



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

SARCOMA NO LOCAL DE INJEÇÃO EM FELINOS

ANA SOFIA VISTAS FERNANDES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI
Professor Doutor José Manuel Chéu
Limão Oliveira

Professora Doutora Maria Teresa
Mendes Vitor Villa de Brito

Professor Doutor Jorge Manuel
de Jesus Correia

ORIENTADOR
Professora Doutora Maria Teresa
Mendes Vitor Villa de Brito

CO-ORIENTADOR
Doutor Xavier Roura López

2009

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

SARCOMA NO LOCAL DE INJECCÃO EM FELINOS

ANA SOFIA VISTAS FERNANDES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI
Professor Doutor José Manuel Chéu
Limão Oliveira

Professora Doutora Maria Teresa
Mendes Vitor Villa de Brito

Professor Doutor Jorge Manuel
de Jesus Correia

ORIENTADOR
Professora Doutora Maria Teresa
Mendes Vitor Villa de Brito

CO-ORIENTADOR
Doutor Xavier Roura López

2009

LISBOA

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora de estágio, a Professora Doutora Maria Teresa Mendes Vitor Villa de Brito, por todo o carinho, disponibilidade e imprescindível ajuda na realização da minha dissertação de Mestrado.

Agradeço ao meu co-orientador, o Doutor Xavier Roura López, Médico Veterinário do Hospital Clínic Veterinari da Universidade Autònoma de Barcelona (HCV-UAB), por me permitir realizar o meu estágio no HCV, pela disponibilidade, transmissão de conhecimentos e pela constante boa disposição.

Agradeço ao Doutor Albert Lloret, Médico Veterinário do HCV- UAB, pela disponibilidade, ajuda e transmissão de conhecimentos.

Agradeço também ao Professor Doutor Félix García, Catedrático de Medicina e Cirurgia de Animais da UAB, pelos ensinamentos e atenção prestados.

Um especial agradecimento a Marta Planelles, Médica Veterinária do HCV-UAB, pelos conhecimentos, pela simpatia e pela amizade, pelo apoio e por todo o carinho demonstrado durante todo o meu estágio.

Agradeço a toda a equipa do Hospital Veterinário da Universidade Autònoma de Barcelona pelo ambiente de profissionalismo e da camaradagem vividas. Aos meus colegas de Estágio, por todas as experiências partilhadas pelas grandes amizades e por nada de menos positivo a apontar. Um especial obrigado à Mariana Pacheco (ICBAS), ao Hugo Lucas e à Maria Frada (UTAD).

Agradeço ao Luca Luciani, Médico Veterinário da Catollica, Itália, pela informação partilhada através de artigos científicos sobre o tema desta tese de mestrado.

Agradeço aos meus pais, porque sem eles seria impraticável realizar o estágio. Obrigada pelo apoio, carinho, paciência, e incentivo durante a prática hospitalar e essencialmente durante a escrita da dissertação.

Às minhas amigas, Sara Carola, Catarina Ferreira, Ana Cunha, Diana Leal e aos meus amigos, Rui Cabral, João Cavaleiro por terem estado comigo, principalmente nos momentos mais desafiantes da realização deste trabalho.

RESUMO

SARCOMA NO LOCAL DE INJEÇÃO EM FELINOS

Os sarcomas no local de injeção felinos (FISS), também denominados como sarcomas associados a vacinas (VAS), são tumores únicos em gatos. Actualmente, pensa-se que a inflamação crónica induzida por vacinação ou por outra injeção pode provocar o desenvolvimento do tumor em indivíduos geneticamente predispostos. Os FISS tem um comportamento biológico agressivo e a cirurgia sem terapêutica adjuvante pode levar a recorrências.

No presente estudo retrospectivo, 9 gatos com suspeita de sarcoma no local de injeção foram avaliados. Os machos constituíram 25% da amostra e as fêmeas 75%, a idade média dos gatos correspondeu a 8 anos e todas as formações nodulares apresentavam localização interescapular. A abordagem terapêutica consistiu numa intervenção cirúrgica agressiva, 4 gatos receberam quimioterapia (doxorrubicina IV, 1mg/kg) e um radioterapia (15 sessões de 4 Gy).

Os resultados da histopatologia revelaram 7 fibrossarcomas e uma celulite granulomatosa por corpo estranho. Os sarcomas foram posteriormente classificados segundo um esquema primariamente adaptado para cães e baseado na diferenciação celular, presença de necrose e índice mitótico.

Após a terapêutica instituída, dois gatos sobreviveram pelo menos 300 dias: 1 com um fibrossarcoma de grau I e 1 com uma celulite granulomatosa. Em 3 gatos, o tumor recidivou e/ou evidenciou metástases. O maior tempo de sobrevivência alcançado correspondeu a 31 meses.

Da análise dos dados podemos concluir que os sarcomas associados a vacinas são altamente agressivos mesmo tratados com cirurgia radical e com doxorrubicina ou radioterapia adjuvante. O melhor prognóstico é obtido em fibrossarcomas de grau I.

Palavras – chave: Sarcoma no local de injeção (*feline injection site sarcoma*, FISS); Sarcoma associado a vacinas (*vaccine –associated sarcoma*, VAS).

ABSTRACT
FELINE INJECTION SITE SARCOMA

Feline injection site sarcoma (FISS), also named, vaccine-associated sarcoma (VAS) is a special tumor in cats. The current thinking is that chronic inflammation induce by the vaccine or other injection could develop the tumor in an individual genetically predispose. FISS has an aggressive biology behavior and the surgery without adjuvant therapy can lead to recurrences.

In this retrospective study, 9 cats suspicious of feline injection site sarcoma have been evaluated. The males were 25% and females 75%, the median age was 8 years and all of the nodular formations appeared on the interscapular location. The therapy included an aggressive surgery, 4 cats received chemotherapy (doxorubicin IV, 1mg/kg) and one radiotherapy (15 sessions of 4 Gy each).

The results revealed 7 fibrosarcomas and one celulite granulomatosa. Later, the sarcomas were classified according to a system, primarily adapted to dogs and based on degree of differentiation, mitotic activity, and amount of tumor necrosis.

After the therapeutics, two cats survived at least 300 days: 1 with fibrossarcoma grade I and 1 with celulite granulomatosa, 3 cats developed recurrence or metastasis. The best survival time achieved was 31 mouths.

After dada analysis, we concluded that vaccine associated sarcoma is highly aggressive, independently of the use of surgery with doxorubicin or radiotherapy. The best prognosis is seen in fibrossarcoma grade I.

Keywords: Feline injection site Sarcoma (FISS); Vaccine-associated Sarcoma (VAS).

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice Geral	vii
Índice de Figuras	vii
Índice de Gráficos	viii
Índice de Tabelas	viii
Índice de Abreviaturas e Símbolos	ix
Breve descrição das actividades realizadas durante o estágio curricular	xi

I. Revisão Bibliográfica sobre Sarcoma no Local de Injecção em Felinos

1. Introdução	1
2. Breve História	1
3. Incidência e Epidemiologia	3
4. Etiologia	3
5. Patogenia	7
6. Apresentação Clínica	9
7. Diagnóstico	11
8. Caracterização histopatológica do FISS	13
9. Tratamento	16
9.1 Cirurgia	16
9.2 Radioterapia	19
9.3. Quimioterapia	20
9.4. Outros tratamentos	23
9.4.1. Imunoterapia	23
9.4.2. <i>Células Alvo</i> - Inibidores da tirosina quinase	24
9.4.3. Hipertermia	25
9.5. Tratamento de Suporte	25
10. Prognóstico	25
11. Profilaxia	28
12. Educação do Dono	29

II. Estudo retrospectivo em 9 gatos com suspeita de Sarcoma no Local de Injecção

1. Material e Métodos	30
2. Resultados	33
2.1. Identificação da Amostra	33
2.2. História Clínica	33
2.3. Apresentação Clínica	34
2.4. Exames de Diagnóstico e Exames Complementares	35
2.5. Terapêutica Instituída	40
2.6. Evolução clínica	43
3. Discussão	47
4. Conclusão	55

Bibliografia	57
---------------------------	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Imagem macroscópica de FISS.	9
Figura 2- Esquema representativo das projecções <i>finger-like</i> para os planos musculares de um sarcoma no local de injeccção	10
Figura 3- Imagem topográfica de um FISS	11
Figura 4- Imagem radiográfica de um FISS	12
Figura 5- Aspectos microscópicos dos sarcomas associados a vacinas	14
Figura 6- Exérese cirúrgica de um FISS	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Frequência relativa do sexo dos gatos.....	33
Gráfico 2- Frequência absoluta da idade dos animais no ano em que se identificou a massa interescapular.	33
Gráfico 3- Estado imunitário dos 9 animais em estudo.	34
Gráfico 4- Diâmetro das massas apresentadas pelos 9 gatos em estudo, medido durante a palpação dos nódulos.....	35
Gráfico 5- Exames de diagnóstico e exames complementares	35
Gráfico 6- Comparação entre inflamação e células gigantes multinucleadas com o grau histológico.	40
Gráfico 7- Diferentes abordagens terapêuticas a que foram submetidos os 8 felídeos	40
Gráfico 8- Resposta terapêutica de 7 gatos que finalizaram o tratamento instituído	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Variáveis utilizadas para determinar o grau do sarcoma.....	15
Tabela 2- Prognóstico para os diferentes tratamentos de do sarcoma no local de injeccção	26
Tabela 3- Recomendações da VAFSTF para a prevenção de FISS.	29
Tabela 4- Resultado das avaliações histológicas.	37
Tabela 5- Critérios para a classificação histológica das 12 amostras de fibrossarcomas.....	39
Tabela 6- Considerações cirúrgicas	41
Tabela 7- Considerações da quimioterapia.....	42
Tabela 8- Sumário da evolução clínica dos casos	44

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – Percentagem
µl – Microlitro
ADN – Ácido Desoxirribonucleico
APMVEAC – Associação Portuguesa de M. Veterinários Especialistas em Animais de Companhia
CGC – Celulite granulomatosa de corpo estranho
CGM – Células gigantes multinucleadas
CI – Intervalo de confiança
Cm – Centímetros
CT – Células tumorais
Cx – Cirurgia
Dl – Decilitro
DP – Doença progressiva
Dox – Doxorrubicina
Doxil – Forma encapsulada-lipossoma de doxorrubicina
E.U. – Estados Unidos da América
FE – Fêmea esterilizada
FeLV – Vírus da leucemia felina
FeSV – Vírus do sarcoma felino
FF – Fêmea fértil
FGF-β – *Beta Fibroblast Growth Factor*
FISS – Sarcoma no local de injeção
FIV – Vírus da imunodeficiência felina
FS – Fibrossarcoma
FVRCP – Vacina da rinotraqueíte felina, calicivírus e do vírus da panleucopénia
HFM – Histiocitoma fibroso maligno
IFN – Interferão
IFN-γ – Interferão gamma
IL-2 – Interleucina 2
ILD – Intervalo médio livre doença
IR – Índice de recorrência
IM – Índice de metástases
IV – Intravenoso
L1 – Primeira vértebra lombar
L2 – Segunda vértebra lombar
Kg – Kilograma
M – Metástases
M² – Metro quadrado
MC – Macho castrado
Mg – Miligrama
MHC – Complexo maior de histocompatibilidade
NaCl – Cloreto de sódio
NE – média não encontrada
PCR – *Polymerase chain reaction*
PDGF – Factor de crescimento derivado de plaquetas
PDGFR – Receptor do factor de crescimento derivado de plaquetas
PO – Por via oral
Preop – Pré-operatório
Posop – Pós-operatório
Quimio – Qumioterapia

R – Recorrência tumoral
Radio – Radioterapia
rFeIFN- ω – Interferão felino recombinante
RM – Resposta maior
RNM- Ressonância magnética
RP – Resposta Parcial
RT – Radioterapia
SFF – Soro fisiológico
SID – A cada 24 horas
SR – Sem registo
STAT3– tradutor de sinal e activador de transcrição 3
Sx – Cirurgia
TC- tomografia computadorizada
TGF- α – *alpha Transforming Growth Factor*
Tri – Vacina trivalente
TS – tempo de sobrevivência total
Tto –tratamento
UAB – Universidade Autónoma de Barcelona
U I– Unidades Internacionais
VAFSTF –*Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force*
VAS – sarcoma associado a vacina

BREVE DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular foi desenvolvido no Hospital Escolar da Faculdade de Veterinária, da Universidade Autónoma de Barcelona (UAB), Espanha, sob a orientação do Doutor Xavier Roura López, e com o acompanhamento da Professora Doutora Maria Teresa Mendes Vitor Villa de Brito (FMV-UTL). O estágio teve início no dia 29 de Setembro de 2008 e terminou no dia 15 de Janeiro de 2009 com uma carga horária total de 600 horas (inicialmente o fim estava previsto para o dia 31 de Dezembro de 2008).

O programa de estágio compreendeu rotações semanais pelos diversos serviços do hospital nomeadamente em Medicina Interna (210 horas dispendidas), Unidade de Cuidados Intensivos (120 horas), Imagiologia (120 horas), Neurologia (40 horas), Dermatologia (40 horas), Oftalmologia (20 horas) e em Cirurgia (40 horas).

No serviço de Medicina Interna, a aluna assistiu e participou em consultas de especialidades como cardiologia, endocrinologia, gastroenterologia, nefrologia, oncologia e, entre outras, urologia. Durante as consultas, com a supervisão e auxílio do Interno e/ou Médico Veterinário Residente, realizou a história pregressa, o exame físico e alguns exames complementares de diagnóstico (ex, analíticas sanguíneas, radiografias, electrocardiogramas, etc.). A seguir discutiu o diagnóstico diferencial, o plano diagnóstico, o diagnóstico definitivo e por último a abordagem terapêutica. Ainda no mesmo serviço, a aluna pode participar em sessões de quimioterapia que incluíam a preparação do quimioterápico e a monitorização do animal aquando do tratamento, o que veio a desenvolver o interesse já existente pela especialidade de Oncologia.

O serviço de Unidade de Cuidados Intensivos consistiu na realização (a todos os animais internados e a cada 8 horas) de exames de estado geral, administração das medicações, colocação de cateteres endovenosos, recolha de amostras de sangue para análise hematológica e bioquímica sanguíneas, alimentação dos animais, cuidados de higiene e bem-estar animal, e na monitorização constante dos animais mais críticos. Num estudo de investigação científica para o tratamento de diabetes mellitus em humanos, a aluna, com a supervisão da Interna do serviço, ficou responsável por controlar as crises de hipoglicémia de um canídeo de raça beagle.

No serviço de imagiologia, a aluna pode assistir e participar nos exames radiográficos, ecográficos e topográficos: tomografias computadorizadas e ressonâncias magnéticas.

No serviço de neurologia, a realização de exames neurológicos e a sua interpretação foram uma constante. Muitos dos animais que se apresentavam à consulta tinham hérnias discais, síndromes vestibulares periféricas ou crises convulsivas.

Nos serviços de Dermatologia e Oftalmologia, a aluna assistiu a consultas externas e de referência, realizadas pela Médica Veterinária residente.

Em Cirurgia, juntamente com o Interno, a aluna participou na preparação do animal no pré-operatório, na monitorização da anestesia e no pós-operatório. Posteriormente, a aluna pode ajudar na remoção de pontos, aplicação de pensos e remoção de drenos.

Adicionalmente, a autora teve a oportunidade de participar em “*Journals*”, que consistiam na apresentação de artigos científicos e na discussão de temas variados e dirigidos à prática clínica (ex, coagulopatias, transfusões sanguíneas, insuficiências renais, doenças endócrinas como hipotiroidismo e hipertiroidismo, protocolos anestésicos, etc.).

I REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE SARCOMA NO LOCAL DE INJECCÃO EM FELINOS

1. Introdução

O Sarcoma no Local de Injecção em Felinos foi o tema escolhido para a dissertação da Tese de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, por ser uma afecção que representa um problema grave em gatos, devido às suas consequências éticas associadas à doença e por estar possivelmente ligado a certos tipos de vacinas e a processos de vacinação. Por outro lado, trata-se de um tumor muito agressivo que não responde bem ao tratamento, pelo que são necessários mais estudos de investigação para alcançar a melhor abordagem terapêutica.

A dissertação encontra-se dividida em duas partes; a primeira parte consiste numa revisão bibliográfica sobre os Sarcomas no Local de Injecção em Felinos e a segunda parte num estudo retrospectivo de todos os casos suspeitos deste tipo de sarcomas observados durante o período de estágio curricular.

Os sarcomas nos locais de injecção (*feline injection site sarcoma*, FISS), também denominados como sarcomas associados a vacinas (*vaccine-associated sarcomas*, VAS) representam um grupo de neoplasias heterogéneas e clinicamente agressivas que podem desenvolver-se nos locais de injecção em gatos (Kass *et al.*, 2003).

As observações clínicas e as análises epidemiológicas conduzidas por mais de uma década têm estabelecido a existência da relação entre a vacinação e o desenvolvimento de sarcomas de tecido mole nos locais de injecção (Banerji & Kanjilal, 2006).

No entanto, ainda existe alguma controvérsia associada a este tipo de tumores.

A associação causa e efeito entre uma exposição (ex., uma vacina) e um *outcome* (ex., um sarcoma) só pode ser estabelecida com certeza científica utilizando métodos experimentais que controlam todos os potenciais factores (...) mas não significa que não devemos actuar no que já descobrimos. Naturalmente, deve-se actuar.

(Vaccine – Associated Feline Sarcoma Task Force [VAFSTF], 2005, p.1822, tradução livre).

2. Breve História

Em Outubro de 1991 uma carta para o editor no *Journal of the American Veterinary Medical Association*, alertava para “a possibilidade dos fibrossarcomas poderem aparecer nos locais de injecção em gatos” (Hendrick & Goldschmidt, 1991).

Nessa carta, Mattie Hendrick e Michael Goldschmidt do laboratório de patologia da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade da Pennsylvania, descreviam que tinham constatado, desde 1987 a 1991, um aumento em 61% da população de biopsias de fibrossarcomas felinos, localizados sobretudo nas regiões interescapular e cervical dorsal. Por

outro lado, nenhum aumento na proporção de fibrossarcomas em locais não associados a vacinas foi registado (ex., cabeça, parte distal dos membros).

O reconhecimento da possível relação entre a vacinação e o desenvolvimento do sarcoma seguiu-se após a aprovação em 1985 de uma vacina morta, e com alumínio como adjuvante, contra o vírus da raiva (substituindo as vacinas vivas-modificadas) e a introdução, no mesmo ano, da vacina morta e também com adjuvante de alumínio contra o vírus da leucemia felina (FeLV). A alteração das vacinas modificadas vivas para vacinas mortas foi requerida devido à preocupação de que as primeiras podiam desenvolver raiva nos animais imunodeprimidos (VAFSTF, 2005).

