

AVALIAÇÃO DA MICRODENSIDADE VASCULAR COMO FATOR PROGNÓSTICO EM SARCOMAS DE TECIDOS MOLES EM CANINOS E FELINOS

PERAZZOLI, Douglas¹; SILVEIRA, Matheus Folgearini²; GAMBA, Conrado de Oliveira³; BERSELLI, Michele² FERNANDES, Cristina Gevehr⁴

1- *Bolsista PIBIC/CNPq/UFPel*

2- *Mestrando PPGV- UFPel*

3- *Mestrando do ICB/UFG; Ex- Bolsista PIBIC/CNPq/UFPel*

4- *Professora Adjunta – Departamento de Patologia Animal- UFPel*

FERNANDES, Cristina Gevehr

Departamento de Patologia Animal – FV/UFPel

1 INTRODUÇÃO

Os sarcomas de tecidos moles (STM) são neoplasmas de origem mesenquimal que acometem todas as espécies domésticas (LIPTAK; FORREST, 2007). São considerados STM: fibrossarcomas, tumores de bainha de nervo periférico, mixossarcomas, lipossarcomas, leiomiossarcomas, rabiomiossarcomas, histiocitoma fibroso maligno, sarcoma sinovial e sarcoma indiferenciado. São caracterizados pela tendência à invasão local, alto grau de recorrência e pequena taxa de metástase (LUONG et al, 2006).

Atualmente alguns parâmetros são utilizados como fatores prognósticos a diferenciação celular, o índice mitótico e a quantidade de necrose (LIPTAK; FORREST, 2007).

Dentre os fatores necessários para o desenvolvimento de neoplasmas, a angiogênese tem sido descrita como essencial para o mesmo. Assim, a densidade microvascular em regiões de intensa angiogênese parece ter valor prognóstico para alguns neoplasmas (FOLKMAN, 2006).

No sentido de qualificar o diagnóstico dos STMs, fatores prognósticos adicionais devem ser definidos. Neste estudo foi avaliada a possibilidade do uso dos índices de microdensidade vascular como fator prognóstico para os STMs.

2 METODOLOGIA

Os dados para este estudo foram obtidos a partir do levantamento da casuística de sarcomas de tecido mole nos arquivos do LRD-UFPel no período de 1978 a 2008 dentre necropsias e biópsias de caninos e felinos. A fim de avaliar o tipo histológico dos sarcomas de tecido mole, foram realizados cortes histológicos de 5µm a partir dos blocos de parafina recuperados dos arquivos. As lâminas foram coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE) e pela coloração especial de Tricrômico de Masson (TM). Os neoplasmas foram classificados de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (HENDRICK et al., 1998).

Para fins comparativos, os STM foram reunidos em três grupos, sendo o primeiro de fibrossarcomas, o segundo de hemangiossarcomas e o terceiro composto por sarcomas musculares – leiomiossarcomas e rabiomiossarcomas. Os demais STM analisados foram individualizados pois suas características morfológicas e seu comportamento biológico impedem a junção de alguns STM a fim de formar outras categorias.

A densidade vascular, designada como geral, foi definida a partir da avaliação por microscopia óptica de cinco campos aleatórios de lâminas de HE em aumento de 400X. Analisou-se o diâmetro vascular estimado a partir da capacidade luminal de hemácias. Calculou-se a média de vascularização para cada uma das amostras. A mesma avaliação foi realizada em três zonas de intensa proliferação vascular - hot spot - nas mesmas lâminas. Os dois métodos (geral e hot spot) foram comparados entre si.

Os STMs foram categorizados quanto a diferenciação celular em: bem diferenciados, pouco diferenciados e indiferenciados. Em relação à necrose, a classificação empregada foi ausente, presente em menos que 50% do tumor e em mais que 50%. O índice mitótico foi definido pela média do número de mitoses em 5 campos aleatórios e pela média de mitoses em campos hot spot (3 campos com maior densidade de mitoses). Os métodos de determinação do índice mitótico foram comparados entre si.

