemangiossarcoma.

#### **4.1.1.10 Infiltrado inflamatório linfoplasmacítico**

Dos hemangiomas, havia presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocítico peritumoral em 62,5% (n=5) dos casos, 25% (n=2) com infiltrado inflamatório não associado ao tumor e 12,5% (n=1) caso não apresentou evidências de infiltrado inflamatório.

Do total de 54 órgãos avaliados, observou-se que em 16,7% dos hemangiossarcomas (9/54) havia presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocítico peritumoral, 24,1% (13/54) com infiltrado inflamatório não associado ao tumor, com vários graus de intensidade, 13% (7/54) apresentou ambos, 22,2% (12/54) sem evidência de células inflamatórias. Não foram avaliados 13 casos.

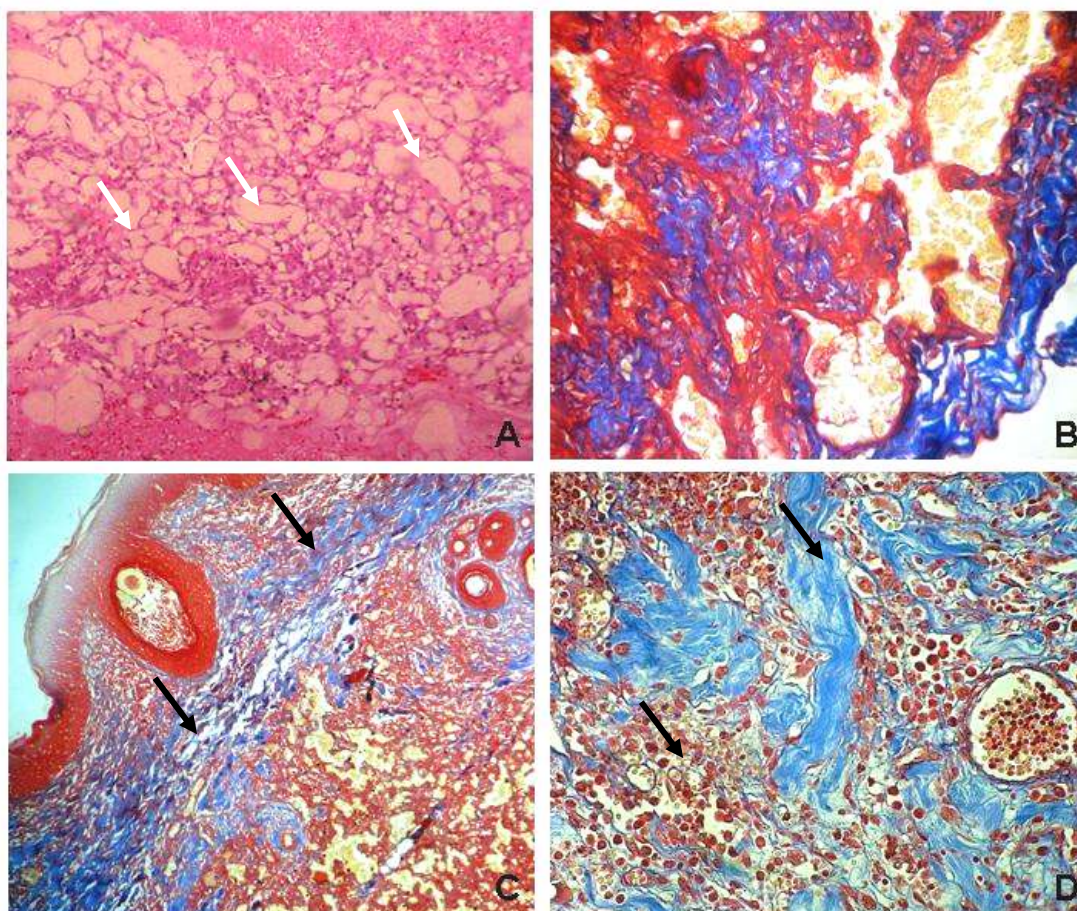
O infiltrado inflamatório não apresentou diferença estatística significativa com a localização ( $p=0,8$ ) e morfologia ( $p=0,5$ ).

## **4.2 Estroma**

Das amostras de hemangioma, os que estavam localizados na pele apresentaram 66,6% (4/6) apresentou estroma delicado, 16,6% (1/6) apresentou estroma pouco evidente e 16,7% (1/6) faixas de colágeno denso. Das amostras localizadas em um único órgão apenas uma foi avaliada e apresentou estroma delicado e fino em meio as células neoplásicas proliferadas.

Os HSAs foram avaliados de acordo com a localização e pode ser observado que 33,3% (9/27) dos HSAs de pele apresentaram faixas delicadas de estroma seguido de 29,6% (8/27) com áreas predominantemente celulares sem estroma evidente, 14,8% (4/27) apresentaram faixas de colágeno denso e

11,1% (3/27) eram trabeculares (Figura 5). Não foram avaliados 3 amostras de pele.



**Figura 5.** **A)** Células endoteliais fusiformes proliferadas em meio ao tecido estromal tumoral (setas), HE (Obj 10x). **B)** Pele, canino; HSA moderadamente diferenciado sustentado por faixas delicadas de tecido conjuntivo, TM (Obj 40x). **C)** Pele, canino; HSA subcutâneo invadindo a epiderme superficial (setas) e destruição do tecido conjuntivo dérmico. Em meio a proliferação tumoral o estroma não é evidente, TM(Obj 10x) .**D)** HSA pouco diferenciado, apresentando células pleomórficas (setas) em meio ao estroma adjacente, TM (Obj 20x).

Com relação aos HSAs restritos a um órgão, 46,1% (6/13) não possuíam nenhum estroma, 23,1% (3/13) apresentou faixas delicadas de colágeno e 7,7% (1/13) apresentaram faixas de colágeno denso. Nenhum apresentou trabéculas colagenosas. Não foram avaliados 3 casos.

Dos casos sistêmicos, 38,5% (5/13) dos órgãos apresentaram nenhum estroma colagenoso e 23,1% (3/13) apresentou faixas delicadas de colágeno. Este resultado foi semelhante ao observado dos casos de HSA restrito a um

único órgão. Também observou-se que houve pouca diferença entre a quantidade de estroma nos diferentes órgãos atingidos de um mesmo animal. Não foram avaliadas 5 amostras. O estroma não foi estatisticamente significativo quando comparado à invasão ( $P=0,352$ ).

### 4.3 Imunoistoquímica

Dos 20 casos analisados, 16 eram HSAs e quatro hemangiomas de pele.

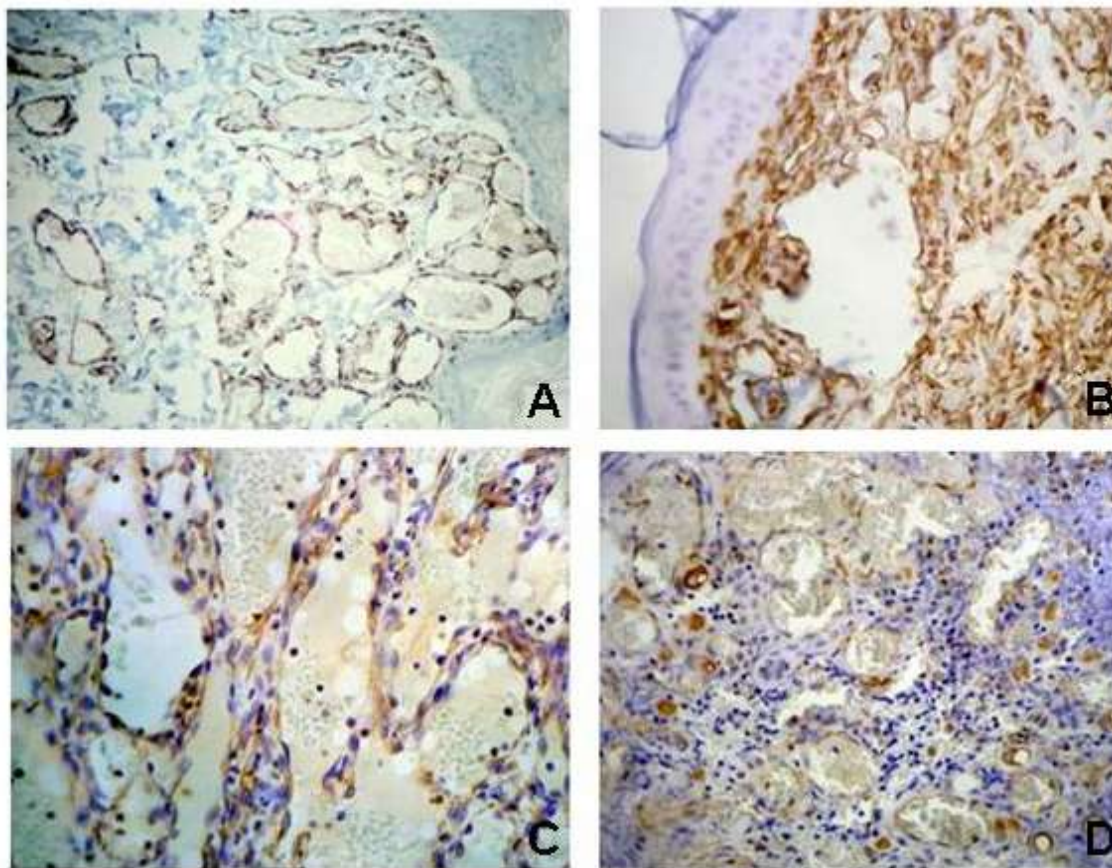
Das amostras de HSAs foram selecionados 11 HSAs de pele, quatro HSAs esplênicos, dois HSAs de mama, um HSA de coração, um HSA de pulmão e um HSA de pâncreas.