Desde então, vários estudos têm sido conduzidos para estabelecer uma associação entre a vacinação e o desenvolvimento subsequente do sarcoma.

Um desses estudos foi realizado por Kass e colaboradores (1993), que compararam os sarcomas em locais tipicamente utilizados para vacinação com sarcomas que se desenvolveram noutras localizações (ex., cabeça, parte distal dos membros).

A razão de probabilidades (*odds ratio*) para o desenvolvimento de sarcoma no local de vacinação após a vacina da FeLV, foi de 5.49 (95% de intervalo de confiança [CI]:1.98-15.24) e o *odds ratio* após a vacinação com o vírus da raiva foi de 1.99 (95% [CI]:0.72-5.54). Os resultados deste estudo indicaram que existe uma associação significativa entre o desenvolvimento do fibrossarcoma e a vacinação prévia contra o vírus da FeLV e do vírus contra a raiva, e também revelaram que o risco de desenvolvimento tumoral, após a administração de uma única vacina na região interescapular ou cervical, é de 50% quando comparado com gatos que não receberam nenhuma vacina (Kass, Barnes, Spangler, Chomel & Culbertson, 1993).

Um outro estudo retrospectivo, em que se avaliaram 239 gatos, comparando aqueles com sarcomas no local de injeção com os que apresentavam tumores noutros locais, observou-se que os primeiros eram significativamente mais jovens e os seus tumores significativamente maiores que os dos gatos com sarcomas não associados a vacinas. Os autores também observaram que os tumores nos locais de injeção recorriam mais rapidamente e mais frequentemente que os sarcomas noutros locais e o intervalo entre a vacinação e o desenvolvimento do sarcoma variava desde 3 meses a 3 anos (Hendrick *et al.*, 1994).

Estes foram dos primeiros estudos epidemiológicos a fornecerem a evidência circunstancial sobre o desenvolvimento de sarcomas nos locais de vacinação, nos anos seguintes, mais documentos sobre o tumor foram publicados e novas descobertas foram encontradas tanto a nível da etiologia, patologia e da abordagem terapêutica (Henry, 2001). Devido aos factos obtidos, em 1996, foi criado o grupo *Vaccine Associated Feline Sarcoma Task Force*

(VAFSTF) através de esforços combinados entre a *American Veterinary Medical Association*, *American Animal Hospital Association*, *American Association of Feline Practitioners* e a *Veterinary Cancer Society*. Os membros que compõem o grupo são representantes das associações acima mencionadas, investigadores, clínicos veterinários, e representantes do Departamento da Agricultura e *Animal Health Institute* dos Estados Unidos da América. O objectivo da VAFSTF consiste na investigação de múltiplos projectos na área de epidemiologia, etiologia e tratamento desta doença e na educação do público em relação aos sarcomas no local de injecção. As recomendações referidas por este grupo para a melhor abordagem de diagnóstico e de tratamento do sarcoma no local de injecção estão referidas no anexo 1.

3. Incidência e Epidemiologia

A incidência do sarcoma no local de injecção foi inicialmente estimada para ser aproximadamente de 1 a 10 por 10.000 gatos (Macy & Hendrick, 1996; O'Rourke, 2004).

Um recente estudo prospectivo com a duração de 2 anos, assistido por via World Wide Web pelo mundo inteiro, com um serviço epidemiológico de 31.671 gatos vacinados registou o desenvolvimento de reacções inflamatórias após a injecção de vacinas em 73 gatos (12 reacções por 10.000 doses vacinais). Os sarcomas no local de injecção ocorreram num índice de 0.63 sarcomas para 10.000 gatos (95% CI:0.08-2.3 por 10.000) ou 3.2 sarcomas para 10.000 doses de vacinas (95% CI: 0.04-1.2 por 10.000) (Gobar & Kass, 2002).

Estas novas incidências para o FISS sugerem que esta deve ser relativamente baixa, os resultados não pareceram ser compatíveis com uma incidência maior que aproximadamente 1 em 5.000 gatos (Kirpensteijn, 2006).

Os sarcomas associados a vacinas foram pela primeira vez descritos na América do Norte, mas outros países (Inglaterra, Espanha, República Checa, Itália, Japão, Austrália, etc.) também têm publicado documentos sobre FISS (VAFSTF, 2005).

4. Etiologia

Para compreender a origem etiológica do sarcoma no local de injecção, algumas questões importantes terão de ser respondidas:

O que terá mudado nas nossas práticas de vacinação que possa ter levado a um aumento na incidência deste sarcoma?

A primeira suspeita incidiu sobre o possível papel etiológico dos sais de alumínio, incluídos como adjuvantes em algumas vacinas e encontrados em sarcomas de alguns pacientes. Com

efeito, Macy e Hendrick (1996) observaram que o alumínio contido nas vacinas da FeLV induzia uma maior reacção inflamatória local, quando comparada com a reacção induzida por estas vacinas sem o mesmo adjuvante, embora tal situação não se verificasse para as vacinas da raiva.

Macy (1995, 1997) avaliou a aparência histológica dos locais de vacinação 21 dias após a administração de um número de vacinas (6 vacinas felinas inactivadas, 3 raiva e 3 FeLV) em 36 gatos. Os resultados indicaram que as vacinas sem adjuvante não induzem uma reacção maior que aquela induzida pela administração de uma solução salina (0.9% NaCl) em gatos do grupo de controlo. Quando as classes de adjuvantes foram comparadas (ex, uma comparação entre produtos contendo alumínio com produtos contendo carpobol), existia uma diferença na qualidade da reacção. Observou-se a possível existência de uma maior necrose com produtos contendo alumínio, embora existisse mais edema após a administração de produtos com carpobol.

No entanto, estudos epidemiológicos posteriores, não conseguiram demonstrar uma relação significativa entre as vacinas que contêm alumínio e os FISS, pelo que o papel exacto deste adjuvante no desenvolvimento do tumor ainda não se encontra completamente elucidado (Kirpensteijn, 2006). Por outro lado, o alumínio nem sempre foi encontrado nos sarcomas associados a vacinas (Dubielzig, Hawkings & Miller, 1993; Esplin, Bigelow, McGill & Wilson, 1999), e McGill também só encontrou alumínio em metade dos sarcomas observados (citado por VAFSTF, 2005).

As vacinas contra o vírus da FeLV e da Raiva continuam a ser as mais frequentemente associadas com a formação do sarcoma, no entanto, outras vacinas, incluindo a da rinotraqueíte felina, calicivirus e vírus da panleucopénia (FVRCP) também têm sido implicadas no desenvolvimento do tumor. Num estudo foram registados 14 gatos com FISS, e que, anteriormente tinham sido vacinados com FVRCP. Os mesmos gatos não tinham recebido a vacina contra a FeLV, e a vacina contra o vírus da raiva tinha sido administrada no membro posterior (Lester, Clement & Burt, 1996, citado por Hauck, 2003). De Man e Ducatelle (2007) publicaram um artigo, documentando um caso único de um fibrossarcoma bilateral num gato após a vacinação com o parvo-, herpes- e calicivirus.

Uma especial atenção também deve ser dada à nova vacina contra *giardia*, esta poderá estar associada a um maior risco de desenvolvimento de FISS, comparativamente com a vacina contra o vírus da raiva ou da FeLV, considerando que a extensão ou o tipo de inflamação no local da vacina são importantes para o desenvolvimento do sarcoma no local de injeção (VAFSTF, 2005).

As vacinas serão as únicas responsáveis pelo desenvolvimento destes tumores ou existirão outros factores de risco associados?

Kass e colaboradores (2003) desenvolveram um estudo para determinar se diferentes tipos específicos de vacinas, diferentes práticas de vacinação, outros produtos injectáveis ou outros factores relacionados com o hospedeiro poderiam estar associados com a incidência de FISS. Os resultados não revelaram nenhuma associação entre o fabricante ou tipo de vacinas com o grupo de gatos com FISS. Esta observação foi consistente para todos os grupos de vacinas de antigénio estudadas.

As práticas de vacinação como a utilização e agitação de frascos multidose, a mistura de vacinas numa única seringa, o tipo de seringa, a reutilização de agulhas e seringas, o calibre da agulha, a técnica de injeção (ex, se a área é ou não massajada após a vacinação) também não foram associados com o desenvolvimento do sarcoma.

A única excepção corresponde à da temperatura da vacina antes da injeção. Quando as vacinas frias são administradas poderá haver um risco mais elevado quando são comparadas com vacinas à temperatura ambiente (Kass *et al*, 2003).

E outros produtos injectáveis. Poderão outras injeções provocar o desenvolvimento de FISS?

O estudo desenvolvido por Kass e colaboradores (2003) não excluiu a possibilidade de que outras medicações injectáveis, para além das vacinas, possam estar implicadas no desenvolvimento de FISS. Segundo estes autores as duas classes de medicações injectáveis mais frequentemente implicadas são o acetato de metilprednisolona (corticóide de longa duração) e a penicilina (muitas vezes injectada numa forma de longa duração). No entanto, o potencial destes fármacos para o desenvolvimento de sarcomas parece ser limitado, uma vez que o intervalo de tempo entre a injeção e o aparecimento do tumor foi superior a 2 anos (Kass *et al.*, 2003).

Esplin e colaboradores (1999) também registaram um caso de fibrossarcoma no local de injeção associado à administração de lufenuron. Num estudo subsequente, seis ratos foram analisados após a administração subcutânea de lufenuron, tendo-se verificado em todos os animais, reacções nos locais de injeção. A natureza destas reacções foi, no entanto, diferente da induzida pelas vacinas: o lufenuron induziu primariamente uma infiltração de macrófagos, em vez de uma infiltração linfocítica (VAFSTF, 2005).

Recentemente, um fibrossarcoma associado à introdução de um dispositivo de identificação electrónica foi identificado num gato. Como o animal tinha sido previamente vacinado neste local, não foi possível estabelecer uma causa definitiva do fibrossarcoma. Mas, tumores

associados a estes dispositivos, também têm sido observados em cães e em roedores (Daly *et al.* 2008).

Como os estudos epidemiológicos com a administração parentérica de penicilinas de longa duração ou lufenuron não têm sido tão exaustivos como os estudos existentes para as vacinas, é difícil determinar se a administração destes produtos poderá estar associada com a formação do sarcoma (VAFSTF, 2005).

O que será único nos gatos que pode levar à formação do tumor nestes locais?

O papel dos vírus felinos no desenvolvimento de FISS tem sido investigado como causa específica da espécie nestes tumores. Alguns vírus potencialmente oncogénicos, incluindo o vírus da leucemia felina (FeLV), o vírus da imunodeficiência felina (FIV), poliomavírus, papilomavírus e FeLV endógeno têm sido testados (Hauck, 2003). Num estudo com 130 FISS, a imunohistoquímica e PCR (*polymerase chain reaction*) não conseguiram detectar a presença de FeLV ou do vírus do sarcoma felino (FeSV) (Ellis *et al.*, 1996). Noutros estudos, 50 FISS foram comparados com 50 sarcomas em locais de não injeção para a presença de FeLV endógeno, e nenhuma diferença foi encontrada (Kidney, Haines, Ellis & Burnham, 2001). A evidência da infecção com FIV, poliomavírus ou papilomavírus também não foi detectada nestes tumores. Dado este resultado, é improvável que algum destes vírus seja capaz de desenvolver FISS (Kidney, Ellis, Haines & Jackson, 2000).

A baixa prevalência destes tumores também sugere a existência de factores ligados ao hospedeiro que possam ser considerados pré-requisitos para o desenvolvimento do sarcoma (Nambiar, Jackson, Ellis, Chelack, Kidney & Haines, 2001).

5. Patogenia

A hipótese mais sugerida para a patogenia do sarcoma no local de injeção tem sido a reacção inflamatória provocada pelos componentes vacinais ou por outro material estranho injectado a nível subcutâneo (Martano *et al.*, 2004).

Os investigadores têm reconhecido, ao longo do tempo que a inflamação, a irritação e/ou as feridas são promotores do desenvolvimento tumoral, existindo exemplos tanto na literatura humana como na veterinária. A reparação instável de fracturas com implantes metálicos, assim como a má cicatrização de feridas provocadas por queimaduras, foram relacionadas com o desenvolvimento de tumor em muitas espécies de mamíferos (VAFSTF, 2005).

Alguns gatos com lesões oculares ao nível do cristalino, também podem desenvolver sarcomas a partir da transformação do epitélio da lente (Zeiss, Johnson & Dubielzig, 2003, citado por VAFSTF, 2005).

Os FISSs são histologicamente semelhantes aos tumores mesenquimatosos que se desenvolvem nos olhos traumatizados dos gatos sugerindo uma patogenia comum da inflamação/cicatrização da ferida e o seu desenvolvimento. A presença de células inflamatórias, fibroblastos e miofibroblastos envolvendo os sarcomas associados a vacinas também suporta esta hipótese (Kidney, 2008).

A descoberta de células inflamatórias nos sarcomas nos locais de injeção, em que 59.1% dos FISS apresentavam abundante inflamação, em contraste com a ausência da inflamação em fibrossarcomas não associados a vacinas, sugere que a reação inflamatória desempenha um papel importante na oncogênese dos FISS (Couto, Griffey, Duarte & Madewell, 2002).

Existe também alguma evidência da contribuição de citocinas inflamatórias e de mediadores da cicatrização das feridas na carcinogênese. Durante o processo da cicatrização da ferida, consoante o ambiente externo, as citocinas são libertadas e as células decidem quando devem entrar em replicação. Num certo indivíduo com uma certa predisposição genética, a replicação celular pode perder o controlo e começar um processo neoplásico. No entanto, ainda não foi possível demonstrar um perfil específico de citocinas mais provável a induzir um evento neoplásico nos gatos com FISS (VAFSTF, 2005).

À parte do componente celular inflamatório, observa-se, nos fibrossarcomas felinos, a presença de células fusiformes organizadas em fascículos. Estas células têm sido descritas imunohistoquimicamente e ultraestruturalmente como fibroblastos e miofibroblastos (Hendrick & Brooks, 1994; Madewell, Griffey, McEntee, Leppert & Munn, 2001; Nieto, Sánchez, Martínéz & Rollánd 2003). A origem exacta dos miofibroblastos é controversa, mas muitos autores acreditam que representa um “estádio transicional” através do qual os fibroblastos ou outras células mesenquimatosas ultrapassam durante o processo de cicatrização da ferida (Hendrick & Hershey, 2009).

Adicionalmente, alguns estudos têm salientado a importância de factores genéticos no desenvolvimento de FISS nos gatos. Estes factores incluem a expressão anormal do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e de alterações no gene supressor de tumor p53 e de outros factores de crescimento (*fibroblast growth factor- b*, FGF-b; *transforming growth factor- α* , TGF- α) (Kirpensteijn, 2006).

Hendrick e Books (1994) verificaram que a maioria dos FISS apresentava um aumento da expressão do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e do seu receptor, comparativamente com os sarcomas não associados a vacinas. MacEwen (citado por VAFSTF, 2005) cultivou linhas celulares de FISS, em experiências moleculares, e também verificou a sobreexpressão quer de PDGF e quer do seu receptor.

Em circunstâncias normais, os fibroblastos de qualquer tecido possuem factores de crescimento derivados de plaquetas. Mas nos sarcomas associados a vacinas, ocorre aparentemente um processo de sinalização autócrina, em que as próprias células tumorais começam a produzir PDGF ou as células inflamatórias presentes na ferida libertam o PDGF, o qual alimenta a replicação destes fibroblastos (VAFSTF, 2005). Uma teoria propõe que os linfócitos nos FISS podem produzir PDGF para recrutar macrófagos e levar à proliferação de fibroblastos, os quais por sua vez podem induzir a sobreexpressão de *c-jun*, um proto-oncogene associado à proliferação celular e à oncogénese *in vitro* (McEntee & Page 2001).

Algum interesse considerável tem sido gerado em relação à mutação do gene supressor de tumor p53 no desenvolvimento de FISS. O gene supressor de tumor p53 codifica uma proteína nuclear que desempenha um papel importante na regulação do ciclo celular: em resposta a uma lesão no ADN, o p53 aumenta, prevenindo a célula de progredir através do ciclo celular e permitindo a reparação do ADN antes da contínua replicação celular (Vogelstein & Kinzler, 1992, citado por Hershey, Dubielzig, Padilla & Helfand, 2005). Se a lesão no ADN for demasiado grande, o p53 induz apoptose, impedindo que defeitos no código genético sejam transmitidos à geração seguinte. Nas células em que o p53 se encontra ausente ou mutado, pode ocorrer a formação de clones aberrantes e a transformação maligna (Harris, 1996; Vogelstein & Kinzler, 1992, citado por Hershey *et al.*, 2005)

Nos sarcomas associados a vacinas a expressão anormal de p53 parece ser uma característica comum, razão pela qual a mutação deste gene supressor de tumor pode desempenhar um papel na patogenia destes sarcomas. Hershey e colaboradores (2005) avaliaram 80 FISSs para determinar a expressão imunohistoquímica do gene supressor de tumor p53. Os resultados revelaram que 81% dos tumores exibem imunoreactividade positiva com um anticorpo monoclonal que reconhece especificamente o p53 mutado. A detecção imunohistoquímica de p53 poderá oferecer uma ferramenta útil para o prognóstico de FISS e, através da detecção molecular de p53 mutante, uma nova oportunidade terapêutica.

Outros factores de crescimento (FGF-b e TGF- α) também têm sido implicados no desenvolvimento do sarcoma no local de injeção. Nieto e colaboradores (2003) analisaram 15 sarcomas felinos associados a vacinas para determinar a expressão imunohistoquímica da proteína p53 e dos factores de crescimento FGF-b e TGF- α . A sobre expressão de p53 foi observada no núcleo das células tumorais em 56% dos sarcomas e a expressão de FGF-b e TGF- α foi encontrada no citoplasma das células tumorais em percentagens significativas de 80% e 86% respectivamente.

Os novos estudos em gatos com FISS suportam a evidência existente em humanos e em patologia experimental do potencial papel de STAT3 (tradutor de sinal e promotor da

transcrição) na oncogénese e progressão do tumor. O STAT3 é um factor de transcrição citoplasmático envolvido no ciclo celular, na transição das fases G1 a S, e é induzido por citoquinas e factores de crescimento (Petterino *et al.*, 2006).