Realizou-se a comparação dos métodos de contagem geral e em hot spot entre si, tanto para a microdensidade vascular como para o índice mitótico. Os dados de microdensidade vascular foram correlacionados com os parâmetros prognósticos tradicionais (grau histológico, quantidade de necrose e índice mitótico). Os dados foram analisados utilizando ANOVA, e como não apresentaram distribuição normal foram empregados métodos não paramétricos a fim de correlacionar os grupos deste estudo. Utilizaram-se o teste de análise de variância Kruskal-Wallis e o teste de Spearman.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Num total de 1668 casos de neoplasmas, 100 (5,99%) eram STMs, sendo 87 caninos e 13 felinos (Tabela 12).

Tabela 1 - Casuística dos sarcomas de tecidos moles em caninos e felinos no período de 1978 a 2008 segundo a classificação da OMS.

Tumores	Número de Casos(%)	
	Caninos	Felinos
Fibrossarcoma	20 (23)	4(30,77)
Mixossarcoma	2 (2,3)	-
Histiocitoma Fibroso Maligno	2 (2,3)	-
Lipossarcoma	6 (6,9)	
Leiomiossarcoma	8 (9,2)	
Rabdomiossarcoma	9 (10,32)	1 (7,7)
Hemangiossarcoma	34 (39,08)	4 (30,77)
Tumor de Bainha de Nervo Periférico	2 (2,3)	-
Sarcoma Sinovial	-	2 (15,38)
Sarcoma Indiferenciado	4 (4,6)	2 (15,38)
Total	87 (100)	13 (100)

A mensuração da densidade vascular tem sido útil para estimar a angiogênese e o diagnóstico em diversos neoplasmas humanos (UZZAN, 2004), definido-se que quanto maior a densidade vascular, pior o prognóstico (RESTUCCI et al., 2000). A técnica empregada pode ter aplicabilidade na rotina diagnóstica (LUONG et al, 2006) com baixo custo e agilidade.

No presente estudo, verificou-se que o hemangiossarcomas apresentaram maior média de vascularização do estroma fibrovascular, seguidos pelos sarcomas musculares e fibrossarcomas em ambas as técnicas empregadas (Tabela 2). Os sarcomas musculares não diferiram estatisticamente dos hemangiossarcomas e

fibrossarcomas. A mensuração vascular geral e de áreas hot spot apresentam correlação significativa ($r^2=0,98$; $p<0,001$).

Tabela 2 – Microdensidade vascular média nas áreas de vascularização geral e hot spot de sarcomas de tecidos moles

Categoria	Vascularização Geral *	Vascularização Hot Spot #
Fibrossarcomas	5,40 ± 6,7 a	6,44 ± 7,48 a
Hemangiossarcomas	16,65 ± 9,14 b	19,4 ± 10,85 b
Sarcomas Musculares	9,69 ± 4,74 ab	11,91 ± 5,5 ab

* $p = 0,05$; # $p = 0,06$; as letras se referem a comparação entre linhas da mesma coluna.

Os fatores de prognóstico usualmente empregados não apresentaram correlação com a densidade vascular. As mitoses nas áreas vasculares não foram significativas quando comparadas com a microdensidade vascular ($r^2=0,20$, $p=0,25$). Todavia, os índices mitóticos nas duas técnicas empregadas apresentaram forte correlação entre si ($r^2=0,95$, $p<0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Índice mitótico nas áreas de vascularização geral e hot spot das categorias de sarcomas de tecidos moles

Categoria	Mitose Geral (média ± desvio padrão)	Mitose Hot Spot (média ± desvio padrão)
Fibrossarcoma	3.36± 3.76	2.83±3.92
Hemangiosarcoma	3.85± 4.05	3.9± 4.13
Sarcomas Musculares	3.64± 3.41	3.36 ±3.26

A microdensidade vascular não diferiu significativamente entre os diferentes graus de necrose e diferenciação celular (Tabela 4).