Todas as células tumorais de hemangiosarcoma apresentaram forte e difusa expressão citoplasmática de vimentina, enquanto que houve maior expressão variável do fator de von Willebrand (FvW), este variando de fraco a forte (Figura 6 e 7). As células neoplásicas dos hemangiomas foram fortemente marcadas por anticorpos específicos para vimentina em todas as amostras. Alta expressão de FvW seguido de baixa a moderada expressão (Tabela 3).

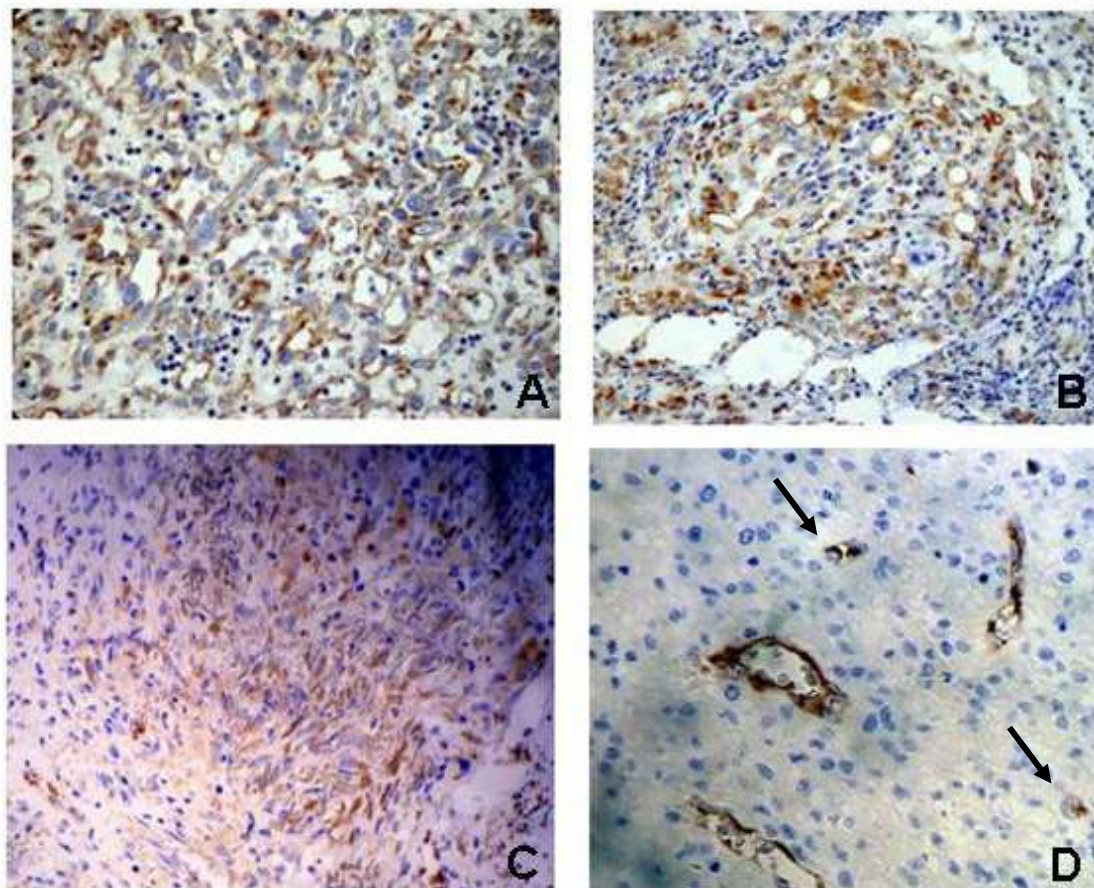
**Tabela 3.** Sumário da análise imunohistoquímica dos tumores vasculares caninos e felinos.

Marcador	Hemangiomas				Hemangiossarcomas			
	Escore de positivos (% positivos total)				Escore de positivos (% positivos total)			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Vimentina	0/4	0/4	2/4 (50%)	2/4 (50%)	0/16	1/16 (6,3%)	3/16 (18,7%)	12/16 (75%)
vFW	0/4	1/4 (25%)	1/4 (25%)	2/4 (50%)	3/16 (18,7%)	5/16 (31,3%)	2/16 (12,5%)	6/16 (37,5%)

0: sem marcação; 1: marcação fraca; 2: marcação moderada; 3: forte marcação.



**Figura 6.** Imunomarcção pelo método Streptoavidina-biotina peroxidase, contracorante hematoxilina de Mayer. **A)** Pele, canino; Hemangioma cavernoso com forte marcação positiva para vimentina (Obj 10x). **B)** Pele, canino; HSA cutâneo com forte marcação positiva para vimentina, em contraste com as células epiteliais negativas (Obj 10x). **C)** Pele, canino; HSA cutâneo com forte marcação positiva para o fator de von Willebrand (Obj 40x). **D)** Tecido subcutâneo, felino. HSA apresentando forte marcação para vimentina. Observa-se a marcação de células vacuolizadas individuais (Obj 20x).



**Figura 7.** **A)** Baço, canino. HSA com moderada marcação para o fator de von Willebrand. Este tumor apresenta alto grau de malignidade (Obj 20x). **B)** Tecido subcutâneo, canino. HSA fortemente marcado para o fator de von Willebrand (Obj 20x). **C)** Baço, canino. HSA apresentando células endoteliais fusiformes com moderada marcação para o fator de von Willebrand (Obj 10x). **D)** Baço, canino. HSA tipo sólido com fraca marcação para o fator de von Willebrand, apenas algumas células individuais marcadas em contraste com a forte marcação vascular (setas), (Obj 40x).

#### 4.4 Localização corpórea

Quanto à localização dos hemangiomas 75% (6/8) estão na pele e 25% (2/8) em órgão localizado.

Os HSAs, 60% (27/45) dos casos eram restritos a pele, 28,8% (13/45) restritos a um órgão, 8,8% (4/45) atingiu mais de um órgão e apenas 2,2% (1/45) atingiu pele e órgãos.

A localização foi estatisticamente significativa quando comparado à morfologia ( $p= 0,0001$ ), assim como a quantidade de hemorragia ( $p=0,0001$ ). Houve uma quantidade maior de hemorragia nos neoplasmas de pele.

#### **4.5 Avaliação da sobrevida**

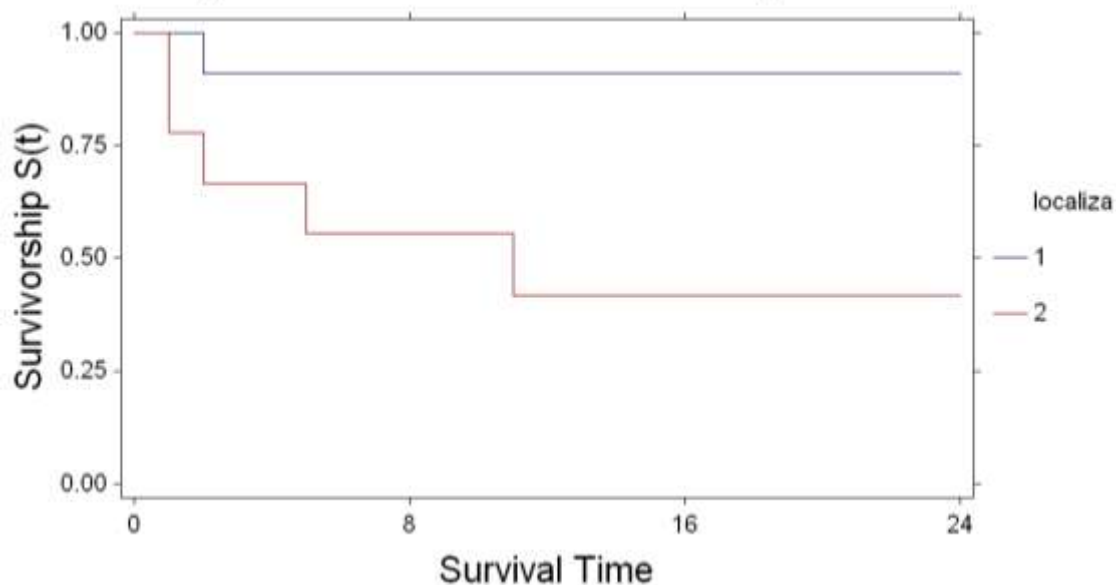
Durante os 2 anos deste estudo foram acompanhados 20 cães, destes, 5 casos de hemangioma e 15 casos de hemangiossarcoma (tabela 4).