Assim, hipoteticamente, os FISSs podem desenvolver-se a partir de uma reacção inflamatória ou imunológica inapropriada, associada à presença de elementos vacinais de outros produtos injectáveis, que podem levar à transformação neoplásica de fibroblastos e miofibroblastos residentes, em gatos geneticamente predispostos (Katayama *et al.*, 2004). E esta transformação neoplásica poderá ser accionada através de mecanismos que incluem a activação de oncogenes e a inactivação de genes supressores de tumor (Nieto *et al.*, 2003).

6. Apresentação clínica

A apresentação típica do sarcoma associado a vacinas é de uma massa emergindo numa área correspondente a uma prévia vacinação (Henry, 2001) (figura 1).

Figura 1-Imagem de um FISS. Fotografia original cedida pelo Professor Doutor Félix Garcia (HCV-UAB).



Legenda: FISS com 4 cm de diâmetro de localização interescapular.

Ao exame físico, a palpação do tumor revela uma massa bem demarcada a nível subcutâneo, parcialmente encapsulada, não dolorosa, com uma forma solitária ou difusa e em contacto com o osso adjacente. Por vezes, é também detectado uma área central contendo líquido aquoso ou mucoso (Hendrick, 1999).

A localização anatómica mais frequentemente observada para o desenvolvimento dos sarcomas associados a vacinas é a região interescapular, a qual é o local normalmente utilizado para vacinações ou injecções. Segundo um estudo epidemiológico, realizado por Kass e colaboradores (2003), 84% dos sarcomas nos locais de injecção desenvolvem-se na

região interescapular, mas também podem surgir noutras áreas como a região femoral (6%), o flanco (5%), a região lombar (3%) e glúteos (2%).

O tamanho da massa é variável, mas em média ronda os 4 cm de diâmetro (Moore & Ogilvie, 2001).

O tumor pode ser observado em animais jovens com 3 anos idade, mas a média das idades ronda os 8,1 anos. (Dubielzig *et al.*, 1993). Segundo Hendrick (1999) não existe predisposição para o género.

Em relação ao comportamento biológico, o sarcoma no local de injeção caracteriza-se pela sua natureza agressiva comparativamente com os outros sarcomas de tecido mole.

Os FISSs são localmente invasivos estendendo-se profundamente para o tecido adjacente através de projecções tipo “língua” (Hendrick & Hershey, 2009), também denominadas “*finger-like*” (Cohen, Wright, Brawner, Smith, Henderson & Behrend, 2001) e apresentam elevados índices de crescimento e de recorrência tumoral (figura 2). Após a excisão cirúrgica e mesmo com a administração de terapêuticas adjuvantes (quimioterapia e/ou radioterapia), o índice de recorrência é de 30 a 70% (Cohen *et al.*, 2001).

Figura 2- Esquema representativo das projecções *finger-like* para os planos musculares de um sarcoma no local de injeção. (Adaptado de Henry, 2001).



O índice de metástases é, no entanto, variável e situa-se entre 0% a 28%. Os índices mais elevados ocorrem em gatos com tumores recorrentes ou em tratamento com radioterapia (Hendrick & Hershey, 2009). Os resultados de um estudo desenvolvido em 92 gatos com FISS revelaram em 21,7% (20/92) a presença de metástases. A maioria das quais foi observada nos pulmões (n=18), mas também nos linfonodos (2), rim (2), baço (1), intestino (1) e na pele (1) (Kass *et al.*, 2003).

7. Diagnóstico

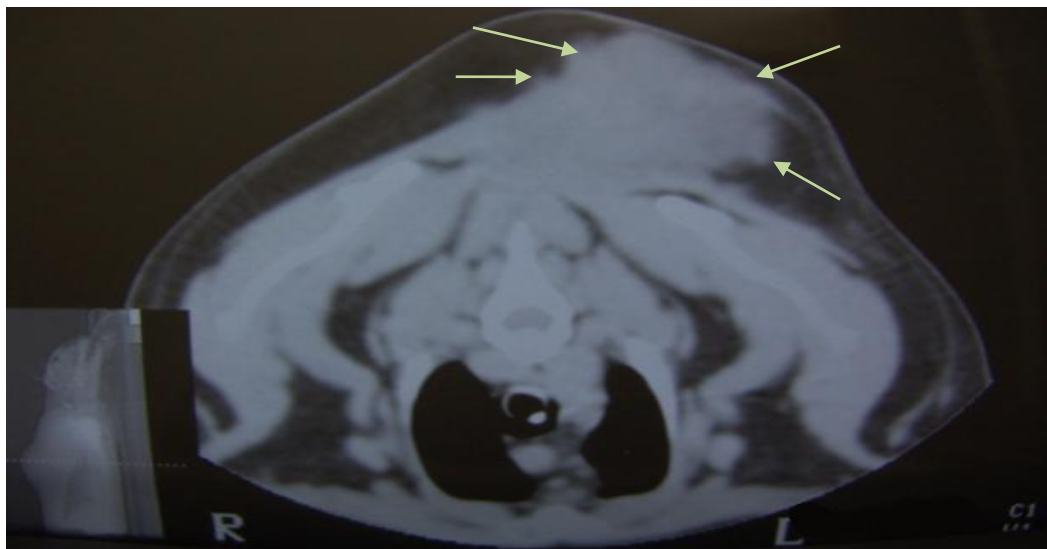
O diagnóstico do sarcoma no local de injeção baseia-se na avaliação clínica (localização subcutânea, local anatómico e história de vacinação), nos exames imagiológicos topográficos (tomografia computadorizada ou ressonância magnética) e na avaliação histológica da massa. As radiografias torácicas e, em alguns casos, as ecografias abdominais também podem revelar informação importante.

Para avaliar o estado geral de saúde dos pacientes, devem ser realizadas análises sanguíneas, hemograma e perfil bioquímico, e testes para os vírus da leucemia felina e da imunodeficiência felina. Embora não exista nenhuma associação entre a presença destes vírus e o desenvolvimento do tumor, o curso da doença pode ser alterado devido a um compromisso no sistema imune (McEntee & Page, 2001).

Na avaliação clínica do tumor, qualquer massa, localizada num local de vacinação, que persista por mais de 3 meses, que tenha um diâmetro superior a 2 cm ou que continue a crescer de tamanho por mais de 1 mês após a vacinação deve ser avaliada com forte suspeita para FISS. Esta é a regra 3-2-1, sugerida em 1999 pela VAFSTF (Anexo 1).

Os exames imagiológicos topográficos são necessários para uma apropriada gestão do caso, uma vez que são fundamentais para um correcto plano de tratamento e uma terapêutica inicial agressiva (figura 3).

Figura 3- Imagem topográfica de um FISS. Fotografia original.



Legenda: Tomografia computadorizada de um sarcoma no local de injeção (setas), de notar o grande tamanho do sarcoma a invasão local às apófises espinhosas e escápula.

A aparência e a localização do sarcoma podem ser mal interpretadas. Ao exame imagiológico topográfico, mesmo tumores subcutâneos relativamente pequenos podem demonstrar ser extensivos e invasivos (McEntee & Page, 2001). A tomografia computadorizada (TC) ou a

ressonância magnética (RNM) facilitam a identificação de estruturas anatómicas regionais (músculo e osso) que devem ser removidos para obter uma completa excisão e reconhecimento da inteira margem cirúrgica (Kirpensteijn, 2006). Segundo McEntee e Page (2001), o volume do tumor nas imagens de TC ultrapassa, em média, duas vezes a medida do tumor registada ao exame físico.

A avaliação radiográfica do sarcoma primário revela tipicamente uma opacidade de tecido-mole (figura 4) e, raramente, a evidência de envolvimento do tecido ósseo. Devem ser obtidas três posições radiográficas do tórax para detectar possíveis metástases pulmonares (VAFSTF, 2005).

Figura 4- Imagem radiográfica de um FISS. Fotografia original.



Legenda: Projecção latero-lateral esquerda de FISS.

Com base na localização do tumor e para identificar outras doenças subjacentes está também indicado a realização de ecografias abdominais (VAFSTF, 2005).

A avaliação histológica da massa é recomendada para identificar a natureza da mesma (McEntee & Page) e porque permite determinar a magnitude da cirurgia, isto é, lumpectomia *versus* cirurgia agressiva (Macy & Couto, 2001). A maioria dos oncologistas não recomenda uma biópsia excisional: uma primeira cirurgia agressiva ou uma radioterapia pré-cirúrgica oferece melhor prognóstico que o tratamento de uma recorrência (Moore & Ogilvie, 2001). Entre a biópsia com agulha tru-cut ou a biópsia incisional em cunha, a escolha recai para segunda, na medida que a agulha tru-cut pode não conseguir recolher células tumorais se o sarcoma for constituído, em parte, por um tecido de granulação.

A remoção cirúrgica do tumor que posteriormente é realizada deve incluir o inteiro tracto perfurado pela agulha (no caso de biópsia tru-cut) ou no caso de biópsia incisional deve remover todo o tecido afectado (VAFSTF, 2005).

Por último, a aspiração com agulha-fina é considerada um método incerto para o diagnóstico de FISS e não é recomendada (VAFSTF, 2005). O grau de inflamação associada a estes tumores dificulta a interpretação da imagem citológica (Hauck, 2003), no entanto, a citologia pode ajudar na diferenciação entre reacções de injeção inflamatórias e tumores mesenquimatosos (Henry, 2001).

8. Caracterização histopatológica do FISS

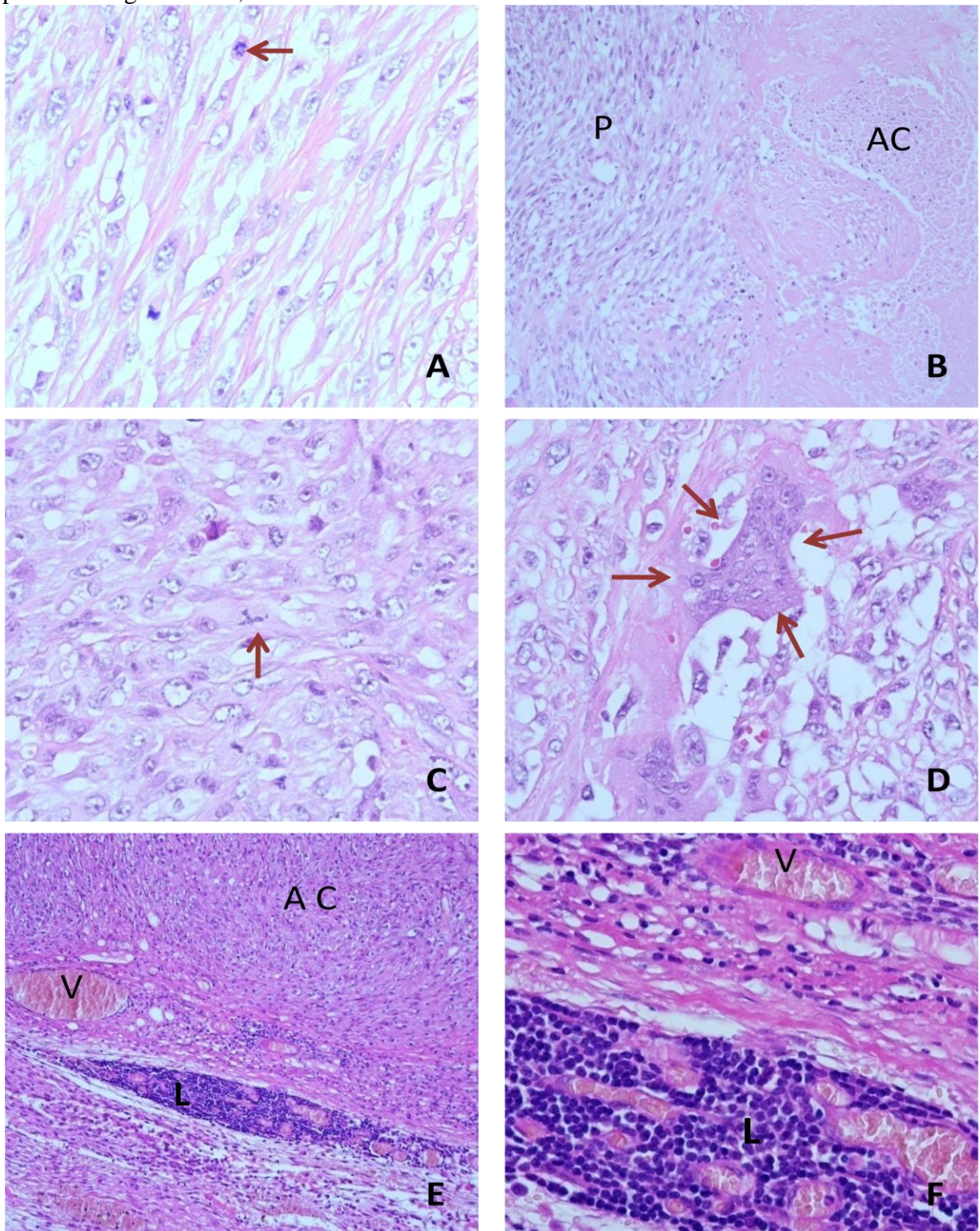
O sarcoma no local de injeção enquadra-se no grupo de sarcomas de tecido mole (Romanelli, Marconato, Olivero, Massari & Zini, 2008). A maioria são identificados como fibrossarcomas, no entanto, também têm sido descritos histiocitomas fibrosos malignos, osteossarcomas, condrossarcomas, rabdomiossarcomas, mixossarcomas e lipossarcomas (Hendrick & Hershey, 2009).

Histologicamente observam-se células fusiformes, com atipia celular, com elevado grau de pleomorfismo nuclear e células gigantes multinucleadas. Muitos, mas não todos, apresentam agregados periféricos de linfócitos e macrófagos (Hendrick & Hershey, 2009).

Segundo Doddy e colaboradores (1996) a histopatologia dos sarcomas emergentes em locais de vacinação caracteriza-se pela sua localização subcutânea, presença de áreas centrais de necrose, infiltrado inflamatório, elevado índice mitótico, pleomorfismo e densidade variável de matriz extracelular.

Na figura 5 podem ser observadas alguns desses aspectos microscópicos.

Figura 5-Aspectos microscópicos dos sarcomas associados a vacinas. Fotografias cedidas pelo Dr. Hugo Pissarra, FMV-UTL.



Legenda: Microfotografias de fibrossarcomas

A- Observam-se células de perfil, predominantemente, fusiforme, evidenciando elevado grau de polimorfismo como anisocariose e anisocitose e mesmo anisonucleolose. São frequentes as figuras de mitose –profase (seta). X400 (HE). B- Região central de um fibrossarcoma, sendo evidente à direita uma extensa área de necrose. X 100 (HE). C- Metáfase atípica (seta). X 400 (HE). D- Células gigantes multinucleadas (setas). X 400 (HE). E-

Região periférica de um fibrossarcoma, observa-se o característico infiltrado inflamatório linfocítico perivascular. X100 (HE). F- Pormenor da microfotografia anterior. X 400 (HE) P-periferia do tumor; AC- área central do tumor; V- capilar sanguíneo; L- Aglomerado linfocítico.

Estudos mais recentes caracterizaram os sarcomas no local de injeção através de análises ultra estruturais.

Madewell e colaboradores (2001) recorrendo a microscopia electrónica de transmissão identificaram a presença de miofibroblastos, células gigantes, células fibroblastoides e células do tipo histiocítico dentro destes tumores. O particular material intracelular foi também confirmado como sendo alumínio por estroscopia dispersiva de raios-X.

Num outro estudo, constatou-se que todos sarcomas no local de injeção eram imunoreactivos para vimentina e 28 em 44 (64%) para a actina- α do músculo liso. As células positivas para a actina encontravam-se tanto no interior do tumor como na cápsula que rodeia os nódulos tumorais. Observou-se também micro- ou macrocavidades centrais preenchidas com fluido e perifericamente os agregados ou folículos linfóides peritumorais, presentes em 59% dos tumores, continham altas proporções de linfócitos T (Couto *et al.*, 2002). Interessantemente, os linfócitos presentes nalguns FISS e em respostas inflamatórias induzidas por dispositivos de identificação electrónica, têm sido identificados como sendo linfócitos T (Kidney, 2008).

Em Medicina Humana existe um sistema de classificação de sarcomas de tecido mole que é utilizado como factor de prognóstico e melhor indicador do risco de metástases. Trata-se de um sistema que classifica os sarcomas de 1 a 3 (sendo o grau 3 o mais agressivo), baseado na diferenciação celular, actividade mitótica e quantidade de necrose tumoral.

Em medicina veterinária, esta classificação também se tornou um componente importante para o relatório patológico, no entanto, o mesmo sistema é aplicado para todos os sarcomas de tecido mole, os quais são considerados como uma entidade única. O sistema mais utilizado foi proposto por Kuntz, Dernell, Powers, Devitt, Straw e Withrow (1997), e deriva do sistema utilizado em medicina humana e adaptado para cães (Romanelli *et al.*, 2008). Na tabela 1 encontram-se descritas as variáveis utilizadas para determinar o grau de malignidade histológica do tumor.

Tabela 1-Variáveis utilizadas para determinar o grau* de malignidade do sarcoma (Adaptado de Kuntz *et al.*, 1997)

Pontuação	Grau de diferenciação	Mitoses (nº de figuras por dez campos 400x)	Necrose
1	Semelhante ao tecido mesenquimatoso adulto normal	0-9	Nenhuma
2	Tipo histológico específico	10-19	<50% do tecido examinado é necrótico
3	Indiferenciado	>20	>50% o tecido examinado é necrótico

*Grau I= pontuação acumulativa de ≤ 4 para as três categorias; grau II= 5 ou 6; grau III= ≥ 7

Como o comportamento biológico dos FISS é extremamente agressivo e a maioria dos patologistas considera-os como sendo de elevado grau de malignidade, a classificação histológica poderá estar, em certo ponto, limitada (Romanelli *et al.*, 2008).

No entanto, é geralmente aceite que a avaliação do grau histológico pode constituir uma ferramenta útil para dirigir o tratamento, uma vez que identifica pacientes a beneficiar de terapêuticas adjuvantes, como a radioterapia e a quimioterapia (Romanelli *et al.*, 2008).

Couto e colaboradores (2002) examinaram histologicamente 44 fibrossarcomas primários e 16 recorrentes para uma caracterização morfológica detalhada destes sarcomas. Para os fibrossarcomas primários, 11 de 44 (25%) eram de grau I, 21 de 44 (47,7%) eram de grau II, e 12 em 44 (27,3%) eram de grau III. Os tumores recorrentes seguiram um padrão similar: 4 de 16 (25%) eram de grau I, 8 de 16 (50%) eram de grau II, e 4 de 16 (25%) eram de grau III.

Uma correlação positiva também foi encontrada entre a presença de células gigantes multinucleadas neoplásicas e o grau do tumor. Com efeito, 75% tumores de grau III apresentavam células gigantes multinucleadas, enquanto nenhuma célula foi observada nos de grau I.