Tabela 4 – Características de necrose e diferenciação celular nas áreas de vascularização geral e hot spot de todos sarcomas de tecidos moles

Marcadores*	Vasos Geral (média ± desvio padrão)	Vaso Hot Spot (média ± desvio padrão)
Necrose		
Ausente	7.60 ± 8.83	8.67 ± 9.66
Menor que 50%	9.28 ± 5.93	10.8 ± 6.5
Maior que 50%	14.49 ± 9.29	17.31 ± 10.84
Diferenciação Celular		
Bem diferenciado	17.06 ± 10.88	21.64 ± 13.61
Pouco Diferenciado	11.73 ± 9.69	13.748 ± 10.87
Indiferenciado	10.98 ± 5.03	12.57 ± 5.08

* $p > 0,05$

Técnicas de microdensidade vascular já foram empregadas com sucesso em neoplasmas como carcinomas (RESTUCCI et al., 2000; UZZAN et al., 2004) e sem sucesso em outros (WEST et al., 2005). No presente estudo, não foi possível correlacionar a microdensidade vascular com os outros parâmetros prognósticos usuais.

Não há um consenso em relação metodologia de quantificação das áreas de microdensidade vascular (HLATKY et al., 2002). No presente estudo, verificou-se que a utilização de contagem em áreas de intensa proliferação vascular pode ser aplicada de forma confiável a fim de determinar a vascularização de sarcomas de tecidos moles como descrito por Folkman (2006). A análise do índice mitótico

apresentou correlação positiva entre as duas metodologias observadas, caracterizando os campos hot spot como viáveis para quantificar mitoses nestes neoplasmas.

4 CONCLUSÕES

A microdensidade vascular em sarcomas de tecidos moles não apresenta correlação com outros fatores empregados usualmente. Verificou-se que houve correlação nos métodos de contagem de microdensidade vascular como de índice mitótico. Ainda, a partir deste método, pode ser empregada a visualização de campos de intensa proliferação vascular pelo observador, favorecendo a determinação não só do grau vascular como do índice mitótico. Devido ao comportamento biológico diferenciado de STM, cabe salientar que este método pode ser empregado, devendo ser direcionado a estudos em relação a sobrevivência de pacientes oncológicos.

5 REFERÊNCIA

- FOLKMAN, J. Angiogenesis. **Annual Review in Medicine**, v. 57, p.1–18, 2006.
- HENDRICK, M.J.; MAHAFFEY, E.A.; MOORE, F.M.; VOS, J.H.; WALDER, E.J. Histological Classification of Mesenchymal Tumors of Skin and Soft Tissues in WHO **International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals**. Armed Forces Institute of Pathology v. 2, 1998.
- HLATKY, L.; HAHNFELDT, P.; FOLKMAN, J. Clinical Application of Antiangiogenic Therapy: Microvessel Density, What It Does and Doesn't Tell Us **Journal of the National Cancer Institute**, v. 94, n. 12, p. 883-893, 2002.
- LIPTAK, J.M.; FORREST, L.J. Soft tissue sarcomas in: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**, Saint Louis. 4^aed., p 425-454, 2007.
- LUONG, R. H. et al. Prognostic significance of intratumoral microvessel density in canine soft-tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 43, p. 622– 631, 2006.
- RESTUCCI, B.; DE VICO, G.; MAIOLINO, P. Evaluation of Angiogenesis in canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion molecule Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v. 37, p. 297–301, 2000
- UZZAN, B. et al. Microvessel density as a prognostic factor in women with breast cancer: a systematic review of the literature and meta-analysis, **Cancer Research** v. 64, p. 2941–2955, 2004.
- WEST, C.C.; BROWN, N.J.; MANGHAM, D.C.; GRIMER, R.J.; REED, M.W.R. Microvessel density does not predict outcome in high grade soft tissue sarcoma. **European Journal of Surgical Oncology**,v. 31, p. 1198–1205, 2005.