Destes, seis cães eram de raça mista (SRD), e 14 animais de raça pura. Com relação a idade, variou de 2 a 12 anos com média de 8 anos para hemangiomas e de 6 a 15 anos para hemangiossarcomas com média de 8,4 anos. Houve um predomínio de fêmeas em relação a machos. Dos 11 animais com neoplasmas de pele, 54,5% (6/11) eram reconhecidamente de pelagem curta, e destes 45,4% (5/11) eram de coloração clara. O restante não foi informado.

Quinze dos animais acompanhados tiveram tempo de sobrevida de pelo menos 6 meses e apenas quatro animais puderam ser acompanhados por 24 meses e não tiveram sinais de recidiva durante este período.

Dos seis animais que morreram, cinco tiveram a cirurgia como único tratamento, as mortes ocorreram em até 6 meses do aparecimento dos tumores, apenas um animal sobreviveu por mais tempo, pois além da cirurgia, recebeu tratamento quimioterápico.

Destes animais que vieram à óbito, dois morreram por complicações relacionadas ao tumor e um foi eutanasiado devido o tumor. Dois animais morreram por causa desconhecida pouco após o diagnóstico e um morreu devido à insuficiência cardíaca congestiva, não relacionado ao tumor. A estimativa de sobrevida esperada para 24 meses foi de 79,17% independente da localização corpórea, no entanto, a estimativa do tempo de sobrevida de animais portadores de neoplasma cutâneo foi de 90,91% comparados com os caninos com neoplasmas sistêmicos que foi de apenas 41,67% (Figura 8).



**Figura 8.** Curva geral de sobrevivência de caninos portadores de hemangiomas e hemangiossarcomas não sistêmicos e sistêmicos.

Não houve recorrência dos hemangiomas após a cirurgia e estes estavam localizados na região cervical, membros e vulva.

Dos cães com HSA, sete casos eram restritos a pele, e destes não houve recorrência após 6 meses no local cirúrgico, e atingiam a região da cabeça (escalpo), cervical, lombar, pele abdominal, prepúcio, escroto e membros. Os animais restantes apresentaram HSAs restritos a um único órgão, sendo três localizados no baço, dois na mama e um na cavidade nasal.

Dois animais (casos 1 e 2) diagnosticados inicialmente como HSA cutâneo eram do tipo sistêmico e tiveram recidiva pós cirúrgica e vieram a óbito.

Um destes animais (caso 1), com 15 anos de idade, foi inicialmente tratado devido debilidade orgânica e abscesso no flanco, realizando transfusões sanguíneas devido à anemia e após a cirurgia teve melhora momentânea do quadro clínico, mas a ferida cirúrgica não cicatrizou completamente apresentando uma massa avermelhada esponjosa que drenava sangue. Posteriormente, observou-se piora progressiva no quadro inicial, com anemia intensa, realizando-se nova transfusão sanguínea, o animal veio a óbito por reação transfusional. O diagnóstico de HSA sistêmico foi realizado na necropsia do animal, atingindo a pele, mesentério, serosas do intestino, peritônio, musculatura, pulmão, cérebro e rins. Histologicamente, o tumor



apresentou marcada variação no tamanho e forma nuclear das células neoplásicas e era predominantemente sólido.

Outro canino (caso 2), após 5 meses do diagnóstico inicial de HSA cutâneo, apresentou sinais de síndrome paraneoplásica: hematoma na face interna da coxa do membro posterior devido ao rompimento de um neoplasma, edema de membros, dor ao caminhar, e dificuldade respiratória devido a metástase pulmonar. Seis meses após o diagnóstico inicial instituiu-se tratamento quimioterápico com Doxorubicina havendo relativa melhora do quadro, mas o animal veio a óbito após 5 meses de terapia. No histopatológico da biópsia de pele, observou-se que o arranjo era anastomosado e irregular com marcante variação no tamanho e forma nuclear e invasão moderada. Este animal não foi encaminhado para necropsia e o diagnóstico foi baseado na biópsia e exames clínicos.

Os animais restantes apresentaram HSAs restritos a um único órgão, sendo três localizados no baço (casos 12, 14 e 20), dois na mama (casos 6 e 7) e um na cavidade nasal.

Um animal de 8 anos de idade, com HSA nasal (caso 13), apresentou como sinais clínicos de espirros, com secreção sero-sanguinolenta a purulenta por dois meses e debilidade. Foi realizado procedimento cirúrgico na cavidade nasal, mas devido ao difícil acesso e local não foi realizado uma ampla margem cirúrgica. Houve melhora do quadro clínico, mas após um mês o animal apresentou recidiva e o proprietário optou pela eutanásia. Histologicamente, o neoplasma apresentou espaços vasculares irregulares, anastomosados com moderada variação no tamanho e forma nuclear sendo que havia necrose em mais de 50% do tumor e era muito invasivo.

Um animal, pit bull, fêmea, de pelagem branca apresentou durante dois anos carcinoma de células escamosas (CCE) cutâneo, sofrendo sucessivos tratamentos cirúrgicos e apresentou também HSA cutâneo, e foi eutanasiado após sofrer 5 procedimentos cirúrgicos. O tumor cutâneo era invasivo, anastomosado com espaços vasculares irregulares contendo sangue com marcada variação no tamanho e forma nuclear e índice mitótico alto. Este canino foi retirado do estudo devido o motivo da eutanásia ser o CCE disseminado, sendo o hemangiossarcoma um tumor secundário neste cão com predisposição a neoplasmas de pele.

**Tabela 4.** Sumário dos caninos acompanhados durante o estudo diagnosticados com hemangioma e hemangiossarcoma:

Caso	Data da cirurgia	Raça, Idade Sexo	Diag	Local	Cor da pelagem	Tempo de acompanhamento	Resultado
1	Março 2008	SRD, 15a, F	HSA	sistêmico	branca	1 mês	Morte causada pelo neoplasma
2	Junho 2008	Dogo Argentino, 8a, F	HSA	Sistêmico	branca	11 meses	Morte causada pelo neoplasma
3	Julho 2008	Beagle, 8a, F	HA	Pele (lombar)	tricolor	24 meses	Sem sinais de recidiva
4	Novembro 2008	SRD, 7a, F	HSA	Pele (cervical)	NI	24 meses	Sem sinais de recidiva
5	Novembro 2008	Golden Retriever, NI, M	HSA	Pele (escalpo)	Dourado	24 meses	Sem sinais de recidiva
6	Novembro 2008	Pit Bull, NI, F	HSA	Mama	Cinza	1 mês	Morte devido a ICC
7	Novembro 2008	Daschund, 7a, F	HSA	mama	Marrom	5 meses	Morte causa desconhecida
8	Novembro 2008	SRD, 12a, F	HA	Vagina	NI	24 meses	Sem sinais de recidiva
9	Setembro 2009	Fila, 8a, M	HSA	Pele (membro)	NI	12 meses	Sem sinais de recidiva*
10	Setembro 2009	Dogo argentino, 6a, M	HSA	Pele (escroto)	Branco	6 meses	Sem sinais de recidiva *
11	Setembro 2009	SRD, 2 a, F	HA	Pele (NI)	NI	14 meses	Sem sinais de recidiva*
12	Outubro 2009	Boxer, 7a, F	HSA	Baço	NI	14 meses	Sem sinais de recidiva*
13	Outubro 2009	Cocker, 8a, M	HSA	Nasal	Caramelo	1 mês	Morte causada pelo neoplasma
14	Dezembro 2009	Basset hound 10a, F	HSA	Baço	Tricolor	12 meses	Sem sinais de recidiva*
15	Fevereiro 2010	Daschund, 6a, M	HA	Pele (membro)	Caramelo	10 meses	Sem sinais de recidiva*
16	Fevereiro 2010	Pit Bull, 11a M	HSA	Pele (prepúcio)	Marrom claro	6 meses	Sem sinais de recidiva*
17	Março 2010	SRD, 12a, F	HSA	Pele (lombar)	NI	2 meses	Morte, não soube a causa.
18	Fevereiro 2010	SRD, 4a, F	HA	Pele (mama)	Preta	6 meses	Sem sinais de recidiva*
19	Abril 2010	Labrador, 8a, M	HA	Pele (cervical)	Dourado	6 meses	Sem sinais de recidiva*
20	Abril 2010	Labrador, 10a, F	HSA	Baço	Dourado	6 meses	Sem sinais de recidiva*

HA: hemangioma; HSA: hemangiossarcoma; NI: não informado; \* casos em aberto até novembro 2010.

Tricolor: banco com manchas marrons e pretas.

## 5 DISCUSSÃO

Hemangiomas e hemangiossarcomas são importantes lesões vasculares que se desenvolvem nas populações de animais domésticos e em humanos, e há um grande interesse a respeito da epidemiologia, histologia e imunistoquímica, principalmente em caninos, a espécie mais atingida por estes neoplasmas, mas há poucos estudos nas populações de felinos. (CULP et al., 2008; SCHONIGER et al., 2008; SCHULTHEISS, 2004; WARREN e SUMMERS, 2007).