Num estudo recente, com 57 gatos com FISS, observou-se uma associação entre o grau histológico do tumor e as metástases (a associação com recorrência local não foi encontrada). Todos os animais com tumores de grau III desenvolveram metástases. No entanto, 7 de 41 gatos com grau I e 2 de 13 gatos com grau II também apresentaram metástases, o que sugere que pode não ser seguro tomar uma decisão terapêutica apenas tendo em conta o grau histológico do tumor (Romanelli *et al.*, 2008).

9. Tratamento

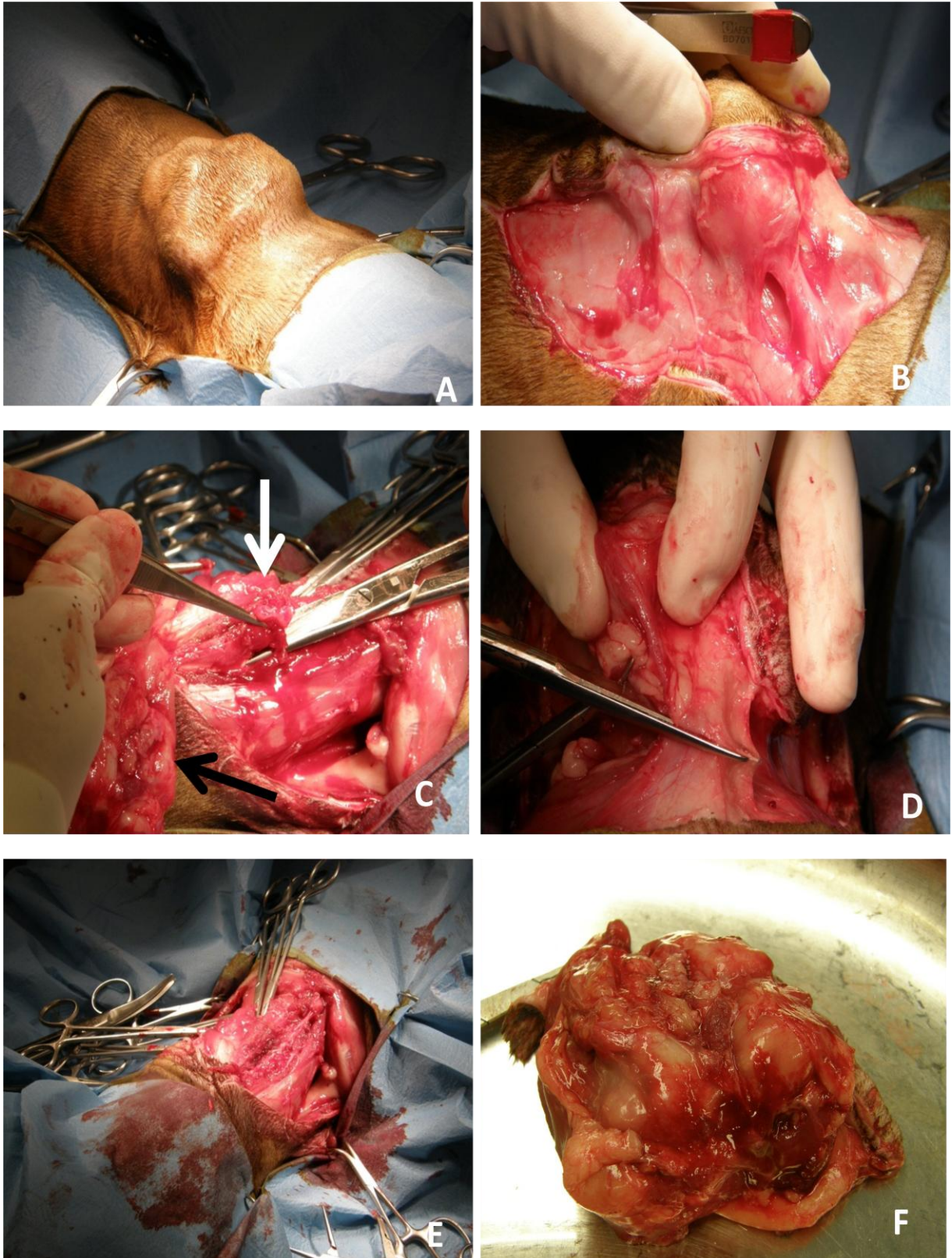
A maioria dos sarcomas no local de injeção demonstra resistência às diferentes abordagens terapêuticas e muitos gatos surgem com recorrências múltiplas (Hendrick & Hershey, 2009).

Actualmente, não existe nenhum tratamento de sucesso para fibrossarcomas no gato (Hampel *et al.*, 2007), no entanto, a excisão cirúrgica agressiva assume o papel principal e as terapêuticas combinadas com radioterapia e/ou quimioterapia prolongam os tempos de sobrevivência (Hendrick & Hershey, 2009).

9.1. Cirurgia

A base do tratamento para o sarcoma no local de injeção consiste numa cirurgia agressiva e precoce. Como os FISS são tumores muito invasivos, que se estendem para o tecido normal adjacente é necessário remover uma margem larga e profunda, com pelo menos 3 cm, em todos os planos cirúrgicos em redor do tumor (Henry, 2001) (figura 6b).

Figura 6- Exérese cirúrgica de um FISS. Fotografias originais cedidas pelo Professor Doutor Félix Garcia (HCV-UAB).



Legenda: A- Imagem fotográfica de um nódulo interescapular com 4 cm de diâmetro. B- Primeira incisão cirúrgica, grandes margens de aparente tecido normal serão removidas. C- Remoção de um plano muscular (seta branca) subjacente ao FISS (seta preta). D- Remoção

em “bloco” do FISS. E- Após a exérese do nódulo. F- Aparência macroscópica do sarcoma no local de injeção.

Alguns cirurgiões veterinários treinados em técnicas de cirurgia oncológica consideram que uma primeira cirurgia agressiva requer uma margem de 5 cm em todas as direções, e, quando por limitações anatómicas, não for possível, recomendam a remoção de pelo menos dois planos musculares. Os tumores localizados no membro distal ou noutras extremidades devem ser tratados através de amputação (VAFSTF, 2005).

Para avaliar a importância deste tipo de cirurgia no tratamento do sarcoma no local de injeção, Kuntz (2001, citado por VAFSTF, 2005) submeteu 82 gatos com FISS a cirurgia agressiva (5 cm de margem) como única terapêutica, constatando que apenas sete (8.5%) apresentaram recorrência local. O índice de recorrência é inferior ao que tem sido documentado (30-70%) e indica o impacto que teve o conhecimento da natureza agressiva destes sarcomas na abordagem cirúrgica.

A importância da cirurgia agressiva pode também ser observada em outros estudos que comparam o intervalo livre de doença (ILD) e o tempo de sobrevivência (TS).

Resultados de um estudo com 45 gatos (Davidson, Gregory & Kass, 1997), indicaram que os animais submetidos a uma excisão completa do tumor (46%) têm significativamente um ILD (>16 meses versus 4 meses) e um TS (>16 meses versus 9 meses) maiores do que os animais submetidos a uma excisão incompleta (Kirpensteijn, 2006). Hershey, Sorenmo, Hendrick, Shofer e Vail (2000) também constataram, através de um estudo realizado em 61 gatos, que a remoção de FISS através de uma primeira excisão cirúrgica radical permite um maior ILD (325 dias) quando comparado com uma excisão marginal do tumor (79 dias). Também, gatos com tumores localizados nos membros apresentam um maior ILD (325 dias) que gatos com tumores localizados em outros locais (66 dias), o que reflecte a possibilidade da excisão radical (i.e., amputação) (Hershey *et al.*, 2000).

Por outro lado, também se observou que os gatos submetidos a múltiplas cirurgias apresentavam índices de recorrência mais elevados e os tumores, a cada cirurgia sucessiva, recorriam em intervalos cada vez mais pequenos (Hendrick & Hershey, 2009).

Cohen e colaboradores (2001) observaram uma associação ($P=0.04$) entre o número de cirurgias e o ILD. Neste estudo verificaram que os gatos submetidos a uma única intervenção cirúrgica obtiveram um ILD médio de 469 dias enquanto que os gatos submetidos a mais do que uma intervenção, obtiveram um ILD médio de 345 dias.

Relativamente ao procedimento cirúrgico, o tecido deve ser removido “em bloco” sem incisão no próprio tecido tumoral (figura 6d) e o cirurgião deve estar consciente que este tipo de sarcomas ao crescerem comprimem as células formando uma pseudocápsula, dando a falsa impressão que o sarcoma está encapsulado (Moore & Ogilvie, 2001).

Após a cirurgia, o tecido removido deve ser marcado com tinta-da-china ou através de suturas e submetido a análise histológica para avaliar o grau do tumor e a presença de células tumorais nas margens (Kirpensteijn, 2006).

9.2. Radioterapia

A combinação da radioterapia com a cirurgia pode ser benéfica em gatos com sarcoma no local de injeção, quando comparada à cirurgia como única terapêutica (Cohen *et al.*, 2001). No entanto, um significativo número de gatos ainda não responde a esta associação (Macy & Couto, 2001). A radioterapia aplicada juntamente com a cirurgia permite reduzir o índice de recorrência em gatos com margens limpas e prolongar o tempo de sobrevivência. Os únicos sarcomas que podem ser efectivamente controlados exclusivamente com cirurgia, têm um tamanho reduzido (<3 cm) e não apresentam infiltração marcada no tecido normal adjacente (VAFSTF, 2005).

A decisão entre a radioterapia pré ou pós-operatória deve ser tomada em função de cada paciente (VAFSTF, 2005). Em gatos com sarcomas no local de injeção, não se tem verificado diferenças no ILD comparando as duas abordagens (Hendrick & Hershey, 2009).

A radioterapia pré-operatória foi administrada em 33 gatos que alcançaram um tempo de sobrevivência médio de 600 dias (1.6 anos). Cinco gatos apresentavam células tumorais nas margens cirúrgicas *versus* 26 gatos sem células tumorais, os ILDs médios registados corresponderam, respectivamente, a 112 dias (3.7 meses) e 700 dias (1.9 anos) (Cronin *et al.*, 1998). Resultados de um estudo subsequente com 92 gatos tratados com radioterapia pré-operatória (incluindo os 33 gatos originais) indicaram que o ILD (medido desde o primeiro dia da radioterapia) correspondeu a 584 dias (1.6 anos), com apenas a excisão completa a estar significativamente relacionada com o ILD (excisão completa, 986 dias *vs* excisão incompleta, 292 dias). O prognóstico clínico também foi ligeiramente melhorado com a adição de quimioterapia, o ILD dos gatos que receberam carboplatina alcançou os 986 dias (Kobayashi *et al.*, 2002).

Os resultados destes dois estudos sugeriram que a radioterapia pré-operatória é um tratamento efectivo para gatos com FISS, especialmente se a seguir á irradiação for realizada uma excisão completa do tumor (Kobayashi *et al.*, 2002).

Em relação à radioterapia pós-operatória, esta têm sido avaliada como tratamento pós-cirúrgico com ou sem quimioterapia (Hendrick & Hershey, 2009).

Bregazzi e colaboradores (2001) avaliaram um pequeno grupo de 25 gatos tratados com doxorrubicina e/ou cirurgia e radioterapia. Os resultados revelaram um ILD médio, definido como o intervalo de tempo desde o fim da radioterapia ao aparecimento da recidiva, de 661

dias (1.8 anos) para gatos tratados como doxorrubicina, cirurgia e radioterapia. Não foi possível determinar o ILD para gatos tratados exclusivamente com cirurgia e radioterapia. O TS médio, definido como o intervalo de tempo desde o término da radioterapia até à morte do animal, correspondeu a 674 dias (1.8 anos) em gatos tratados com doxorrubicina, cirurgia e radioterapia e 842 dias (2.3 anos) em gatos tratados exclusivamente com cirurgia e radioterapia. Estes resultados sugeriram que a ressecção seguida por radioterapia corresponde a um tratamento superior para gatos com FISS, em comparação com tratamentos que recorrem primeiro à radioterapia seguida por cirurgia ou exclusivamente à cirurgia.

Num outro estudo, com 78 gatos, a resposta à radioterapia administrada pós-operatória também foi avaliada com ou sem quimioterapia. O ILD médio correspondeu a 405 dias (1.1 anos) e o TS médio, definido a partir do momento em que a massa foi observada pela primeira vez, a 730 dias (dois anos). Também se constatou que o TS e o ILD diminuam à medida que o tempo entre a cirurgia e o início da radioterapia aumentava, e que os gatos submetidos a uma única cirurgia antes da radioterapia, apresentavam índices de recorrência menores e ILDs mais longos que os gatos submetidos a mais do que uma cirurgia. Por outro lado, a administração diária de pequenas fracções (ex, 19 fracções com 300cGy cada) resultou em tempos de remissão mais longos que a administração de fracções maiores dadas na base de dia-sim-dia-não (ex, 13 fracções com 400 cGy, administradas cada Segunda, Quarta e Sexta-feira). Os resultados deste estudo também indicaram que a excisão seguida por radioterapia pode ser benéfica para o tratamento de gatos com FISS (Cohen *et al.*, 2001).

Em relação aos efeitos adversos registados com a administração da radioterapia, na maioria dos gatos observa-se inicialmente uma irritação da pele e posteriormente zonas de alopecia e leucotriquia. Em casos mais graves pode ocorrer fibrose pulmonar e pneumonia (Cohen *et al.*, 2001; Kobayashi *et al.*, 2002).

Dado o potencial para o desenvolvimento de metástases nestes sarcomas, torna-se necessário uma terapêutica sistémica em conjunto com uma terapêutica local, embora não existe nenhuma comparação directa entre a combinação da cirurgia com radioterapia *versus* a combinação de cirurgia com quimioterapia, a eficácia da radioterapia sem quimioterapia no tratamento de FISS não está bem clara (Hendrick & Hershey, 2009).

9.3. Quimioterapia

Os benefícios clínicos da quimioterapia como adjuvante no maneio dos gatos com sarcoma no local de injeção, não estão claramente definidos, embora alguns sucessos tenham sido observados com vários protocolos (Macy & Couto, 2001).

A doxorubicina é considerada o agente mais efectivo no tratamento quimioterápico destes sarcomas. Estudos *in vitro* registaram efeitos substanciais dose-dependente da doxorubicina na viabilidade de 2 linhas celulares de FISS (Williams, Banerji, Klausner, Kapur & Kanjilal, 2001).

No entanto, Bregazzi e colaboradores (2001), não detectaram diferenças entre dois grupos de animais em tratamento. Sugerindo que a eficácia da doxorubicina no tratamento do sarcoma no local de injeção é incerta.

Martano e colaboradores (2004) também não conseguiram demonstrar grandes diferenças entre gatos tratados com cirurgia e doxorubicina (grupo A: 49 gatos) com os que receberam apenas cirurgia (grupo B: 20 gatos). No entanto, o grupo A incluía uma maior percentagem de animais com tumores de grande tamanho. O índice de recorrência e o índice de metástases correspondeu, respectivamente, para o grupo A, de 40.8% e 12% e para o grupo B, de 35% e 10%.

Petterino e colaboradores (2006) avaliaram a relação entre o grau histológico e a imunoreactividade anti-STAT3 em 36 gatos com FISS tratados com cirurgia e dos quais 24 também receberam doxorubicina pré-operatória. Os autores verificaram que os gatos que receberam doxorubicina apresentavam uma significativa menor imunoreactividade anti-STAT3. Mais ainda, que a expressão de STAT3 (intranuclear) estava significativamente correlacionada com a actividade mitótica nos animais que não receberam doxorubicina (P=0.019).

A combinação de doxorubicina e ciclofosfamida também tem sido avaliada no tratamento dos gatos com este tipo de sarcomas. Barber, Sorenmo, Cronin & Shofer (2000) avaliaram as respostas terapêuticas em 12 gatos com fibrossarcomas tratados com a combinação de doxorubicina e ciclofosfamida. Os resultados revelaram que em seis (6/12) gatos o tumor reduziu de volume em mais de 50%, no entanto, esta resposta teve uma curta duração, cerca de 125 dias. Os autores também observaram que, eliminando da análise os animais que receberam outros tratamentos após a quimioterapia com doxorubicina, o tempo de sobrevivência médio era significativamente maior nos gatos que responderam à quimioterapia, comparativamente com o tempo de sobrevivência médio dos que não responderam (242 e 83 dias, respectivamente).

Num outro estudo (Cohen *et al.*, 2001), não foi detectado nenhum benefício na administração de doxorubicina e ciclofosfamida em 26 gatos que receberam quimioterapia adjuvante de um total de 76 gatos com sarcoma no local de injeção. Os valores do índice de recorrência (41%), índice de metástases (12%) e tempo de sobrevivência (730 dias) não apresentaram

diferenças significativas entre os gatos que receberam quimioterapia, em comparação, com os que não receberam.

A carboplatina pode também ser útil no tratamento dos gatos com sarcoma no local de injeção. Num estudo conduzido para caracterizar a disposição farmacocinética e os efeitos mielotóxicos da carboplatina, 2 gatos com sarcoma no local e injeção apresentaram uma redução do tumor em 50% (Rassnick *et al.*, 2006).

Finalmente, 19 de 92 gatos com este tipo de sarcomas, que receberam carboplatina e radioterapia pré-operatória, apresentaram um maior ILD médio (>986 dias vs 365 dias a 584 dias) (Kobayashi *et al.*, 2002). Este elevado ILD, em comparação com outros tratamentos quimioterápicos, pode dever-se ao efeito sensibilizador da carboplatina quando administrada em conjunto com a radioterapia (Hendrick & Hershey, 2009).

Relativamente aos efeitos adversos dos quimioterápicos, a utilização da doxorubicina em gatos tem sido associada a lesão renal, mielosupressão, anorexia e perda de peso. Com a utilização de carboplatina, descrevem-se sinais gastrointestinais (anorexia e vômito), toxicidade hematológica (neutropénia e anemia) e potencial toxicidade renal (Reiman, Mauldin & Mauldin, 2008).

A emergência dos sarcomas no local de injeção tem vindo a exigir novas estratégias quimioterápicas com a utilização de novos agentes como a doxorubicina encapsulada-lipossoma e a ifosfamida (Hendrick & Hershey, 2009).

Poirier e colaboradores (2002) avaliaram a eficácia de Doxil (forma encapsulada-lipossoma de doxorubicina) em comparação com a doxorubicina não encapsulada em 75 gatos com FISS. As duas formulações foram administradas tanto em gatos ainda com a doença como em gatos anteriormente submetidos a excisão cirúrgica (incompleta) do tumor. Os autores compararam o ILD médio entre os gatos que receberam os dois quimioterápicos com um grupo de controle tratado apenas cirurgicamente. Os gatos com a doença microscópica e que receberam doxorubicina, revelaram um aumento significativo do seu ILD médio (388 dias) comparado com o ILD médio (93 dias) do grupo cirúrgico de controlo. No entanto, nenhuma diferença no ILD foi observada entre os dois grupos de tratamento. Alguns gatos que receberam Doxil, desenvolveram mais tarde nefrotoxicidade, levando os investigadores a concluir que a doxorubicina livre deve ser a formulação preferida.

Actualmente, a ifosfamida, isómero da ciclofosfamida mas com um espectro de acção clínica anti-tumoral e efeitos tóxicos diferentes, é utilizada em crianças para o tratamento de sarcomas de tecido-mole e sarcomas ósseos (Carli, Passone, Perilongo, 2003, citado por Rassnick *et al.*, 2006). A ifosfamida também possui actividade anti-tumoral contra o sarcoma no local de injeção em gatos. É bem tolerada pela maioria dos animais, pelo que deverá ser

avaliada como tratamento adjuvante. Rassnick e colaboradores (2006) observaram uma resposta considerável em 11 dos 27 gatos (41%) com FISS tratados com ifosfamida, para uma duração média de 70 dias (21-133 dias). Os tumores apresentavam um grande tamanho em muitos dos gatos, mais de metade tinha tumores recorrentes e alguns apresentavam metástases. A ifosfamida foi utilizada na dose de 900mg/m² por área de superfície corporal em infusão IV durante um período de 30 minutos. Para prevenir a toxicidade urotelial, realizou-se uma infusão de solução salina (0.9% NaCl) com a administração de mesna (mitexan). Os tratamentos foram administrados a cada 3 semanas, e a resposta tumoral avaliada após o segundo tratamento. Os resultados deste estudo sugeriram que a ifosfamida tem actividade antitumoral contra FISS e devia ser avaliada como tratamento adjuvante para os gatos com este tumor (Rassnick *et al.*, 2006).

9.4. Outros tratamentos

Dada a possível relação dos mediadores de inflamação, como as citocinas e os factores de crescimento, na patogenia do sarcoma no local de injecção; a manipulação dos mecanismos inflamatórios e imunológicos através do uso de imunoestimulantes, de citocinas (interleucina-2, factor de necrose tumoral, interferões) e de anticorpos monoclonais, pode ser importante na prevenção e no tratamento destes sarcomas (Hendrick, 2000).

9.4.1. Imunoterapia

A Imunoterapia tumoral baseia-se na especificidade do sistema imunitário para o tratamento da neoplasia e recorre à utilização de proteínas activadas biologicamente, com o objectivo de alterar as respostas imunes específicas e não específicas do paciente. O sistema imunitário é capaz, sob certas circunstâncias, de reconhecer e eliminar células tumorais (Hampel *et al.*, 2007).

O imunoestimulante acemannan pode ser eficaz no tratamento adjuvante de fibrossarcomas. O acemannan é um extracto da planta aloe vera (Henry, 2001) que promove a libertação, pelos macrófagos, de interleucina-1, interleucina-6, factor de necrose tumoral- α e interferon- γ . (Hampel *et al.*, 2007). Embora esteja comercialmente disponível para o tratamento de animais com fibrossarcoma, os seus efeitos terapêuticos têm sido inconsistentes, muitas vezes dependendo do tamanho do tumor (Hendrick, 2000).

Quintin-Colonna e colaboradores (1996, citado por Kirpensteijn, 2006) trataram fibrossarcomas espontâneos com injecções locais de células Vero xenogénicas que libertam a interleucina-2 recombinante humana. Os autores observaram que os gatos sobreviveram mais tempo que os animais tratados apenas com cirurgia e radioterapia.

Jourdiere e colaboradores (2003) utilizaram poxvírus recombinantes, que expressam interleucina-2, em 18 fibrossarcomas espontâneos em gatos. Os resultados deste estudo revelaram uma diminuição nos índices de recorrência tumoral desde 61% (11 de 18 gatos) em animais do grupo de controlo (tratados com cirurgia e radioterapia) para 39% (7 de 18) e 28% (5 de 18) em gatos que receberam interleucina-2 humana ou felina, em adição à cirurgia e radioterapia.

Recentemente, Hampel e colaboradores (2007) registaram um aumento na expressão de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe I, testadas após a incubação *in vitro* com o interferon (INF)- ω felino recombinante, em todas as linhas celulares de fibrossarcomas. Como o INF- ω felino recombinante aumenta a expressão celular de MHC I, também pode promover a destruição das células tumorais tornando-as mais susceptíveis ao ataque pelas células natural Killer, células T citotóxicas, macrófagos activados ou anticorpos. A imunoterapia com INF- ω felino recombinante em gatos com fibrossarcomas é segura, bem tolerada e facilmente realizável na prática (Hampel *et al.*, 2007).

9.4.2. Células Alvo - Inibidores da tirosina quinase

A utilização de inibidores da tirosina quinase pode constituir uma abordagem interessante para o tratamento e, possivelmente, para a prevenção dos sarcomas no local de injeção (Hauck, 2003).

Tal como foi referido anteriormente o factor de crescimento derivado de plaquetas PDGF e o seu receptor (PDGFR) pode promover o crescimento das células tumorais nos FISS.

Katayama e colaboradores (2004) verificaram que o *Imatinib mesylate* (formalmente denominado de ST-57I) inibe proliferação do sarcoma no local de injeção, através da inibição da autofosforilação do PDGFR nas linhas celulares de FISS *in vitro*, numa forma dose-dependente, e também num modelo xenográfico de um murino. Este fármaco também remove o efeito protector de PDGF na inibição do crescimento tumoral pela doxorrubicina e carboplatina. A adição de 1.0 μ M de *imatinib* também promove uma maior actividade anti-proliferativa que a administração apenas de doxorrubicina ou de carboplatina (Katayama *et al.*, 2004).

A terapêutica conjunta pode permitir a utilização de doses efectivas inferiores e evitar a morbilidade associada à quimioterapia (mielossupressão, anorexia e no caso de doxorrubicina, nefrotoxicidade) (Katayama *et al.*, 2004).

9.4.3. Hipertermia

Outra área de investigação tem sido a utilização de hipertermia para aumentar a acumulação local de lipossomas termosensíveis, e por conseguinte, a libertação de fármacos em sarcomas felinos (VAFSTF, 2005). Na Universidade do estado da Carolina do Norte, demonstrou-se um aumento significativo na acumulação de lipossomas nos sarcomas no local de injeção aquecidos. Esta abordagem pode ser utilizada para melhorar a entrega do fármaco (ex., quimioterápico) nos tumores (Hauck, 2003).

9.5. Tratamento de suporte

O tratamento de suporte deve incluir analgesia apropriada, suporte nutricional e, se necessário, uma terapêutica anti-emética.

Os anti-inflamatórios não esteróides diminuem a reação inflamatória no tecido tumoral e também podem inibir o crescimento do tumor (Hampel *et al.*, 2007).

A fluidoterapia melhora a integridade vascular periférica prejudicada pelos tratamentos de quimioterapia e das anestésias múltiplas usadas em radioterapia/quimioterapia (Moore & Ogilvie, 2001).

10. Prognóstico

O tempo de sobrevivência em gatos com sarcoma no local de injeção que não receberam nenhum tratamento, poderá variar entre zero dias a potencialmente seis ou mais meses e dependerá de uma série de factores: estado da doença (i.e., extensão do tumor primário e da presença de metástases) e de algum impacto negativo na qualidade de vida dos animais, provocado por algum desconforto devido à ulceração do tumor. Neste caso os proprietários decidem se preferem a eutanásia ou a morte natural (VAFSTF, 2005).

Os melhores prognósticos são alcançados quando os animais são submetidos a terapêuticas múltiplas, incluindo cirurgia e radioterapia (Hauck, 2003). A utilização de quimioterapia concomitantemente com radioterapia não parece influenciar o ILD em nenhum estudo, no entanto, segundo Kobayashi e colaboradores (2002) os tempos de sobrevivência são prolongados com administração de carboplatina em conjunto com a radioterapia (Hendrick & Hershey, 2009).

Uma comparação entre prognósticos está descrita na tabela 2.

Tabela 2- Prognóstico para os diferentes tratamentos de do sarcoma no local de injeção. (Adaptado de Hendrick & Hershey, 2009).

Estudo	Tratamento	N. de Gatos	ILD	TS	IR (%)	IM (%)	Comentários
Cronin, Page & Trall 1998	Preop RT, sx ±DOX	33	398	600	45	24	Prognóstico influenciado pela excisão completa, o uso de quimio. não influenciou o prognóstico.
Hershey <i>et al.</i> , 2000	Excisão cirúrgica	61	94	576	86.2	22.5	Excisão radical (i.e., amputação) melhora o ILD
Bregazzi <i>et al.</i> , 2001	Sx, posop RT±DOX	25	661 (+ quimio) NE (- quimio)	674 (+quimio) 842 (-quimio)	28	0	Nenhuma diferença significativa para o prognóstico com o uso de quimioterapia.
Cohen <i>et al.</i> , 2001	Sx, posop RT± DOX/ ciclofosfamina	78	405	730	41	12	Uso de quimio. não associado com IR, IM, TS; extensão da excisão não associada com IR
Kobayashi <i>et al.</i> , 2002	Preop RT, sx± carboplatina	92	584	Não avaliado	37	21.7	Excisão completa relacionada com ILD
Poirier <i>et al.</i> , 2002	Sx + DOX ou Doxil	75	388	846	44	5	Nenhuma diferença entre Doxil e DOX, toxicidade renal com Doxil
Martano <i>et al.</i> , 2004	Preop DOX+sx. Apenas sx	49 20	NE NE	NE NE	40.8 35	12 10	Nenhuma diferença significativa entre os dois grupos

Legenda: Quimio, quimioterapia; DOX, doxorubicina; ILD, intervalo livre de doença (em dias); NE- média não encontrada; TS, tempo de sobrevivência em dias; IM, índice de metástases; IR, índice de recorrência; RT, radioterapia; Sx, cirurgia.

Até à data, estudos limitados têm analisado os factores de prognóstico para FISS, em diferentes pontos de vista, como o intervalo livre de doença e o tempo de sobrevivência total. Num grande estudo retrospectivo os efeitos de vários factores no tempo de sobrevivência foram avaliados em 78 gatos com FISS. Os resultados deste estudo, indicaram que o sexo, o intervalo entre a cirurgia e o início da radioterapia, o desenvolvimento de metástases, e o tamanho do tumor afectam significativamente o tempo de sobrevivência (Cohen *et al.*, 2001, citado por Romanelli *et al.*, 2008).

Cohen e colaboradores (2001) observaram uma associação significativa ($P=0.35$) entre o sexo dos animais e o tempo de sobrevivência. Os gatos machos castrados apresentaram um TS médio (638 dias) menor que as gatas castradas (média de 735 dias). Segundo este estudo, o número de cirurgias realizadas antes da aplicação da radioterapia, pode não alterar o tempo de sobrevivência ($P < 0.50$). No entanto, o número de cirurgias afecta o ILD ($P=0.04$), o qual será menor quanto maior for o número de cirurgias a que for submetido o animal (Cohen *et al.*, 2001).

Relativamente ao intervalo de tempo entre a última cirurgia e o início da radioterapia, existe uma associação significativa ($P=0.02$) com o TS e o ILD. Os gatos que iniciaram a

radioterapia logo após a cirurgia apresentaram tempos de sobrevivência maiores que os gatos que iniciaram a radioterapia mais tarde (Cohen *et al.*, 2001).

Os autores também observaram que o desenvolvimento de metástases diminuiu significativamente ($P= 0.045$) o tempo de sobrevivência. O TS para os gatos que desenvolveram metástases correspondeu em média a 288 dias e os que não desenvolveram metástases, 406 dias (Cohen *et al.*, 2001).

Por último, existe associação ($P=0.042$) entre o tamanho do tumor e o tempo de sobrevivência. Neste estudo, os gatos que apresentaram tumores mais pequenos revelaram ter tempos de sobrevivência maiores. Uma explicação poderá ser o facto destes pequenos tumores poderem ter menos tempo de evolução da doença e também porque menos cirurgias são necessárias para removê-los (Cohen *et al.*, 2001).

Outros factores foram analisados, como a idade dos gatos ao início da doença, a localização do tumor, e o tipo de tumor, mas nenhuma associação significativa foi identificada com o tempo de sobrevivência, intervalo livre de doença, índice de recorrência ou de metástases (Cohen *et al.*, 2001).

Novas ferramentas de prognóstico incluem a classificação histológica dos sarcomas. Segundo um estudo, o grau histológico dos sarcomas pode estar associado com o aparecimento de metástases: os gatos com tumores de grau III apresentaram uma maior probabilidade para desenvolverem metástases (Romanelli *et al.*, 2008).

Por outro lado, também a detecção imunohistoquímica de p53 pode auxiliar na definição de um de prognóstico para os sarcomas no local de injeção.

Hershey e colaboradores (2005) avaliaram 80 gatos com FISS para determinar a expressão imunohistoquímica do gene supressor de tumor p53. Os animais com tumores que exibem p53 citoplasmático tiveram uma diminuição significativa no intervalo livre de doença, quando comparados com os gatos que exibiram p53 nuclear, no entanto, nenhuma diferença foi observada no tempo de sobrevivência total.

Posteriormente, Banerji & Kanjilal (2006) demonstraram que o estado de p53 pode ser um indicador da recorrência pós-cirúrgica e da sobrevivência total em gatos com FISS. Neste estudo, para determinar as alterações somáticas em p53 nos sarcomas no local de injeção, analisaram-se 27 gatos com tumores primários submetidos a um primeiro tratamento cirúrgico e sem a administração de quimioterapia ou de radioterapia. Os autores detectaram oito polimorfismos de nucleotídeo único, dentro da sequência genómica de p53, com 20 dos 27 gatos (74%) a apresentarem heterozigidade em ≥ 1 local polimórfico. A perda somática de heterozigidade em p53 foi detectada nos tumores primários em 12 destes 20 gatos (60%). Tal deleção alélica esteve significativamente associada com a rápida recorrência tumoral e

com a redução do tempo de sobrevivência total e as mutações locais foram raras, ocorrendo em 3 dos 27 tumores primários.

11. Profilaxia

Após a vacinação ou outra injeção rotineira, todas as massas ou reacções inflamatórias devem ser monitorizadas (Macy & Couto, 2001).

Algumas vacinas da Raiva e da FeLV produzem massas pós-vacinais em 100% dos casos, mas a maioria desaparece em 2-3 meses. Como alguns sarcomas no local de injeção também podem ocorrer dentro destes 3 meses após vacinação, é necessário um controlo do local. É importante verificar a regra 3-2-1 da VAFSTF (Kirpensteijn, 2006).

A recomendação mais importante na prevenção do sarcoma no local de injeção é, não sobrevacinar, outras recomendações incluem a diminuição do uso de vacinas polivalentes, o uso de vacinas sem adjuvantes (sobretudo em alumínio), a alteração do local de vacinação, entre outras (Williams *et al*, 2001).

A vacinação deve ser vista como um procedimento médico semelhante a qualquer outro e realizado de acordo com as necessidades de cada paciente.

“Os objectivos da vacinação consistem em vacinar o maior número possível de indivíduos na população em risco, vacinar cada individuo não mais frequentemente que o necessário, e vacinar apenas contra agentes infecciosos aos quais os indivíduos possuem um risco realístico de exposição e subsequentemente desenvolvimento de doença” (VAFSTF, 2005, p.1838, tradução livre).

Assim, a vacinação anual pode não ser, sempre necessária e pode aumentar o risco do desenvolvimento de sarcomas nos locais de injeção. Scott e Geissinger (1997, citado por VAFSTF, 2005) observaram que as vacinas comerciais têm uma duração de imunidade superior a 1 ano, suportando um programa de vacinação a cada 3 anos.

A vacina da FeLV não deve ser administrada indiscriminadamente, uma vez que existe uma forte sugestão epidemiológica, sugerindo que esta vacina seja a responsável pelo desenvolvimento do sarcoma no local de injeção em gatos (Hendrick & Hershey, 2009).

Em relação à vacina da Raiva, algumas incertezas são levantadas. Actualmente não se conhece qual a situação das vacinas anti-rábicas recombinantes no desenvolvimento de FISS (VAFSTF, 2005). A VAFSTF (2005) recomenda a administração da vacina da raiva com o adjuvante, apenas a cada 3 anos ou a administração do produto recombinante anualmente.

As recomendações ditadas pela VAFSTF e pela *American Association of Feline Practitioners*, para a prevenção do sarcoma no local de injeção estão descritas na tabela 3 e no anexo 2.

Tabela 3- Recomendações da VAFSTF para a prevenção de FISS.

1. Os veterinários devem adotar protocolos standardizados para os locais de vacinação e documentar as localizações de cada injeção, tipo de vacina, e fabricante ou número de série.
2. As vacinas que contêm antígenos limitados ao vírus da panleucopénia, herpesvírus felino tipo 1 e calicivírus felino com ou sem antígenos de chlamydia devem ser administradas na extremidade anterior direita.
3. As vacinas que contêm antígenos do vírus da Raiva, com ou sem outro antígeno, devem ser administradas na extremidade posterior direita o mais distalmente possível.
4. As vacinas que contêm o antígeno da FeLV, com ou sem outros antígenos, devem ser administradas na extremidade posterior esquerda o mais distalmente possível.

Actualmente recomenda-se a administração das vacinas na porção distal do membro. É provável que o local da vacinação não esteja relacionado com o desenvolvimento do sarcoma, mas se o tumor se desenvolver no membro distal, poderá ser identificado enquanto apresentar um tamanho reduzido e a amputação poderá permitir um melhor controlo do tumor (Hendrick & Hersey, 2009).

Os gatos diagnosticados com sarcoma no local de injeção não devem ser novamente vacinados. Os animais encontram-se com um estado de saúde comprometido, como resultado dos tratamentos e do próprio tumor, pelo que não devem ser vacinados. Por outro lado, já foram observados gatos que sobreviveram tempo suficiente para desenvolver outro sarcoma associado a vacina a partir de uma subsequente vacinação noutra local (VAFSTF, 2005).

12. Educação do Dono

Embora, exista um real risco da ocorrência do sarcoma no local de injeção, os donos dos gatos devem ser educados tanto para o risco do desenvolvimento de FISS como para o risco da prevenção da doença infecciosa, permitindo que os próprios tomem decisões informadas sobre a frequência e a administração das vacinas, e que seja possível uma detecção precoce e uma terapêutica apropriada destes sarcomas. Como previamente mencionado, a maioria dos gatos desenvolve algum grau de reacção inflamatória no local onde a vacina é administrada, para ter algum critério, quando uma massa no local de vacinação deve ter ou não relevância, os donos deverão conhecer a regra 3-2-1 da VAFSTF (Hendrick & Hershey, 2009).