Fatores prognósticos como graduação histológica, índice mitótico, invasão, tamanho tumoral, margens e marcadores celulares são importantes fatores preditivos em vários tipos de tumores, do comportamento tumoral e do tempo de sobrevivência. No entanto, poucos são os estudos conduzidos na identificação destes parâmetros nos HSAs de caninos e felinos. (BERTAZZOLO et al., 2005; HELLER et al., 2005; MCSPORRAN, 2009). Desta forma, estudos como este, podem ser bastante significativos.

Quanto à graduação histológica dos HSAs, verificou-se que mais da metade das amostras, 58,6% eram bem diferenciadas. Não houve diferença no grau histológico quanto à localização. A graduação histológica não diferiu com a encontrada por Yonemaru et al. (2006) onde 58,9% das amostras eram bem diferenciadas. No entanto, o autor não correlacionou o grau histológico com a localização nem com o tempo de sobrevivência dos animais.

O índice mitótico foi baixo em 53,3% das amostras e não houve diferença quando comparado à localização. O índice mitótico e a graduação histológica não foram importantes fatores preditivos, diferindo dos resultados encontrados por Kim et al. (2007) onde o grau histológico foi identificado como um fator prognóstico em cães com HSAs esplênicos com índice mitótico sendo uma variável significativa no tempo de sobrevivência.

Existem disparidades entre os autores em relação ao grau histológico quanto a seu valor como fator prognóstico. Segundo Fayette et al (2007) as taxas de sobrevida em 5 anos para os angiossarcomas humanos de grau I, grau II e grau III são respectivamente 72%, 45% e 23%. No entanto, Fanburg-Smith et al (2003) afirma que em humanos, angiossarcomas de pele e tecidos moles o grau pode não ser um fator preditivo prognóstico, por que os angiossarcomas de forma geral tem um prognóstico pobre, com tempo de sobrevida de apenas 1 a 3 anos independente do grau histológico. Segundo Schultheiss (2004), o grau de diferenciação não se correlacionou com a evolução clínica dos hemangiossarcomas em animais, assim como o índice mitótico e o tamanho do tumor. A localização anatômica parece ser o mais importante fator preditivo, independente da graduação. De fato, dos caninos acompanhados neste estudo, os animais com tumores restritos a pele tiveram relativamente um melhor tempo de sobrevida que os com tumores em outras localizações corpóreas.

A morfologia celular pode ser um importante fator preditivo em vários neoplasmas onde tumores com células bem diferenciadas possuem um prognóstico melhor e relação aos tumores anaplásicos (KUSEWITT e RUSH, 2009). Neste estudo, apresentaram moderada variação no tamanho e forma nuclear 61% dos HSAs, 22,2% apresentaram marcada variação no tamanho e forma nuclear e 3,7% apresentaram pleomorfismo. Verificou-se que a relação entre morfologia e invasão foi estatisticamente significativa ( $p=0,029$ ) para hemangiossarcomas com marcada variação no tamanho e forma nuclear.

Em estudos humanos a invasão é considerada um importante fator preditivo em HSAs (ALBORES-SAAVEDRA et al., 2010; BIEN et al., 2010; PENEL et al., 2010). No entanto, não foi encontrada referências na literatura veterinária, embora seja relatado que tumores com margens comprometidas tenham um prognóstico pior do que tumores com margens livres (SCHULTHEISS, 2004).

Os hemangiomas se caracterizaram por um arranjo constituído de espaços vasculares cheios de sangue, arranjados em fileiras ou camadas simples de células endoteliais achatadas bem diferenciadas. As margens são bem demarcadas, com pouco estroma tumoral. Alguns hemangiomas cavernosos apresentaram septos colagenosos resultando em maior

componente estromal. Além disso, eram restritos ao sítio primário e não invasivos. A exérese foi curativa nestes casos, não havendo recorrência pós cirúrgica (MILLER et al., 1992; SCHULTHEISS, 2004).

Os HSAs cutâneos apresentaram diferentes arranjos histológicos, constituídos predominantemente de espaços vasculares irregulares, muitas vezes com um arranjo heterogêneo com áreas sólidas e vacuolizadas. Alguns HSAs apresentaram grandes áreas de estroma conjuntivo no tecido cutâneo, e invadindo o subcutâneo. Área de ulceração pode ser visto e infiltrado inflamatório linfoplasmicítico. (HARGIS et al., 1992; MILLER et al., 1992; SILVA JUNIOR et al., 2008).

Os HSAs sistêmicos apresentaram áreas constituídas predominantemente de espaços vasculares irregulares, composta por células endoteliais imaturas redondas, ovóides a fusiformes que se arranjam em camadas sólidas formando canais rudimentares tortuosos contendo hemácias. Esses espaços são compostos de uma ou mais camadas de células endoteliais pleomórficas com núcleos hipercromáticos e citoplasma abundante, semelhante ao encontrado por Sabbatini e Bettini (2009) e Miller et al. (1992), sendo este o arranjo predominante em vários estudos retrospectivos. O HSA também apresentou algumas áreas formando pequenos espaços vasculares e capilares além das formas predominantemente vacuolizadas, conforme descrito por Warren and Summers (2007). Nos HSAs pobremente diferenciados as células neoplásicas se proliferam de forma sólida, e formação de luz vascular estava ausente (HARGIS et al., 1992; MILLER et al., 1992; SILVA JUNIOR et al., 2008). Hemorragia e formação de trombos estavam presentes em graus variáveis, assim como grandes áreas de necrose, encontrados principalmente no baço, alterações compatíveis com as descritas pelos autores, embora estes não tenham correlacionado estes achados com o arranjo e morfologia tumoral. A hemorragia é citada como fator prognóstico importante, quando associado à hemorragia cavitária (GULBAHAR et al., 1998; HARGIS et al., 1992; MILLER et al., 1992; SILVA JUNIOR et al., 2008). Neste estudo não se pode correlacionar a hemorragia e necrose com o prognóstico dos HSAs.

Estudos imunohistoquímicos dos HSAs caninos tem sido restritos ao uso de marcadores de células endoteliais específicos, tais como Fator de Von Willebrand e CD31 para distinguir HSAs pobremente diferenciados de outros

tumores mesenquimais (SABATTINI e BETTINI, 2009; WARREN e SUMMERS, 2007). Isto se deve ao fato de que 90% dos HSAs caninos serem positivos para o Fator de VonWillebrand (VON BEUST et al., 1998). Neste estudo, 80 % dos HSAs tiveram marcação positiva para este fator, com intensidade forte em 37,5 % dos casos.

A expressão de CD117, VEGFR e CD44 também podem ser usados como alvos potenciais para intervenção terapêutica molecular para este neoplasma (FOSMARINE et al, 2004; SABATTINI e BETTINI, 2009). Segundo estes autores, tanto hemangiossarcomas caninos quanto humanos são originários de células endoteliais primitivas que podem ser identificadas pela expressão de CD117, podendo ser um importante fator preditivo para o desenvolvimento terapêutico.

A imunidade inata e adaptativa desempenha papéis importantes na imunovigilância e destruição do tumor (WANG, 2006). Infiltrado linfoplasmocítico peritumoral estava presente em diferentes graus em 62,5% do hemangiomas e em 77,7% dos HSAs. Não houve diferença expressiva quando relacionado com a localização do tumor e o tipo histológico.

Muitos estudos têm demonstrado que níveis elevados de infiltrado tumoral linfocitário está associados com melhor prognóstico em tumores humanos, no entanto, o significado da presença de infiltrado tumoral e peritumoral tem sido alvo de relatos conflitantes (YU e FU, 2006).

Crescentes evidências sugerem que infiltrado inflamatório intratumoral pode ter uma dupla função: inibir ou promover o crescimento tumoral (WANG, 2006). Segundo Mantovani et al (2008), as quimiocinas e citocinas coordenam as interações entre as células malignas e infiltrado linfocitário, que podem aumentar a migração, invasão e sobrevivência das células malignas, podendo afetar também o crescimento do tumor primário e a capacidade das células tumorais de colonizar um sítio metastático. Contrariamente, Yu e Fu (2006) concluiu em seu estudo que o recrutamento rápido de linfócitos dentro do tumor pode criar um ambiente pró-inflamatório levando a rejeição do tumor em sítios locais e distantes.

Na literatura atual, não se encontram trabalhos que onde se quantificam infiltrado linfoplasmocítico em hemangiomas e hemangiossarcomas caninos, e seu significado prognóstico, embora seja citado nas descrições histológicas.

Com relação às espécies houve um predomínio de caninos em relação a felinos, e estes dados são semelhantes aos observados pelos autores. Dados epidemiológicos a respeito de tumores vasculares sanguíneos em populações de gatos são raros, por se tratar de um neoplasma pouco comum nesta espécie animal (MILLER et al., 1992; SCHULTHEISS, 2004; WARREN e SUMMERS, 2007).