II. ESTUDO RETROSPECTIVO EM 9 GATOS COM SUSPEITA DE SARCOMA NOS LOCAL DE INJECCÃO

1. MATERIAL E MÉTODOS

Durante o estágio curricular, desenvolvido no HCV-UAB, foram observados nove felídeos e incluídos neste estudo sobre sarcoma no local de injeção.

Os dados clínicos referentes ao sexo; à idade; à raça; à história de vacinação; ao exame físico geral e à localização, ao tamanho e à consistência da massa, foram registados. No entanto, os procedimentos de diagnóstico e as abordagens terapêuticas, realizadas em instituições exteriores ou no HCV, foram obtidos apenas a oito felídeos, uma vez que um animal não compareceu nas seguintes consultas.

Os exames consistiram, para além de uma avaliação clínica inicial (historia de vacinação pertinente, testes serológicos para os retrovírus felinos, localização anatómica e aparência clínica), em estudos imagiológicos (tomografias computadorizadas ou ressonâncias magnéticas) e em avaliações citológica/histopatológicas da massa. Os exames complementares efectuados uma semana antes do procedimento cirúrgico realizado no HCV, ajudaram a determinar o estado geral de saúde do animal e incluíram hemogramas e análises bioquímicas.

As tomografias computadorizadas (TC) ou as ressonâncias magnéticas (RNM) serviram como auxiliares de diagnóstico mas também ajudaram na planificação da terapêutica. Os exames de imagem topográficos foram realizados antes da exérese cirúrgica do nódulo a todos os gatos, mesmo no caso de massas de pequeno tamanho ou aparentemente pouco infiltrativas. Outros exames consistiram em radiografias torácicas (3 projecções: laterolateral direita, laterolateral esquerda e ventrodorsal) e em ecografias abdominais.

Os exames histopatológicos assumiram o papel principal no diagnóstico dos sarcomas no local de injeção e apenas foram realizados dois exames citológicos em instituições exteriores.

Para avaliação histopatológica, 14 amostras (5 tecidos obtidos por biopsia incisional e 9 massas por exérese cirúrgica) foram coradas com hematoxilina-eosina e examinadas ao microscópio.

Os 5 tecidos foram recolhidos de três felídeos. Duas biopsias foram realizadas a dois gatos, uma antes da exérese cirúrgica de um tumor de ocorrência primária e uma outra antes da segunda cirurgia de um tumor de segunda ocorrência. Três biopsias foram realizadas a um outro gato; a primeira antes da exérese cirúrgica da primeira ocorrência tumoral, e as restantes 1 e 2 meses após a cirurgia da quarta ocorrência.

Após a exérese cirúrgica, todas as 9 massas foram avaliadas por um anatomopatologista. Um dos felídeos foi sujeito a duas avaliações histológicas na primeira e na quarta ocorrência tumoral.

Das 14 amostras, 12 fibrossarcomas foram confirmados histologicamente e, posteriormente, analisados para determinar o grau histológico e comparar a presença de células inflamatórias/células gigantes multinucleadas com o tipo de diferenciação evidenciado.

Os tumores foram classificados segundo um sistema primariamente adaptado para cães, baseado na diferenciação celular, índice mitótico e presença de necrose (Kuntz *et al.*, 1997). Este sistema pontua de 1 a 3 a diferenciação celular (1= células tumorais semelhantes às células mesenquimatosas adultas; 2= tumores que têm um fenotipo histológico definido; 3= tumores indiferenciados), os índices mitóticos (1= 1-9 figuras mitóticas por dez campos de 400x; 2= 10-19 figuras por dez campos de 400x; 3= 20 ou mais figuras por dez campos de 400x), e a presença de necrose (1= nenhuma necrose; 2= necrose que ocupa menos de 50% do tecido; 3= necrose que ocupa mais de 50% do tecido). As pontuações finais de 3 ou 4 designam tumor de grau I; pontuações de 5 ou 6 designam grau II; e as pontuações de 7, 8, ou 9 designam grau III.

Relativamente à abordagem terapêutica, as excisões cirúrgicas agressivas, com margens não inferiores a 3 cm, assumiram o papel principal no tratamento de FISS.

Cerca de dez dias após a hospitalização, os gatos foram avaliados para observação da cicatriz cirúrgica. A cada 3 meses seguiu-se uma nova reavaliação do animal, através de um exame físico para detectar recorrências tumorais e de exames radiográficos para detectar possíveis metástases pulmonares.

Dependendo das margens cirúrgicas (presença ou não de células neoplásicas), tumor primário ou recorrente, e da disponibilidade do proprietário, os animais receberam quimioterapia e/ou radioterapia.

Quatro animais receberam quimioterapia. A doxorubicina foi administrada, a cada 21 dias, por via intravenosa (IV) diluída em soro fisiológico, na dose inicial de 20-25 mg/m² de área de superfície corporal ou 1mg/kg. Entre cada sessão realizou-se um hemograma e perfil bioquímico. Se o número de leucócitos fosse menor que 3,0 x10³ células /µl reduzia-se a dose do quimioterápico.

A altura da administração da doxorubicina variou entre os quatro felídeos: 1 gato recebeu quimioterapia antes e após cirurgia, 2 gatos após cirurgia e 1 gato recebeu quimioterapia após radioterapia e cirurgia. No primeiro caso, a quimioterapia pré-operatória foi administrada sob a forma de 7 sessões e a quimioterapia pós-operatória teve início um mês após a cirurgia (na dose de 4 mg/kg). No segundo caso, a quimioterapia iniciou-se dois meses após a cirurgia e 4

sessões foram aplicadas num dos gatos, o outro recebeu apenas uma sessão. No terceiro caso, o animal recebeu dois ciclos de doxorubicina: o primeiro (3 sessões) foi administrado um mês após a segunda cirurgia numa instituição exterior; e o segundo ciclo (7 sessões) foi administrado no HCV, 2 meses após a quarta cirurgia.

Um único gato recebeu radioterapia (para além de quimioterapia). Esta terapêutica foi aplicada 2 meses antes da quarta intervenção cirúrgica e teve a duração de 1 mês. O animal recebeu 15 sessões de 4 Gy (total 60 Gy), intervaladas a cada dois dias. As dimensões do campo de radiação foram calculadas a partir do resultado da ressonância magnética que revelou o número de tecidos envolvidos mais 2-3 cm de margem. A radiação foi aplicada por uma fonte externa, ou seja, a radiação que atingiu o tumor foi emitida por um aparelho fora do corpo do paciente. A energia de radiação foi seleccionada em base da profundidade requerida para tratar o indivíduo e a necessária para poupar os tecidos adjacentes localizados numa profundidade particular no campo de radiação. Um mês após o fim da radioterapia o gato foi submetido a uma nova cirurgia.

Em relação à evolução clínica dos gatos, um dos 8 animais encontrava-se nas fases iniciais do tratamento, pelo que não foi possível documentar a resposta à terapêutica administrada

O tempo de sobrevivência total foi definido como o intervalo de tempo, em dias, entre a primeira documentação da doença até à morte ou até à última comunicação entre o proprietário e o veterinário referente.

O intervalo livre de doença foi definido como intervalo de tempo, em dias, entre o último procedimento cirúrgico até ao reaparecimento do tumor.

As respostas terapêuticas foram categorizadas do seguinte modo: resposta maior (RM), define a resolução clínica do detectável tumor; resposta parcial (RP), define uma resolução clínica do detectável tumor mas associado a um agravamento do estado geral do paciente; e doença progressiva (DP), define o reaparecimento do tumor (recorrência, R) e/ou o desenvolvimento de metástases pulmonares (M).

A informação da data e causa da morte foi recolhida através do registo médico, quando disponível, ou através de conversas com veterinários referentes. A eutanásia foi utilizada num gato.

Posteriormente, procedeu-se à análise estatística descritiva dos dados e à construção de tabelas e gráficos através do programa Microsoft® EXCEL.

2. RESULTADOS

2.1. Identificação da Amostra

Dos nove felídeos, incluídos neste estudo com suspeita de sarcoma no local de injeção, dois (2/9; 22%) corresponderam ao sexo masculino e os restantes (7/9; 78%) ao sexo feminino (gráfico 1). Apenas um dos gatos, representante do sexo feminino, era sexualmente fértil (1/9).

A idade média dos felídeos, no ano em que se identificou a massa interescapular, correspondeu a 7,9 anos (mediana= 7; variação= 3-12 anos). No gráfico 2, verificou-se que 2 gatos (2/9; 22%) ainda eram jovens, com menos de três anos de idade; 3 (3/9; 33%) tinham idades compreendidas entre três e oito anos e 4 (4/9; 45%) tinham mais de oito anos de idade.

Gráfico 1- Frequência relativa do sexo dos gatos.

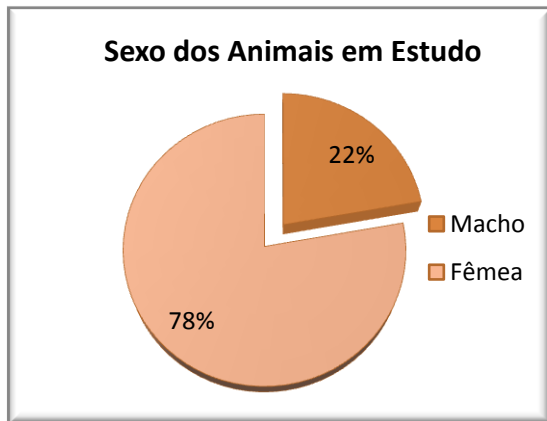


Gráfico 2- Frequência absoluta da idade dos animais no ano em que se identificou a massa interescapular.

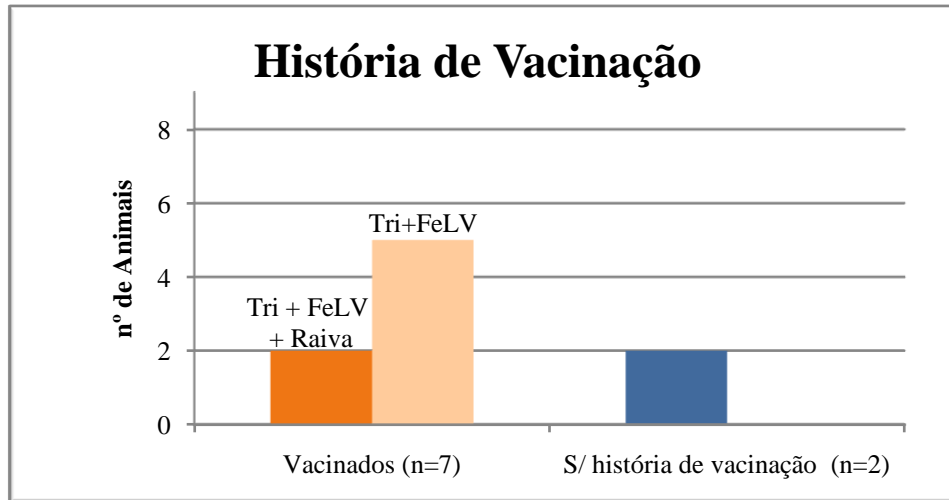


Em relação à raça dos animais, constatou-se que os nove gatos eram europeus comuns.

2.2 História Clínica

Uma revisão da história de vacinação revelou que dos nove gatos em estudo, dois (2/9) não se encontravam vacinados ou não apresentavam história de vacinação (gráfico 3).

Algumas considerações exercidas sobre a classe antigénica das vacinas administradas, revelaram que em sete felídeos vacinados, apenas dois (2/7; 29%) receberam vacinas contra o vírus da Rinotraqueíte, Calicivirus e Panleucopénia Felina (Tri), vírus da FeLV e contra o vírus da Raiva; e cinco (5/7; 71%) receberam as vacinas Trivalente e a do vírus da FeLV (gráfico3).

Gráfico 3- Estado imunitário dos 9 animais em estudo.

Os resultados dos testes para os vírus da imunodeficiência felina e da leucemia felina disponibilizados em 2 gatos apresentaram resultados negativos em ambos. As doenças concomitantes estavam descritas apenas num dos felídeos, que apresentava uma cardiomiopatia hipertófica felina e uma ligeira icterícia com as transaminases (GOT e GPT) elevadas (Anexo 3).

Relativamente à história clínica do nódulo/tumor, constatou-se que 4/9 gatos foram diagnosticados no ano de 2008, 4/9 no ano de 2007 e 1/9 no ano de 2006 (Anexo 3).

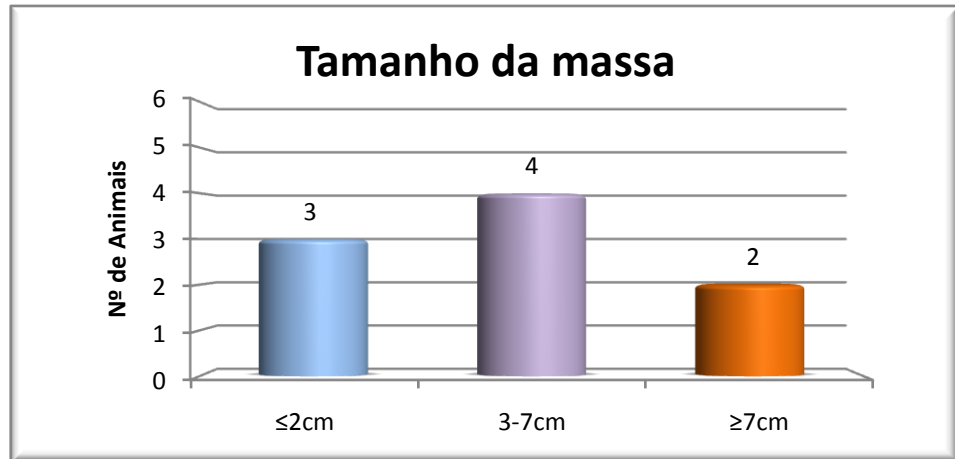
O número de vezes que o tumor ocorreu variou entre 1 a 4. Das 9 massas observadas, duas (2/9) corresponderam a fibrossarcomas recorrentes, tratados previamente em instituições exteriores. Num dos casos, o animal apresentou a quarta ocorrência tumoral, tendo sido submetido, anteriormente, a 3 intervenções cirúrgicas e a um ciclo de quimioterapia; num outro caso, o gato apresentou a segunda ocorrência tumoral e também tinha sido tratado, anteriormente, com cirurgia.

2.3. Apresentação Clínica

A descrição mais frequente da massa correspondeu a um nódulo de crescimento rápido, com uma consistência firme, sólido, mal delimitado, não doloroso, aderente ao tecido adjacente e a nível subcutâneo. Outras apresentações descreveram uma formação multinodular, com nódulos dispersos na zona da ferida, muito profundos (caso de um gato com um tumor de quarta ocorrência) e um caso com muita gordura em redor do nódulo.

À palpação, o tamanho da massa correspondeu em média a 4 cm de diâmetro (mediana= 3; variação= 1,5-10). Segundo o gráfico 4, pode observar-se que a maior percentagem de animais (45%) apresentou massas com 3 a 7 cm. Os dois tumores recorrentes tinham 10 e 3cm de diâmetro.

Gráfico 4- Diâmetro das massas apresentadas pelos 9 gatos em estudo, medido durante a palpação dos nódulos.



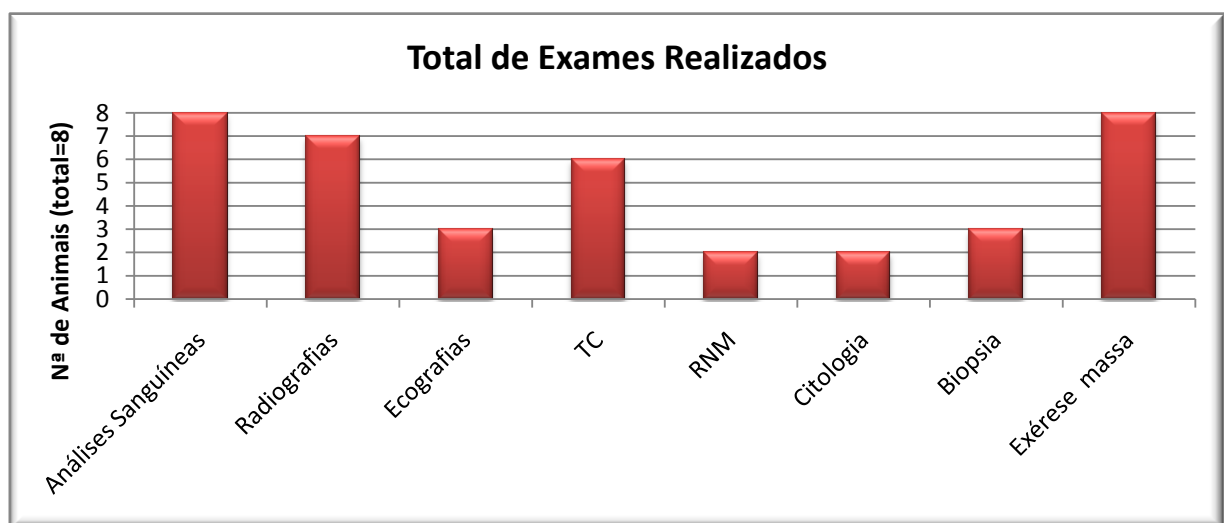
Relativamente à localização anatômica da massa, todas as massas foram observadas na região torácica dorsal, 7 na região interescapular, 1 na parede torácica dorsal e 1 na região caudal da escápula direita (Anexo 4).

2.4. Exames de Diagnóstico e Exames complementares

As análises sanguíneas, os exames imagiológicos topográficos (tomografia computadorizada ou ressonância magnética) e as avaliações histopatológicas das massas, obtidas após exérese cirúrgica, foram realizadas em todos os 8 gatos (gráfico 5).

Antes da intervenção cirúrgica no HCV, também se submeteram os animais a radiografias torácicas (7/8; 88%) e a ecografias abdominais (3/8; 38%). Para além das avaliações histológicas efectuadas após a exérese cirúrgica da massa, nalguns animais também se realizaram biopsias incisionais (3/8; 38%) e aspirações por agulha fina (citologias) (2/8; 25%) (gráfico 5).

Gráfico 5- Exames de diagnóstico e exames complementares.



Legenda: TC- tomografia computadorizada; RNM- ressonância magnética.