Predisposição racial foi difícil de avaliar em uma população de apenas 53 animais, mas o neoplasma acometeu mais animais de raças mistas que os de raça pura. Num estudo retrospectivo realizado por SCHULTHEISS (2004) as raças mais acometidas por hemangiomas e hemangiossarcomas de acordo com os registros do American Kennel Club (AKC) nos Estados Unidos, está em primeiro lugar o Labrador Retriever e Golden Retriever, raças atualmente muito populares naquele país, com porcentagens altas de hemangiossarcomas sistêmicos e hemangiomas cutâneos, seguido pelo Wippet, embora a população de cães ser bem menor dessa raça. Em estudos populacionais anteriores a 1995, a raça mais acometida por estes neoplasmas foram os Pastores Alemães (SORENMO, et al., 2004; WANG e SU, 2001).

Muitas vezes, a população de risco não é totalmente conhecida e nem todos os veterinários clínicos ou cirurgiões remetem para exame histopatológico os tumores provenientes de procedimentos de exérese tumoral, assim como muitos animais morrem em decorrência do neoplasma sem que seja feito o diagnóstico pelo veterinário, e frequentemente não são enviados para necropsia e exame histopatológico.

Cães de pelagem curta e de coloração clara foram mais acometidos por neoplasia cutânea, principalmente em áreas de pele glabra. Um canino com predisposição a neoplasia cutânea desenvolveu dois neoplasmas histologicamente distintos, ambos podem ser induzidos por radiação solar. Este resultado é compatível com Hargis, et al. (1992), onde foram observadas uma porcentagem maior de hemangiomas e HSAs na pele ventral glabra (72%) em relação à pele ventral pilosa (22%), sugerindo associação a radiação solar, visto que alguns dos cães desenvolveram carcinoma de células escamosas na pele próximo a hemangiomas e HSAs em peles com alterações pré-cancerosas.

Nos caninos, hemangiomas foram tipicamente benignos, solitários, envolvendo principalmente a derme. Hemangiomas cutâneos primários foram bem menos comuns que hemangiossarcomas primários de pele correspondendo a 87% dos casos de pele. Este resultado difere-se do obtido por Hargis et al. (1992), em que numa população de cães, 73% dos tumores eram hemangiomas, e 27% se tratavam de hemangiossarcomas cutâneos.

Quanto aos hemangiossarcomas de pele, houve envolvimento da derme e tecido subcutâneo, embora mal delimitados, restringiam-se na maioria das vezes a um único sítio. Múltiplos tumores de pele foram encontrados somente em um caso, e representava manifestação metastática de hemangiossarcoma sistêmico.

Os HSAs subcutâneos têm um pior prognóstico quando comparados aos restritos à derme (SORENMO et al., 2004). Hargis et al. (1992), acompanhou duas populações de caninos num total de 212 cães com neoplasmas vasculares cutâneos, dos caninos com hemangiossarcoma no tecido subcutâneo, 60% dos cães tiveram tumor primário sistêmico confirmado. Numa destas populações de 96 caninos com hemangiossarcoma cutâneo, 18 morreram em decorrência do tumor. Desta forma, a presença de um possível sítio primário sistêmico em cães com tumores envolvendo o subcutâneo deve ser investigada.

Hemangiossarcomas não viscerais foram mais freqüentes que os viscerais, não diferindo dos resultados obtidos por Schultheiss (2004). Não houve diferença histológica no arranjo e morfologia tanto nos hemangiossarcomas não viscerais quanto nos viscerais, embora tumores restritos a pele tenham um melhor prognóstico em relação aos que atingem órgãos sistêmicos. Segundo Schultheiss (2004) a completa excisão cirúrgica é o mais importante fator preditivo em hemangiossarcomas não sistêmicos.

Hemangiossarcomas viscerais são muito agressivos, com formação rápida de metástase generalizada através de rota hematogena, principalmente para os pulmões e fígado, embora outros órgãos possam ser atingidos (SHOR et al., 2009; WENZLOW et al., 2009; ROBINSON e MAXIE, 2007).

Em um estudo realizado por Yonemaru et al. (2006), em 75 cães com hemangiossarcomas viscerais o órgão mais atingido foi o baço em 44 dos



animais. Este resultado foi semelhante ao encontrado neste estudo, onde o órgão sistêmico mais acometido foi o baço (n=13).

Dos dois animais acompanhados com hemangiossarcomas sistêmicos, tiveram uma sobrevida média de um a 11 meses. O tratamento quimioterápico melhorou a sobrevida de um desses animais. Quimioterapia melhora a sobrevida em 145-210 dias, mas a longo prazo sobrevivência continua pobre para cães com Hemangiossarcoma visceral (LOCKE e BARBER, 2006).

Um canino apresentou hemangioma vaginal, segundo Azari, et al (2010), esse tumor raramente acomete a genitália, e quando ocorre a idade média é de cerca de 11 anos e 65% destas cadelas são intactas.

Dois animais que foram esplenectomizados devido a hemangiossarcoma esplênico, tiveram tempo de sobrevida superior a 6 meses, diferindo ao relatado por LOCKE e BARBER (2006) onde a mediana de sobrevida foi de 19 a 92 dias com cirurgia como único tratamento, e uma porcentagem de sobrevivência relatada de 1 ano de 6%.

Kim et al. (2007) no seu estudo, estadiou os hemangiossarcomas esplênicos em estágio I para o hemangiossarcoma confinado ao baço, estágio II com ruptura do tumor e hemoperitônio sem evidência de metástase e estágio III hemangiossarcoma esplênico metastático, este último tendo pior prognóstico e tempo de sobrevida.

Os animais esplenectomizados tiveram um maior tempo de sobrevida provavelmente por se tratarem de hemangiossarcomas de estágio I, com melhor prognóstico.

Uma das grandes dificuldades do estudo foi a avaliação das amostras resgatadas dos arquivos, a falta de informações completas fornecidas em relação aos dados das resenhas e análise histopatológica são fatores que prejudicaram a avaliação e muitos dos casos dos arquivados não puderam ser reavaliados. Estudos adicionais com avaliação da localização, margens cirúrgicas, morfologia, índice mitótico e estadiamento clínico em grandes populações são necessários para estabelecer sua importância como fatores prognósticos e caninos e felinos.

## **6 CONCLUSÕES**

- 1) Os hemangiomas têm um prognóstico favorável comparado aos HSAs.
- 2) A localização e a intensidade de invasão são importantes fatores preditivos no comportamento biológico dos HSAs caninos e felinos.
- 3) O grau histológico, o arranjo, o índice mitótico, o infiltrado linfoplasmocítico, a presença de hemorragia e necrose não se demonstraram fatores preditivos neste estudo.
- 4) O prognóstico de animais com HSAs viscerais foi desfavorável comparado com os animais com HSAs cutâneos, embora a estimativa de sobrevida independente da localização ser baixa, mesmo com tratamento cirúrgico.

## Referências

ANTONESCU C. R., YOSHIDA A., GUO T., CHANG N., ZHANG L., AGARAM N. P., QIN L., BRENNAN M. F., SINGER S., AND MAKI R. G.. KDR Activating Mutations in Human Angiosarcomas Are Sensitive to Specific Kinase Inhibitors **Cancer Res**; 69:7175-7179 (2009).

ALBORES-SAAVEDRA J., SCHWARTZ A. M., HENSON D. E., KOSTUN L., HART A., ANGELES-ALBORES D., CHABLÉ-MONTERO F., Cutaneous angiosarcoma. Analysis of 434 cases from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973-2007. **Annals of Diagnostic Pathology** (2010).

ALLRED, D.C.; HARVEY, J.M.; BERARDO, M.; CLARK, G.M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. **Modern Pathology**, v.11(2), p.155-68, 1998.

AUGUSTIN-VOSS, H. G.; SMITHA, C. A. and LEWIS R. M. Phenotypic Characterization of Normal and Neoplastic Canine Endothelial Cells by Lectin Histochemistry. **Vet. Pathol.** 22:103-109 (1990).

AZARI O.; AKHTARDANESH B.; DERAKHSHANFAR A.; OLOUMI M. M.; VOSOUGH D. Vaginal cavernous hemangioma with cystic ovaries and cystic endometrial hyperplasia in a dog. **Comp Clin Pathol** 19:413–416(2010).

BELLEI, M. H. M.; NEVES, D. S.; GAVA, A.; LIZ, P. P., PILATI, C.; Prevalência de neoplasias cutâneas diagnosticadas em caninos no estado de Santa Catarina, Brasil, no período entre 1998 a 2002; **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.5, n.1, p. 73-79, 2006.

BERTAZZOLO W., DELL'ORCO M., BONFANTI U., GHISLENI G., CANIATTI M., MASSERDOTTI C., ANTONIAZZI E., CRIPPA L., ROCCABIANCA P.; Canine angiosarcoma: cytologic, histologic, and immunohistochemical correlations **Veterinary Clinical Pathology** Vol. 34 No. 1 (2005).

BIEN E., KAZANOWSKA B., DANTONELLO T., ADAMKIEWICZ-DROZYNSKA E., BALCERSKA A., MADZIARA W., RYBCZYNSKA A., NURZYNSKA-FLAK J., SOLARZ E., KURYLAK A., ZALEWSKA-SZEWczyk B., KRAWCZYK M., IZYCKA-SWIESZEWSKA E., RAPALA M., AND KOSCIELNIAK E., Factors Predicting Survival in Childhood Malignant and Intermediate Vascular Tumors **Ann Surg Oncol** 17:1878–1889(2010).

BONGIOVANNI, L.; COLOMBI I.; FORTUNATO C. AND DELLA-SALDA L. Survivin expression in canine epidermis and in canine and human cutaneous squamous cell carcinomas **Veterinary Dermatology**, 20, 369–376, 2009.

BORTOLUZZI, M. MOTTA, A. C., SECCHI, P., RAUSCH, S., BERTOLETTI, B., BORTOLINI, C. E., CARNEVALI, T., VALLE, S. F., BONDAN, C. Ultrasonografia, citologia e histopatologia como meios auxiliares para o diagnóstico

de neoplasmas abdominais de origem vascular em cães- relato de dois casos. In: 35° CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, 2008. Anais... Gramado: 35°CONBRAVET, 2008.

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

CLIFFORD C. A., MACKIN A. J., AND HENRY C. J. Treatment of Canine Hemangiosarcoma: 2000 and Beyond. **J Vet Intern Med** 14:479–485 (2000).

COHEN S. M., STORER R. D., CRISWELL K. A., DOERRER N. G., DELLARCO V. L., PEGG D. G., KWOJCINSKI Z. W., MALARKEY D. E., JACOBS A. C., KLAUNIG J. E., SWENBERG J. A., AND COOK J. C. Hemangiosarcoma in Rodents: Mode-of-Action Evaluation and Human Relevance *Toxicological Sciences* 111(1), 4–18 (2009).

CULLEN, J.M.; PAGE, R.; MISDORP, W. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In: MEUTEN, D.J. **Tumours in domestic animals**. 4<sup>th</sup> ed. Ames: Iowa State Press, 2002.p.13.

CULP W.T.N., DROBATZ K.J., GLASSMAN M.M., BAEZ J.L., AND ARONSON L.R. Feline Visceral Hemangiosarcoma **J Vet Intern Med** 2008;22:148–152.

DENNIS M. M., MCSPORRAN K. D., BACON N. J., SCHULMAN F. Y., FOSTER R. A., AND POWERS B. E. Prognostic Factors for Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas in Dogs **Vet Pathol** December(2010).

LEBER M. F. and EFFERTH T.; Molecular principles of cancer invasion and metastasis (Review). **International Journal of Oncology** 34: 881-895, 2009.

LOCKE J. E. and BARBER L. G. Comparative Aspects and Clinical Outcomes of Canine Renal Hemangiosarcoma. **J Vet Intern Med** 20:962–967 (2006).

FAYETTE J., MARTIN E., PIPERNO-NEUMANN S., LE CESNE A., ROBERT C., BONVALOT S., RANCHÈRE D., POUILLART P., COINDRE J. M. & BLAY J. Y. Angiosarcomas, a heterogeneous group of sarcomas with specific behavior depending on primary site: a retrospective study of 161 cases. **Annals of Oncology** 18: 2030–2036, (2007).

FANBURG-SMITH J. C., FURLONG M. A and CHILDERS E. L B Oral and Salivary Gland Angiosarcoma: A Clinicopathologic Study of 29 Cases **Mod Pathol**;16 (3):263–271 (2003).

FERRAZ J. R. S.; ROZA M. R.; JÚNIOR J. C. & COSTA A. C., Canine hemangiosarcoma: literature review JBCA – **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 1, n. 1, p. 35-48 (2008).

FERRER, L.; FONDEVILA, D.; RABANAL R. M. AND VILAFRANCA M. Immunohistochemical Detection of CD31 Antigen in Normal and Neoplastic Canine Endothelial Cells **J. Comp. Path.** Vol, 112, 319-326 (1995).

FOSMIRE S. P, DICKERSON E. B, SCOTT A. M, BIANCO S. R, PETTINGILL M J, MEYLEMANS H., PADILLA M., FRAZER-ABEL A. A, AKHTAR N, GETZY D. M, WOJCIESZYN J, BREEN M, HELFAND S. C AND MODIANO J. F. Canine malignant hemangiosarcoma as a model of primitive angiogenic endothelium **Laboratory Investigation** 84, 562–572 (2004).

GINN, P.E.; MENSETT, J.E. K. L.; RUKICH, P.M. Neoplastic and reactive diseases of the skin and mammary glands. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N.; MAXIE, M.G. **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, (2007) p. 767.

GÜLBAHAR.M.Y., GUVENC-T., BESALTI-O., "Splenic hemangiosarcoma with abdominal dissemination in a dog", **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Vol. 22, No. 5, pp. 459-463 (1998).

HALPER J. Growth Factors as Active Participants in Carcinogenesis: A Perspective. **Vet Pathol** 47:77-97 (2010).

HELLER D. A., STEBBINS M. E., REYNOLDS T. L., HAUCK M. L., A Retrospective Study of 87 Cases of Canine Soft Tissue Sarcomas, 1986–2001. **Intern J Appl Res Vet Med** Vol. 3, No. 2, (2005).

JOHNSONM, G. C.; MILLER M. A. FLOSS J. L.; TURK J. R.; Histologic and Immunohistochemical Characterization of Hemangiomas in the Skin of Seven Young Horses **Vet Pathol** 33:142-149 (1996).

KARJALAINEN JM, ESKELINEN MJ, NORDLING S, LIPPONEN PK, ALHAVA EM AND KOSMA V-M. Mitotic rate and S-phase fraction as prognostic factors in stage I cutaneous malignant melanoma. **British Journal of Cancer** 77(11), 1917-1925 (1998).

KIM S. E., LIPTAK J. M., GALL T. T., MONTEITH G. J., WOODS, J. P. Epirubicin in the adjuvant treatment of splenic hemangiosarcoma in dogs: 59 cases (1997–2004). **J Am Vet Med Assoc** 231:1550–1557 (2007).

KIM Y., REINECKE S., AND MALARKEY D. E. Cutaneous Angiomatosis in a Young Dog **Vet Pathol** 42:378–381 (2005).

KURZMAN, I.D.; GILBERTSON, S.D. Prognostic factors in canine mammary tumors. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.1, p.25-32, 1986.

KUSEWITT F. D, RUSH L. J, Neoplasia e biologia tumoral. In: MCGAVIN, M.D, AND ZACHARY J. F. **Bases da patologia em veterinária** 4° Ed. Elsevier, 2009. p. 253-260.

LAMALICE L.; LE-BOEUF F AND HUOT J. Endothelial Cell Migration During Angiogenesis **Circ. Res.** 100:782-794 (2007).

LAMERATO-KOZICKI A. R., HELM K. M., JUBALA C. M., CUTTER G. C., AND MODIANO J. F. Canine hemangiosarcoma originates from hematopoietic precursors with potential for endothelial differentiation **Experimental Hematology** 34:870–878 (2006).

LEE-GROSS, T.; IHRKE, P. J.; WALDER, E. J. IN: Veterinary Dermatopathology, Cap 27 p. 419-226, Editora Hardcover (1992).

LOCKE J. E. AND BARBER L. G. Comparative Aspects and Clinical Outcomes of Canine Renal Hemangiosarcoma **J Vet Intern Med**; 20:962–967 (2006).

LOUKOPOULOS P., MUNGALL B. A., STRAW R. C., THORNTON J. R., AND ROBINSON W. F. Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Involvement in Canine Tumors. **Vet Pathol** 40:382–394 (2003).

TAKEUCHI T., IWASAKI S., MIYAZAKI J., NOZAKI Y., TAKAHASHI M., ONO M., SAIBARA T., FURIHATA M. Matrix metalloproteinase-1 expression in splenic angiosarcoma metastasizing to the serous membrane. **Int J Clin Exp Pathol**; 3(6):634-639 (2010).

MANTOVANI A., ALLAVENA P., SICA A. & BALKWILL F. Cancer-related inflammation. **Nature** vol.454 (24):436-444 (2008).

MATHEUS, R. S.; BERNARDI, F. D. C.; GALLO, C. P.; SILVA, A. P.; RODRIGUES, O. R.; CAPELOZZI, M.; LOPES, A.; FENEZELIAN, S.; SALDIVA, P. H. N.; CAPELOZZI, V. L. Nuclear markers (star volume, mitotic index, AgNOR and Ki-67) of the primary tumor and its metastasis in non-small cell lung carcinomas **Pathology Research and Practice** 200: 13–23 (2004) .

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

MIETTINEN M., SARLOMO-RIKALA M., LASOTA J.. KIT Expression in Angiosarcomas and Fetal Endothelial Cells: Lack of Mutations of Exon 11 and Exon 17 of C-kit. **Mod Pathol** 13(5):536–541(2000).

MILLER M. A., RAMOS J. A. AND KREEGER J. M. Cutaneous Vascular Neoplasia in 15 Cats: Clinical, Morphologic, and Immunohistochemical Studies **Vet Pathol** 29: 329 (1992).

MURAKAMI M., SAKAI H., KODAMA A., MORI T., MARUO K., YANAI T. AND MASEGI T. Expression of the Anti-apoptotic Factors Bcl-2 and Survivin in Canine Vascular Tumours **J. Comp. Path.** 2008, Vol. 139:1-7.