2.4.1. Análises Sanguíneas

Os exames sanguíneos (hemograma e perfil bioquímico), efectuados antes do procedimento cirúrgico, revelaram uma linfopénia ligeira no hemograma de 5/8 felídeos (63%) e um aumento dos níveis de glucose e diminuição dos níveis iónicos de potássio no perfil bioquímico em 3/8 gatos (38%).

2.4.2. Exames imagiológicos

A análise radiográfica do local identificou uma massa de opacidade de tecido-mole sem envolvimento aparente de tecido ósseo. Estas radiografias, realizadas antes da intervenção cirúrgica, não revelaram a presença de metástases em nenhum felídeo.

A exploração ecográfica do fígado, baço, rins, bexiga e aparelho digestivo identificou um abdómen compatível com a normalidade em todos os casos, em nenhuma se evidenciou metástases.

As tomografias computadorizadas (TC) foram realizadas a seis animais (6/8;75%) e as ressonâncias magnéticas (RNM) a dois (2/8; 25%).

Os resultados do TC revelaram uma massa com opacidade de tecido mole e de tamanho considerável. Nas RNMs observou-se uma lesão expansiva bilocular, com uma zona central de características RNM líquidas (de conteúdo celular e/ou proteico) e uma zona periférica sólida de aspecto capsular. Em nenhum dos exames supracitados, foi documentado invasão óssea local, mas na maioria dos casos o nódulo encontrava-se adjacente às apófises espinhosas e/ou escápula (5/8, 63%),

2.4.3. Exames citológicos

No exame citológico realizado num dos felídeos foram observadas células grandes, com núcleos de tamanho variável e com muitos vacúolos. A imagem citológica de um outro gato, foi compatível com o desenvolvimento de um processo tumoral de origem mesenquimatosa, em concreto com um sarcoma. Identificaram-se células pleomórficas, de perfil estrelado/fusifforme, com um citoplasma basófilo e um núcleo oval. De forma ocasional, também se detectou a presença de gigantismo nuclear com nucléolos muito evidentes.

2.4.4. Exames histopatológicos

Na tabela 4, descrevem-se os resultados das avaliações histológicas realizadas nos 8 felídeos, após biopsia incisional ou após a exérese cirúrgica da massa. Os resultados revelaram uma celulite granulomatosa de corpo estranho e sete fibrossarcomas. As suspeitas de FISS confirmaram-se em 87,5%.

Tabela 4- Resultado das avaliações histológicas.

Caso Nº	Nº de Ocorrências	Biopsia incisional (n=5)	Resultado	Massa removida (n=9)	Resultado
1	1	Antes 1ª cirurgia	Fibrossarcoma	Após 1ª cirurgia	Fibrossarcoma
2	1	Antes 1ª cirurgia	Fibrossarcoma	Após 2ª cirurgia Após 4ª cirurgia	Fibrossarcoma
	2	-	-		Fibrossarcoma
	4	1mês após a 4ª cirurgia	Tecido de Granulação	-	-
	5	2 meses após a 4ª cirurgia	Fibrossarcoma		
3	1	-	-	Após 1ª cirurgia	Fibrossarcoma
4	1	-	-	Após 1ª cirurgia	Celulite Granulomatosa
5	1	-	-	Após 1ª cirurgia	Fibrossarcoma
6	1	-	-	Após 1ª cirurgia	Fibrossarcoma
7	1	-	-	Após 1ª cirurgia	Fibrossarcoma
8	2	Antes 2ª cirurgia	Fibrossarcoma	Após 2ª cirurgia	Fibrossarcoma

2.4.4.1. Biopsia Incisional

Através da biopsia, realizada em três felídeos, foram identificados três fibrossarcomas. Conforme pode constatar-se pela tabela 4, o caso nº2 foi sujeito a três avaliações. Neste gato, o resultado do exame histológico, realizado um mês após a quarta exérese cirúrgica, revelou um tecido de granulação. No entanto, dois meses após a quarta cirurgia foi novamente identificado um fibrossarcoma.

As imagens histopatológicas revelaram uma proliferação de células fusiformes e/ou estreladas, grandes, pleomórficas, com núcleos ovóides ou alargados e nucléolos evidentes e dispostas em feixes com uma organização muito irregular. Algumas células gigantes multinucleadas e infiltrados linfoplasmocíticos também foram identificados.

No caso nº1, também se observaram áreas generalizadas de necrose de coagulação e várias áreas quísticas com aproximadamente 100-600µm, vazias de conteúdo e limitadas por um epitélio pavimentoso e mal definido em distintos pontos do tumor (tabela 4).

A imagem histopatológica do tecido de granulação (caso nº2) revelou um tecido com diferentes estados de reorganização, abundante neovascularização e em algumas áreas apreciou-se uma activação do endotélio com a presença de neutrófilos intra e extravasculares e uma moderada e dispersa matriz mucinosa basofílica. Num dos fragmentos observou-se um pequeno trajecto fistuloso (possíveis incisões), moderadamente profundo, com escassa presença de material estranho e neutrófilos intraluminais. O tecido possuía algumas características de inflamação aguda e fistulização e não se observou nenhuma contaminação bacteriana nem proliferação neoplásica.

2.4.4.2. *Exérese da Massa*

Após a exérese cirúrgica do nódulo procedeu-se à sua avaliação histológica e conforme pode constatar-se pela tabela 4.

Dos seis felídeos, que demonstraram massas de primeira ocorrência (6/8), o resultado histopatológico revelou fibrossarcoma em cinco (5/6) e uma celulite granulomatosa de corpo estranho em um (1/6). O exame histopatológico confirmou o resultado, isto é, fibrossarcoma, nos dois felídeos com tumores recorrentes (2/8).

O aspecto macroscópico dos 5 fibrossarcomas primários correspondeu a uma massa esbranquiçada, branda e por vezes bem demarcada. Numa amostra particular (caso nº 5), o tumor foi descrito como uma massa subcutânea multilobulada, esbranquiçada, com uma cavidade quística com aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, ocupada por um material amarelento necrótico/mucoso.

O aspecto microscópico revelou uma proliferação de células fusiformes dispostas em forma de feixes celulares densos, desordenados e orientados em todas as direcções e/ou camadas concêntricas. Observaram-se células pleomórficas, com núcleo ovóide ou alargado e citoplasma relativamente abundante eosinofílico e em algumas zonas, a substância intercelular apresentava um aspecto mixóide. Algumas células gigantes multinucleadas e infiltrados linfoplasmocíticos também foram identificadas.

O aspecto macroscópico dos dois fibrossarcomas recorrentes (caso nº2 e 8) correspondeu a uma massa subcutânea, de consistência firme, sólida e de coloração esbranquiçada.

O aspecto microscópico revelou também uma proliferação de células fusiformes dispostas em feixes desordenados e orientados em todas as direcções e/ ou em camadas concêntricas.

O caso nº 4 apresentou uma celulite granulomatosa de corpo estranho, de ocorrência primária. Macroscopicamente identificou-se uma placa de tecido subcutâneo, esbranquiçada, mal delimitada e de consistência variável.

A imagem microscópica revelou uma reacção inflamatória extensa no panículo adiposo, rodeando grandes cavidades repletas de material granular basófilo (corpo estranho, possivelmente restos de alguma substância injectada). Observou-se uma grande quantidade de macrófagos vacuolizados, células gigantes multinucleadas, linfócitos e algumas células plasmáticas. Descreveu-se ainda, a presença moderada de fibrose e em algumas zonas, cristais de colesterol associados à reacção granulomatosa. Na amostra não se observaram indícios de crescimento neoplásico.

2.4.4.3. Análise dos aspectos microscópicos

Os fibrossarcomas, confirmados histologicamente, foram classificados segundo um sistema¹ primariamente adaptado para cães, baseado na diferenciação celular, presença e extensão de necrose e índice mitótico (tabela 5).

Uma em 12 (8,3%) amostras de fibrossarcomas correspondeu ao grau I; 7 em 12 ao grau II (58,3%) e 4 em 12 (33,3%) ao grau III.

Tabela 5- Critérios para a classificação histológica das 12 amostras de fibrossarcomas

Caso n°	Exame	Grau de diferenciação	Mitoses	Necrose	Grau de malignidade (pontuação)
1	Biopsia	3	3	2	III (8)
	Exérese	3	2	2	III (7)
	Biopsia	2	3	1	II (6)
	Exérese após 2ª cirurgia	1	3	1	II (5)
	Exérese após 4ª cirurgia	2	3	1	II (6)
2	Biopsia 2 meses após 4ª cirurgia	3	1	1	II (5)
	Exérese	2	3	1	II (6)
3	Exérese	3	3	2	III (8)
5	Exérese	1	1	1	I (3)
6	Exérese	3	3	1	III (7)
8	Biopsia antes da 2ª cirurgia	2	3	1	II (6)
	Exérese após 2ª cirurgia	2	3	1	II (6)

Legenda: Para a diferenciação total (1= células tumorais semelhantes às células mesenquimatosas adultas; 2= tumores que têm um fenotipo histológico definido; 3= tumores indiferenciados), índices mitóticos (1= 1-9 figuras mitóticas por dez campos de 400x; 2= 10-19 figuras por dez campos de 400x; 3= 20 ou mais figuras por dez campos de 400x), e necrose (1= nenhuma necrose; 2= necrose ocupa menos de 50% do tecido; 3= necrose ocupa mais de 50% do tecido). As pontuações finais de 3 ou 4 designam o tumor de grau I; pontuações de 5 ou 6 designam grau II; e as pontuações de 7, 8, ou 9 designam grau III.

Uma proeminente ou abundante inflamação, sob a forma de infiltrados linfoplasmocíticos periféricos, esteve presente em 7 das 14 (50%) amostras analisadas. A salientar que destas sete amostras fizeram parte as que revelaram ser celulite granulomatosa e tecido de granulação.

Considerando apenas as amostras de fibrossarcoma, a inflamação esteve presente em 5 (5/12; 41,7%).

As células gigantes multinucleadas (CGM) foram observadas em 8 das 14 amostras (57,14%), constituindo uma delas a celulite granulomatosa de corpo estranho.

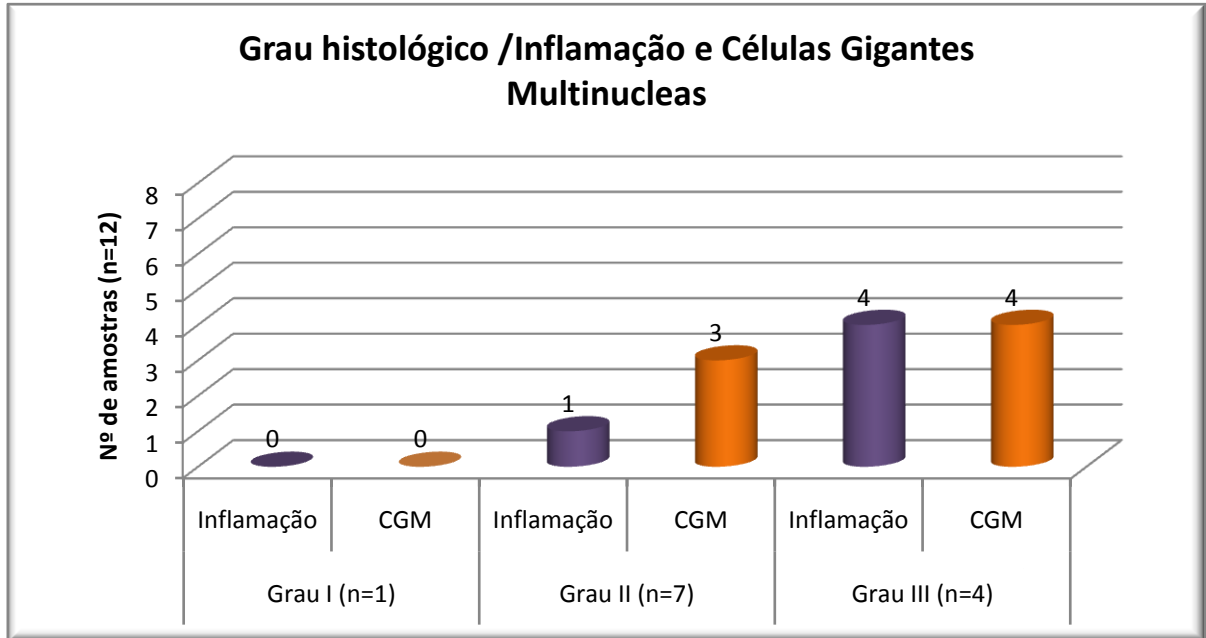
Considerando apenas as amostras de fibrossarcoma, as CGM foram observadas em 7 (7/12; 58,3%).

Pelo gráfico 6, pode constatar-se que o fibrossarcoma classificado de grau I não apresentou células inflamatórias ou CGM; dos sete tumores de grau II, 1 apresentou células inflamatórias

¹Kuntz, C.A., Dernell, W.S., Powers B.E., Devit, C., Rodney, C.S. & Withrow, S.J. (1997). Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75cases (1986-1996), *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211, 1147-1151.

(sem CGM) e 3 apresentaram CGM, os restantes (4) tumores de grau II não apresentaram nenhuma das células mencionadas. Por último, dos quatro tumores de grau III todos apresentaram CGM e células inflamatórias.

Gráfico 6- Comparação entre inflamação e células gigantes multinucleadas com o grau histológico.

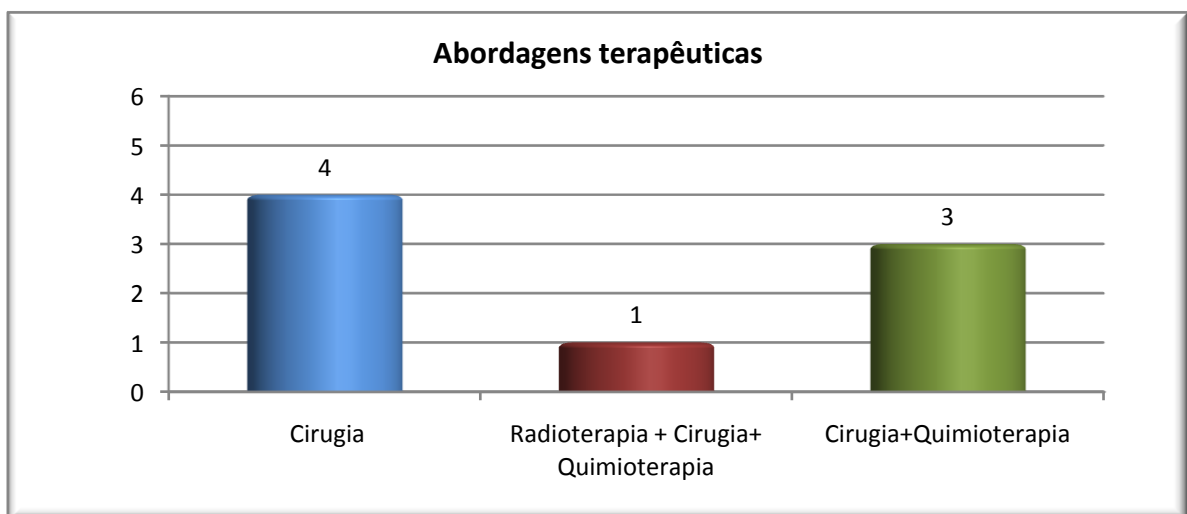


Legenda: CGM- células gigantes multinucleadas

2.5. Terapêutica Instituída

Dos 8 felídeos submetidos a tratamento, 4 (4/8; 50%) foram tratados exclusivamente com cirurgia; 3 (3/8; 38%) cirurgia e quimioterapia e 1 (1/8;13%) radioterapia, cirurgia e quimioterapia (gráfico 7).

Gráfico 7- Diferentes abordagens terapêuticas a que foram submetidos os 8 felídeos.



2.5.1. Cirurgia

As 8 massas foram removidas através de uma excisão cirúrgica ampla e radical.

O número de intervenções realizadas a cada animal variou entre 1 a 4 (média 1,5; mediana 1).

A cirurgia foi pela primeira vez efectuada em seis gatos (6/8; 75%) com massas de primeira ocorrência. Nos 2 animais (2/8; 25%) submetidos a múltiplas cirurgias, o tempo médio entre cada excisão variou entre 2 a 12 meses.

Relativamente aos tecidos removidos, 3 gatos receberam uma ressecção confinada ao tecido mole, 1 gato recebeu uma ressecção do tecido mole e remoção das apófises espinhosas, 1 gato recebeu uma ressecção de tecido mole e escapulectomia parcial e 3 gatos receberam ressecção do tecido mole, escapulectomia parcial e remoção das apófises espinhosas (tabela 6).

Tabela 6- Considerações cirúrgicas

Caso Nº	Nº Ocorrências	Tamanho da massa (cm)	Numero de Cirurgia realizada no HCV/ Material removido	Pós-operatório	Margens Cirúrgicas /Grau Histológico
1	1	4	1ª Cirurgia: Nódulo Interescapular (5 cm); músculos adjacentes (3cm); 5 apófises espinhosas; parte dorsal da escápula direita.	+ 2 cirurgias de reintervenção de ferida*	Limpas/ FS III
2	4	10	4ª Cirurgia: Massa multinodular de (10x8x6cm); músculos adjacentes (3cm); apófises espinhosas; escápula.	+ 1 cirurgia para sutura de ferida‡	Limpas /FS II
3	1	3	1ª Cirurgia: Nódulo interescapular e músculos adjacentes (5x3cm).	Ferida com boa cicatrização	Limpas/ CGC
4	1	2	1ª Cirurgia: Nódulo interescapular (11,5x10x 5cm). Músculos adjacentes (3cm).	+ 1 cirurgia para sutura de ferida	Limpas /FS II
5	1	7	1ª Cirurgia: Nódulo interescapular (8x5x3cm); músculos adjacentes (3cm).	Ferida com eritema, crosta e prurido	Com células tumorais/ FS III
6	1	1,5	1ª Cirurgia: Nódulo (1,5cm); músculos adjacentes (3cm); apófises espinhosas.	Ferida com boa cicatrização	Limpas /FS I
7	1	4	1ª Cirurgia: Nódulo (4cm) e músculos adjacentes (5x10cm) ; escápula (direita).	Ferida com boa cicatrização	Limpas /FS III
8	2	3	2ª Cirurgia: Nódulo interescapular (2x2,5 cm); músculos adjacentes (3cm); apófises espinhosas (T3-T6); escápula direita (terço superior).	S.R.	Com células tumorais /FS II

Legenda: FS- fibrossarcoma; CGC- celulite granulomatosa de corpo estranho; SR- sem registo; * supuração purulenta a nível caudal da escápula e orifício de drenagem; ‡ muita tensão na zona de incisão e ferida com supuração.