MURPHY G. F., ELDER D. Non-Melanocytic Tumors of the Skin. In: MURPHY G. F., ELDER D. **AFIP Atlas of Tumor Pathology**, Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology Fascicle Series. 1991.

NAMBIAR, P. R.; BOUTIN, S. R.; RAJA, R. AND ROSENBERG D. W. Global Gene Expression Profiling: A Complement to Conventional Histopathologic Analysis of Neoplasia *Vet Pathol* 42:735–752 (2005).

PENEL N., MARRÉAUD S., ROBIN Y. M., HOHENBERGER P. Angiosarcoma: State of the art and perspectives **Crit Rev Oncol/Hematol** (2010).

PIRIE C. G., KNOLLINGER A. M., THOMAS C. B. AND DUBIELZIG R. R. Canine conjunctival hemangioma and hemangiosarcoma: a retrospective evaluation of 108 cases (1989–2004) **Veterinary Ophthalmology** 9, 4:215–226 (2006).

ROBINSON WF, MAXIE MG: Vascular neoplasms. In: **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**, Volume 3, p. 102–103. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, 2007.

ROMANSIK E. M., REILLY C. M., KASS P. H., MOORE P. F., AND LONDON C. A. Mitotic Index Is Predictive for Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors *Vet Pathol* 44:335–341 (2007).

SILVA JÚNIOR V. A., MAIA F. C. L. e BRITO L. C.; HEMANGIOMA HEPÁTICO PRIMÁRIO EM GATA PERSA COM DOENÇA RENAL POLICÍSTICA, **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 529-534, abr./jun. 2008

SABATTINI, S. AND BETTINI G., An Immunohistochemical Analysis of Canine Haemangioma and Haemangiosarcoma **J. Comp. Path.** 2009, Vol. 140, 158-168.

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

SILVEIRA, M. F. Avaliação da microdensidade vascular como fator prognóstico em tumores de tecidos moles em caninos e felinos. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SORENMO, K. U.; BAEZ, J. L.; CLIFFORD, C. A.; MAULDIN, E.; OVERLEY, B.; SKORUPSKI, K.; BACHMAN, R.; SAMLUK, M. AND SHOFER F. Efficacy and Toxicity of a Dose-Intensified Doxorubicin Protocol in Canine Hemangiosarcoma **J Vet Intern Med** 18:209–213 (2004).

SOUZA, T. M.; *Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães*. In: Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Programa de Pós-Graduação

em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

SPANGLERM, W. L.; CULBERTSOANN, R. D.; KASS P. H. Primary Mesenchymal (Nonangiomatous/Nonlymphomatous) Neoplasms Occurring in the Canine Spleen: Anatomic Classification, Immunohistochemistry, and Mitotic Activity Correlated with Patient Survival **Vet Pathol** 31:37-47 (1994).

STEEG, P.S. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. **Nature Medicine**. v.12, p.895-904, 2006.

SUZUKI Y., OKA K., OHNO T., KATO S., TSUJII H., AND NAKANO T. Prognostic Impact of Mitotic Index of Proliferating Cell Populations in Cervical Cancer Patients Treated With Carbon Ion Beam **Cancer** May 1, 2009.

THAMM D. H., DICKERSON E. B., AKHTAR N., LEWIS R., AUERBACH R., HELFAND S. C., MACEWEN E. G. Biological and molecular characterization of a canine hemangiosarcoma-derived cell line **Research in Veterinary Science** 81 (2006) 76–86.

VON-BEUST B. R., SUTERA M. M. AND SUMMERS B. A. Factor VIII-related Antigen in Canine Endothelial Neoplasms: An Immunohistochemical Study **Vet. Pathol.** 25:251-255 (1988).

WANG R. F. Regulatory T cells and innate immune regulation in tumor immunity **Springer Semin Immun** 28:17–23(2006).

WANG. F-I; SU, H-L. A renal hemangiosarcoma causing hematuria in a dog. **Proc. Nalt. Sci. Council**. No. 3, 25: 187-189 (2001).

WARREN A. L. AND SUMMERS B. A.; Epithelioid Variant of Hemangioma and Hemangiosarcoma in the Dog, Horse, and Cow; **Vet Pathol** 44:15–24 (2007).

WENZLOW, N.; TIVERS, M. S.; SELMIC, L. E.; SCURRELL, E. J.; BAINES, S. J. AND SMITH, K. C. Haemangiosarcoma in the uterine remnant of a spayed female dog. **Journal of Small Animal Practice** 50:488–491 (2009).

YONEMARU K., SAKAI H., MURAKAMI M., YANAI T. AND MASEGI T. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor, Basic Fibroblast Growth Factor, and Their Receptors (Flt-1, Flk-1, and Flg-1) in Canine Vascular Tumors **Vet Pathol** 43:971–980 (2006).

YOSHIOKA K., FOLETTA V., BERNARD O. AND ITOH K.; A role for LIM kinase in cancer invasion. **PNAS** June 10, vol. 100 no.12 p.7247–7252. (2003).

YU P. and FU Y-X. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes? **Laboratory Investigation** 86, 231–245 (2006).



## Apêndices

**Apêndice A - Ficha de acompanhamento de sobrevida**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
FICHA DE AVALIAÇÃO



**Hemangiomas e Hemangiossarcomas Caninos e Felinos**

FICHA CLÍNICA: \_\_\_\_\_ FICHA LRD: \_\_\_\_\_

RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_

PROPRIETÁRIO: \_\_\_\_\_

TEL: \_\_\_\_\_

ENDEREÇO: \_\_\_\_\_

CIDADE: \_\_\_\_\_

NOME: \_\_\_\_\_ ESPÉCIE: \_\_\_\_\_ RAÇA: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_

PELAGEM: ( ) BRANCA ( ) PRETA ( ) MARROM ( ) TRICOLOR

( ) OUTRA \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA CLÍNICA**

**DADOS DE ANAMNESE**

**Motivo da consulta:** ( ) aumento de volume ( ) dificuldade respiratória ( ) perda de apetite e apatia ( ) sangramento vaginal ( ) outros \_\_\_\_\_

**Localização:** ( ) abdômen ventral ( ) prepúcio ( ) vagina ( ) mama ( ) pescoço ( ) membros.

Qual? \_\_\_\_\_ ( ) outros \_\_\_\_\_

( ) sistêmico \_\_\_\_\_

**Pigmentação da pele:** ( ) despigmentada ( ) pouco pigmentada ( ) pigmentação normal ( ) muito pigmentada

**Quantidade de pêlos no local da lesão:** ( ) pouco ( ) normal ( ) muito

**Tempo de exposição solar/dia:** ( ) 1 a 4 horas ( ) 5 a 8 horas ( ) mais de 8 horas

**Quando notou?** (...) Dias (...) Semanas (...) Meses (...) Anos

**Crescimento:** (...) menos de 1 mês (...) 1 a 5 meses (...) 6 meses a 1 ano (...) mais de 1 ano

**Tratamentos anteriores ou recentes:** (...) quimioterápicos (...) pomadas cicatrizantes (...) outros

\_\_\_\_\_

**Convive com outros animais?** ( ) não ( ) sim. Qual (ais)?

\_\_\_\_\_

**Contactantes apresentam lesões?** ( ) não ( ) sim. Onde?

\_\_\_\_\_

**Outras**

**obs.:** \_\_\_\_\_

### **MEIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO**

( ) Raio X ( ) Citologia ( ) Ultrassom ( ) Biópsia ( ) Outros \_\_\_\_\_

**Resultado dos exames:**

--

### **TERAPIA ANTINEOPLÁSICA**

**Foi realizada?** ( ) Não ( ) Sim. Qual?

( ) Cirurgia Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

( ) Quimioterapia Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

( ) Outro \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**No caso do tratamento não ter sido realizado. Qual foi o motivo?**

( ) Invasão nos tecidos adjacentes

( ) Impossibilidade de remoção cirúrgica

( ) Metástase. Qual local? ( ) Pulmão ( ) Linfonodos ( ) Fígado ( ) Baço

( ) Outros órgãos \_\_\_\_\_

( ) Proprietário não autorizou

( ) Outro motivo \_\_\_\_\_

**A eutanásia foi realizada nos casos não tratados?** ( ) Não ( ) Sim (Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_)

**CARACTERÍSTICAS DO MATERIAL ENVIADO**

**Material recebido:** ( ) Fresco em gelo ( ) Fixado em formol ( ) Refrigerado ( ) Congelado

**Tipo de material** ( ) biopsia ( ) tumor inteiro ( ) fragmento de tumor ( ) Cadáver

**Dimensões do(s) tumor(es) [CxLxP]:** 1) \_\_\_\_x\_\_\_\_x\_\_\_\_ cm 2) \_\_\_\_x\_\_\_\_x\_\_\_\_ cm

**Consistência:** ( ) firme ( ) macio ( ) friável

**Secreção:** ( ) sim ( ) não **Sangue:** ( ) sim ( ) não

**Ulceração:** ( ) sim ( ) não

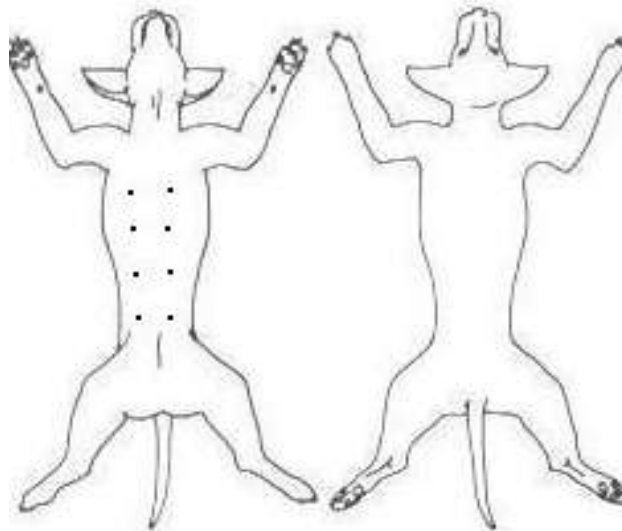
**Mobilidade:** ( ) não aderido ( ) aderido

**Envolvimento linfonodos:** ( ) sim ( ) não

**Padrão:** ( ) Nodular ( ) Pedunculado ( ) Plano

**Distribuição:** ( ) Localizada na pele ( ) Multifocal ( ) outro \_\_\_\_\_

**Marcar no animal o local da lesão:**



**AVLIAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA:**

**Acompanhamento de sobrevida:**

**7 dias pós diagnóstico:**

--

**1 mês pós diagnóstico:**

--

**2 meses pós diagnóstico:**

--

**4 meses pós diagnóstico:**

--

**6 meses pós diagnóstico:**

--

**Apêndice B - Tabela de acompanhamento de sobrevidas**





## **Apêndice C - Avaliação Histopatológica**

	LRD	DIAG	LOCAL	ORGÃOS	MORFO	ARRANJO	NECROSE	TROMBO	INVASÃO	ESTROMA	INFLAM.	OUTROS
1	2535	HSA	1	pele	2	7	0	0	2	3	2	Hiperqueratose, ulcera
2	2902	HSA	3	Baço	2	8	3	0	3	0	2	
2	2902	HSA	3	fígado	2	2	1	0	3	0	99	Hemorragia
3	2919	HSA	1	pele	3	8	1	2	3	1	2	Grades espaços c sangue
4	2996	HSA	1	pele	2	7	0	0	2	0	0	
5	3664	HSA	1	pele	2	2	0	3	2	0	1	
6	3590	HSA	1	pele	3	2	3	0	2	3	0	
7	4085	HA	2	baço	1	1	3	0	3	0	2	Hemorragia
8	4483	HSA	1	pele	3	2	1	0	3	0	3	Hiperqueratose, ulcera, muita infl.
9	4654	HSA	1	pele	2	99	4	99	99	99	99	Pura necrose
10	4993	HSA	2	baço	2	2	2	0	3	0	3	Muito sangue, cels inflam.
11	5481	HSA	1	pele	1	2	0	0	2	1	2	
12	5803	HA	1	pele	1	6	0	0	1	1	1	
13	5887	HSA	1	pele	2	7	2	2	3	1	2	
14	6044	HSA	2	baço	99	99	4	99	99	99	99	Necrose
15	6054	HSA	1	pele	3	9	1	0	3	0	3	Ulcera
16	6941	HA	1	pele	1	6	0	0	1	1	1	
17	7130	HSA	1	pele	2	8	0	0	3	0	3	Ulcera
18	7289	HSA	4	Baço	3	3	99	99	99	99	99	Tec. congelado
18	7289	HSA	4	Parede abdominal	3	3	99	99	99	99	99	
18	7289	HSA	4	Fígado	0	99	99	99	99	99	99	
18	7289	HSA	4	Cérebro	3	3	99	99	99	99	99	
18	7289	HSA	4	Pulmão	3	3	99	99	99	99	99	
19	7461	HSA	2	baço	2	2	2	1	2	1	99	Tec. autolítico

20	7508	HSA	1	pele	3	2	0	0	3	1	3	
21	7541	HSA	2	baço	99	99	4	99	99	99	99	Muita necrose
22	7544	HSA	1	pele	2	2	0	0	2	2	2	Ulcera, bact.
23	7665	HSA	1	pele	3	2	1	0	2	1	1	
24	7731	HA	1	pele	1	6	0	0	1	1	0	
25	7821	HSA	1	pele	2	99	99	99	99	99	99	Congelado, autólise
26	7921	HSA	3	Coração	2	2	2	1	2	1	2	
26	7910	HSA	3	Pulmão	2	2	2	0	1	0	2	
27	8092	HSA	1	Pele	2	2	0	0	3	0	0	
28	8185	HSA	1	Pele	4	3	0	0	3	0	0	Muito redondo
29	8347	HSA	2	Mama	2	7	2	0	3	2	3	Ulcera
30	8359	HSA	2	Mama	2	2	2	2	3	0	2	
31	8457	HA	2	Vulva	1	1	99	99	99	99	99	99
32	8885	HSA	2	Baço	99	99	4	99	99	99	99	Hemorragia, sangue
33	8908	HSA	1	Pele	2	2	0	0	2	1	2	
34	8974	HSA	3	Mesentéri o	2	2	0	1	3	0	0	
34	8974	HSA	3	Fígado	2	2	0	1	2	0	0	
34	8974	HSA	3	Baço	2	2	3	0	2	1	2	
35	9064	HSA	1	Pele	2	2	99	99	99	99	99	Congelado
36	9074	CCE HSA	1	Pele	3	8	2	1	2	1	0	
37	9081	HSA	1	Pele	2	7	0	0	2	0	0	
38	9108	HSA	2	Pâncreas	3	8	1	0	3	1	1	
39	9196	HSA	2	Baço	2	8	3	0	1	0	1	
40	9273	HSA	2	Mucosa nasal	2	2	3	0	3	0	0	Hemorragia

41	9280	HSA	1	Pele	1	2	0	0	2	1	3	
42	9284	HSA	2	Baço	4	4	3	0	3	0	99	Muita necrose
43	9378	HSA	2	Baço	2	2	1	2	3	0	1	Fibrose, hemorragia
44	9426	HA	1	pele	1	6	0	1	1	2	0	
45	9484	HSA	1	Pele	2	8	2	1	3	3	1	
46	9503	HSA	1	Pele	2	2	0	0	2	2	2	
47	9541	HSA	1	Pele	2	7	1	0	3	1	3	Ulcera
48	9566	HA	1	Pele	1	10	0	0	2	1	3	Ulcera
49	9639	HA	1	Pele	1	5	0	0	2	0	0	
50	9640	HSA	2	Baço	1	2	1	1	3	1		Hemorragia
51	9641	HSA	3	Baço	2,	7	1	1	3	1	2	
	9641	HSA		Omento	2	2	0	0	2	0	0	
52	9669	HSA	1	Pele	2	2	0		2	2	1	
53	9765	HSA	1	Pele mama	2	7	1	1	3	2	1	

## Legenda Avaliação histopatológica

**NÃO AVALIADOS:** (99)

**DIAGNÓSTICO:** HA (1), HSA (2)

**ÓRGÃOS:** Pele (1), Baço (2), Fígado (3), pulmão (4), Mesentério/omento (5), cérebro (6), coração (7), pâncreas (8), Parede abd (9), mama (10), vulva (11), Mucosa nasal (12),

### **LOCALIZAÇÃO:**

1: Pele; 2: Órgão Localizado; 3: Mais de um órgão (Multicentrico); 4: Pele e órgãos;

### **MORFOLOGIA:**

1: Mínima variação no tamanho e forma nuclear, células bem diferenciadas;  
2: Moderada variação no tamanho e forma nuclear;  
3: Marcada variação no tamanho e forma nuclear.  
4: Pleomorfismo celular e nuclear, células indiferenciadas.

### **ARRANJO:**

1: Espaços vasculares bem definidos (EVB);  
2: Espaços vasculares irregulares, anastomosados (EVI);  
3: Predominantemente Sólido (S);  
4: Vacuolizado (VAC);  
5: Capilar (CAP);  
6: Cavernoso (CAV);  
7: combinação (COMB);

### **ESTROMA:**

0: nenhum estroma colagenoso; 1: Faixas de colágeno delicado;  
2: Faixas de colágeno denso; 3: Trabecular (muito tecido colagenoso);

### **INVASÃO:**

1: Discreto, 2: Moderado, 3: Acentuado.

### **MITOSE:** (em 5 campos de maior aumento)

0: Ausente; 1: de 1 a 3; 2: de 3 a 5; 3: mais de 5;

### **NECROSE:**

0: Sem necrose 1: pouca necrose  
2: necrose moderada (menos de 50%) ou áreas multifocais de necrose;  
3: Área extensa de necrose, mais de 50% do tumor;

### **TROMBO:**

0: ausência; 1: Presença em menos de 25% do tumor; 2: Presença em menos de 50% do tumor; 3: Presença em mais de 50% do tumor;

### **INFILTRADO INFLAMATÓRIO:**

0: ausente; 1: presente, tumoral; 2: presente extra-tumoral;  
3: presente tumoral e extra tumoral (1,2)

**ULCERA:** sim (1), não (2)

**HEMORRAGIA:** Sim (1) não (2)