As cirurgias mais agressivas, ressecção do tecido mole, escapulectomia parcial e remoção das apófises espinhosas, foram realizadas a fibrossarcoma primário de grau III, identificado anteriormente por biopsia incisional (caso nº1), e a dois tumores recorrentes de grau II (casos nº 2 e 8) (tabela 6).

As células tumorais nas margens cirúrgicas foram observadas em dois casos (5 e 8) (tabela 6). No caso nº2, na segunda cirurgia realizada numa instituição exterior, também se tinham identificado células tumorais nas margens

Ao longo do pós-operatório, 3 gatos sofreram deiscência de suturas tendo sido novamente sujeitos a cirurgia para reintervenção de ferida (tabela 6).

2.5.2. Quimioterapia

No total quatro felídeos (4/8) receberam quimioterapia (3 cirurgia e quimioterapia e 1 radioterapia, cirurgia e quimioterapia).

O número de ciclos administrados variou de 1 a 2; e o número de sessões de 1 a 7 (média e mediana de 4,4 e 4 respectivamente). O tempo decorrido entre a cirurgia e a quimioterapia variou de 1 a 2 meses.

Conforme pode constatar-se pela tabela 7, dois gatos foram sujeitos a dois ciclos de doxorrubicina. No caso nº2 a quimioterapia foi administrada após a segunda e quarta exérese cirúrgica do tumor; e no caso nº5 os dois ciclos foram administrados antes e após a cirurgia.

Todos os casos em se observaram células tumorais nas margens cirúrgicas foram submetidos a quimioterapia. Os gatos sujeitos a quimioterapia apresentaram fibrossarcomas de grau II ou III.

Tabela 7- Considerações da quimioterapia

Caso Nº	Nº de ocorrências	Natureza do tumor	Margens Cirúrgicas	Ciclos quimioterápicos	Observações
1	1	FS grau III	Limpas	1º C: 4sessões (1mg/kg)	2 meses após cx
	2	FS grau II	C.T.	1º C: 3sessões (1mg/kg)	1 mês após 2ªcx
2	4	FS grau II	Limpas	2º C: 7 sessões (1mg/kg)	4 meses após a Radioterapia
					2 meses após 4ªcx
5	1	FS grau III	C.T.	1º C: 7sessões (1mg/kg)	Antes das cx
				2º C : (?) (4mg/kg)	1 mês após a cx
8	2	FS grau II	C.T.	1º C: 1 sessão (1mg/kg)	2 meses após cx

Legenda: FS- fibrossarcoma; C.T.- células tumorais; C- ciclos quimioterápicos; cx- cirurgia; (?) - animal em tratamento.

Em relação aos efeitos quimioterápicos, observou-se no caso nº5, um crescimento da massa a seguir à primeira sessão do primeiro ciclo, mas passados dois meses (com 4mg/kg IV) observou-se uma redução do tumor em 50%.

Os efeitos adversos registados corresponderam, no caso nº5 após a última sessão de quimioterapia pré-operatória, hipotricose e apatia e os resultados das análises sanguíneas demonstravam apenas uma ligeira linfopénia. No caso nº8, com apenas uma sessão de doxorrubicina administrada, o gato revelou uma possível falência renal que acabou por não se confirmar. Por último, o caso nº2 veio a demonstrar uma neutropénia grave ($1,0 \times 10^3$ células/ μ l; valores de referência, $2,5$ a $11,3 \times 10^3$ células/ μ l) entre a segunda e a terceira sessão do segundo ciclo quimioterápico, tendo-se optado por diminuir a dose e administrar antibiótico (amoxicilina trihidratada, Synolox®). Por volta da quarta sessão o tumor, de quinta ocorrência, continuou a crescer atingindo os 10 cm de diâmetro. Entre a 5ª e a 6ª dose, o gato apresentou um quadro de vômito (4 vezes/semana). Na 7ª sessão observou-se um novo crescimento tumoral e realizou-se um hemograma e um perfil bioquímico, cujos resultados

foram sensivelmente normais (neutrófilos/ μl = $9,8 \times 10^3$ células/ μl ; creatinina = 1,47 mg/dl e ureia = 100,6 mg/dl; valores de referência, 0,8 a 1,8 mg/dl e 42,8 a 64,2 mg/dl respectivamente).

2.5.3. Radioterapia

A radioterapia foi administrada como tratamento pré-cirúrgico num único felídeo (1/8), com a quarta ocorrência tumoral. Após a terapêutica o animal evidenciou uma ligeira irritação e alopecia no local da irradiação, mas sem sinais clínicos de doença pulmonar. O tempo decorrido entre a radioterapia e a cirurgia foi de 2 meses.

2.6. Evolução clínica

Na última observação efectuada aos 7 felídeos que finalizaram o tratamento, 2 (29%) sobreviveram e 5 morreram (71,4%).

O tempo médio de sobrevivência total correspondeu a 418 dias (14 meses), com uma variação de 190 a 913 dias.

O intervalo médio livre de doença foi 174 dias (5,8 meses), com uma variação de 44 e 344 dias.

Dois gatos apresentaram-se com recorrência tumoral, logo no início do tratamento no HCV. O tempo de sobrevivência médio para estes animais correspondeu a 606 dias.

Considerando os animais que se apresentaram à consulta com tumores recorrentes e os que recidivaram após o tratamento no HCV, o índice de recorrência foi de 38% e o índice de metástases de 29%.

Os três animais que evidenciaram metástases e/ou recorrência tumoral morreram.

Na tabela 8, conjugou-se os dados relativamente à evolução clínica dos gatos.

Tabela 8- Sumário da evolução clínica dos casos.

Caso Nº	Sexo *	Idade (anos)	Localização do tumor	Tamanho da Massa (cm)	Nº de Ocorrências	Margens cirúrgicas/ Grau Histológico ‡	Tratamento	Resposta †	Duração da resposta, ILD (dias) #	TSØ total (dias)
1	MC	6	Interescapular	4	1	Limpas/Grau III	Cirurgia + Quimioterapia	DP (R e M)	344	400
				?	1	?	Cirurgia		372	
2	MC	11	Interescapular	?	2	C.T./Grau II	Cirurgia + Quimioterapia	DP (R)	124	913
				?	3	?	Cirurgia		67	
				10	4	Limpas/Grau II	Radioterapia + Cirurgia + Quimioterapia	62		
3	FE	12	Interescapular	3	1	Limpas/Grau II	Cirurgia	DP (M)	168	190 (Eutanásia)
4	FE	10	Interescapular	2	1	CGC	Cirurgia	RM	---	+ 372
5	FF	11	Interescapular	7	1	CT/Grau III	Quimioterapia+ Cirurgia+ Quimioterapia	Tto	Tto	Tto
6	FE	3	Parede Torácica Dorsal	1,5	1	Limpas/ Grau I	Cirurgia	RM	---	+345
7	FE	7	Zona caudal da escápula	4	1	Limpas/Grau III	Cirurgia	RP	254	287
8	FE	3	Interescapular	?	1	?	Cirurgia	DP (R)	217	298
				3	2	CT/Grau II	Cirurgia + Quimioterapia	RP	44	

Legenda: *MC= macho castrado; FE= fêmea esterilizada; FF= fêmea fértil

‡CGC- celulite granulomatosa de corpo estranho; CT = células tumorais nas margens

†DP= doença progressiva (recorrência (R) ou metástases (M)); Tto= animal em tratamento; RM= resposta maior; RP= resposta parcial

Duração da resposta = intervalo livre de doença = o tempo entre a data da última cirurgia aplicada até à data em qual a progressão do tumor foi documentada.

Ø Tempo de Sobrevivência = tempo desde a primeira documentação da doença até à morte ou até à última comunicação entre o proprietário e o veterinário referente.

Constatou-se que os animais que alcançaram os maiores tempos de sobrevivência (400 e 913 dias) eram gatos machos.

A idade dos animais não aparentou ter qualquer relação com o prognóstico.

Analisando apenas os tumores primários, é de salientar que os tumores maiores corresponderam a fibrossarcomas de grau III.

Em relação à natureza da massa, algumas considerações podem ser estabelecidas em relação à duração da resposta terapêutica e aos tempos de sobrevivência dos animais.

A celulite granulomatosa de corpo estranho e o fibrossarcoma de grau I revelados em dois felídeos (casos nº 4 e 6), não conduziram ao desenvolvimento de metástases ou recorrências e os animais sobreviveram.

Os três gatos, dois com tumores recorrentes, com fibrossarcomas de grau II apresentaram um TS médio de 467 dias (15,6 meses) e um ILD de 252 dias (8,4 meses). Para os tumores recorrentes considerou-se o ILD após a cirurgia da primeira ocorrência tumoral.

Os dois felídeos com fibrossarcomas de grau III apresentaram um TS médio 344 dias (11,5 meses) e um ILD de 299 dias (10 meses). O terceiro gato com fibrossarcoma de grau III encontrava-se em tratamento.

Relativamente ao tratamento aplicado, dos 4 gatos em que a cirurgia consistiu na única abordagem terapêutica, 2 continuavam vivos e sem sinais clínicos de doença, e os restantes 2, tiveram um TS e um ILD médios de 239 e 211 dias, respectivamente.

Constatou-se também, que o intervalo de tempo entre a intervenção cirúrgica e o reaparecimento do tumor era, significativamente, mais pequeno para os animais submetidos a >1 cirurgia (62 e 44 dias). Nos dois casos (nº 2 e 8) em que múltiplas cirurgias foram realizadas, o tempo médio entre excisões variou de 12 meses a 2 meses. No caso nº2, a duração da resposta na primeira ocorrência foi de 372 dias (12 meses) diminuindo para 124, 67 e 62 dias nas seguintes recorrências do tumor. No caso nº 8, também se observou a diminuição da duração da resposta da primeira para a segunda ocorrência (217 para 44 dias, respectivamente).

As células neoplásicas foram identificadas nas margens cirúrgicas de 3 gatos (casos nº 2 na segunda ocorrência, nº 5 e nº 8). Um animal encontrava-se ainda em tratamento, um outro faleceu por falência renal e um demonstrou recorrência tumoral ao fim de 124 dias.

Dos 3 gatos, em que se aplicou cirurgia e quimioterapia sem radioterapia, 1 encontrava-se em tratamento e os restantes 2 apresentaram um TS e um ILD de 349 dias e 194 dias, respectivamente.

Verificou-se que o gato (caso nº2) submetido a uma terapêutica combinada de radioterapia, cirurgia e quimioterapia alcançou o tempo de sobrevivência total de 913 dias; 30 meses. O ILD correspondeu a 62 dias (2 meses).

Posteriormente realizou-se uma caracterização das respostas observadas após o tratamento realizado no HCV.

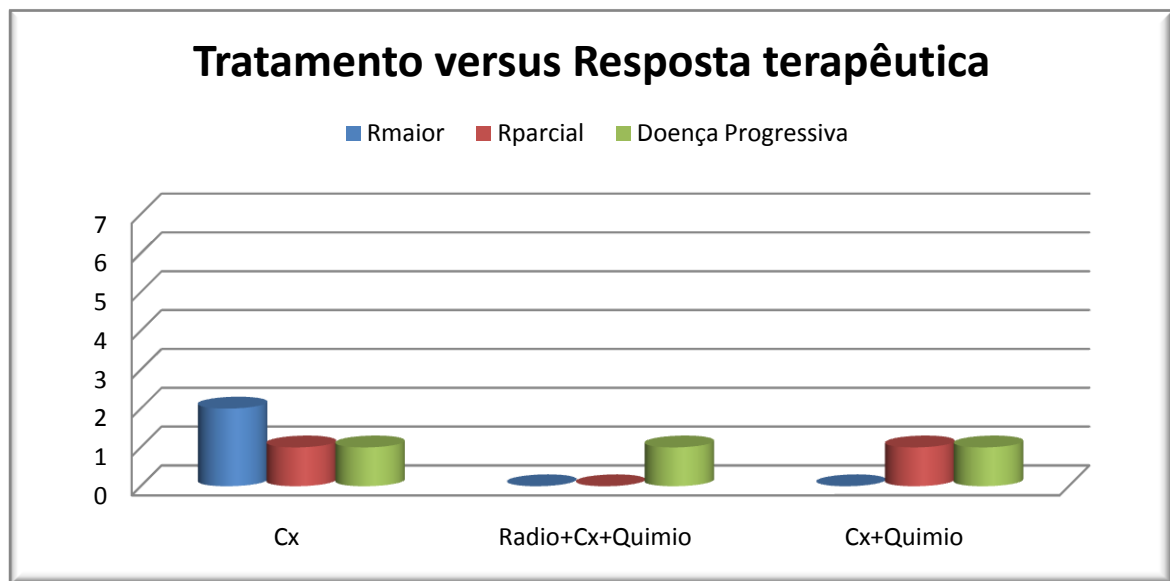
A resposta maior, definida como a resolução clínica do tumor detectável, foi observada em dois felídeos. Passados mais de 300 dias (> 10 meses), os dois animais ainda sobreviviam e sem qualquer evidência de reaparecimento nodular.

A resposta parcial, definida como a resolução clínica do tumor detectável mas associada a um agravamento do estado geral do paciente, foi observada em dois gatos (casos, nº 7 e 8). A duração das respostas foi de 254 e de 44 dias. O caso nº7 sofreu um agravamento de um problema hepático e o caso nº8 veio a desenvolver uma falência renal, que se suspeitou ser a causa de morte neste gato.

A doença progressiva, que define o reaparecimento do tumor no local de ressecção e/ou do desenvolvimento de metástases pulmonares, foi observada em três felídeos (casos nº1, 2 e 3).. A duração da resposta no animal com evidência radiográfica de metástases pulmonares foi de 168 dias (5 meses); no animal com sinais clínicos de recorrência tumoral (5ª ocorrência) de 67 dias (2 meses); e no animal com evidência de metástases e sinais de recorrência de 344 dias (11 meses).

Uma comparação entre o tratamento aplicado e o tipo de resposta pode ser observada através do gráfico 8.

Gráfico 8- Resposta terapêutica de 7 gatos que finalizaram o tratamento instituído



Legenda: Cx- cirurgia; Radio- radioterapia; Quimio- quimioterapia; Rmaior- resposta maior; Rparcial- resposta parcial.

As respostas maiores foram observadas apenas nos animais que receberam cirurgia como único tratamento, as respostas parciais foram observadas num animal submetido exclusivamente a cirurgia e num outro que recebeu quimioterapia adjuvante; e as respostas progressivas foram observadas em todas as três diferentes abordagens terapêuticas.

A causa presumida da morte dos animais foi a progressão tumoral, exceptuando-se nos casos que desenvolveram hepatopatia e de nefropatia. O único caso em que se recorreu à eutanásia, a decisão foi tomada devido ao aparecimento de líquido na cavidade torácica compatível com quilotórax e à presença de metástases pulmonares.

3. DISCUSSÃO

O presente estudo retrospectivo, efectuado numa população de 9 felídeos, não permite retirar ilações absolutas. Como a amostra é pequena apenas determinadas conclusões podem ser consideradas válidas.

Na identificação da população em estudo, constatou-se uma maior frequência para o sexo feminino (78%). No entanto, em duas gatas o diagnóstico não se confirmou, num caso porque o animal não voltou a comparecer, e no outro porque a massa revelou ser uma celulite granulomatosa de corpo estranho. Segundo Hendrick (1999) não existe para o sarcoma no local de injeção uma predisposição para o sexo.

A idade média dos felídeos, no ano em que se identificou a massa interescapular, correspondeu a 7,9 anos, com uma variação de 3 a 12 anos. Segundo Dubielzig *et al.* (1993) a idade média remonta os 8.1 anos, mas o tumor pode ser observado em animais jovens de 3 anos; num outro estudo desenvolvido por Kobayashi e colaboradores (2002) a idade média de 92 gatos correspondeu exactamente à observada neste estudo.

A história de vacinação foi disponibilizada para 7 dos 9 gatos em estudo, e para os restantes (2) animais considerou-se que os mesmos não receberam protecção imunitária contra as doenças felinas por não constar essa informação na história clínica do animal. O facto da maioria dos felídeos encontrar-se vacinado (77,8%), vem de encontro ao que tem sido mencionado desde 1991: a possibilidade dos fibrossarcomas poderem aparecer nos locais de vacinação/injecção em gatos (Hendrick & Goldschmidt, 1991). A vacina pode não ser suficiente para causar o desenvolvimento de FISS, (dois animais não receberam qualquer vacina) mas pode funcionar como uma causa predisponente.

Dos animais vacinados, observou-se que todos tinham recebido a vacina contra o vírus da Leucemia Felina e apenas 29% contra o vírus da raiva. O estudo desenvolvido por Kass e colaboradores (1993) também identificava um maior número de animais com FISS vacinados contra FeLV que contra a Raiva, embora essa diferença não fosse muito significativa.

Os estudos que têm sido desenvolvidos (Dubielzig *et al.*, 1993; Esplin *et al.*, 1993; Hendrick, 1994; Macy & Hendrick, 1996; Macy, 1995, 1997, 1999; Kass *et al.*, 2003) não comparam, propriamente, a classe antigénica das vacinas com o risco de FISS, mas sim o tipo de adjuvante contido nestas. Macy & Hendrick (1996, citado por Kass *et al.*, 2003) observaram que o alumínio contido nas vacinas da FeLV pode induzir uma maior reacção inflamatória local que as vacinas da FeLV que não o contêm, embora o mesmo não seja verdade para as vacinas da raiva. Como não foi possível recolher a informação relativa ao tipo de vacinas (e a sua constituição em termos de adjuvante) administradas, não é possível obter nenhuma conclusão entre o tipo de vacinas e o aumento do risco de desenvolvimento de FISS.

O tempo médio entre a última vacinação e o aparecimento da doença não foi calculado, uma vez que essa informação só constava em dois animais. Num, a última vacinação administrada correspondeu ao ano de 2004 (4 anos antes do aparecimento da massa interescapular), e num outro, um ano tinha decorrido desde a última vacinação e o aparecimento do tumor. Segundo McEntee & Page (2001), os sarcomas podem desenvolver-se 2 meses a 10 anos após a vacinação.

Os anteriores estudos retrospectivos, falharam em demonstrar uma associação entre evidência serológica de infecção com FeLV ou FIV e os sarcomas associados a vacinas (Hendrick *et al.*, 1994; Ellis *et al.*, 1996; Kidney *et al.*, 2000). No presente estudo os testes para os vírus da imunodeficiência felina e da leucemia felina foram realizados em dois animais, como a amostra é muito pequena, nenhuma conclusão foi retirada.

Segundo Hendrick & Hershey (2009) estes sarcomas são tumores mais agressivos que os tumores não relacionados com vacinação, apresentando elevados índices de crescimento e de recorrência. Antes do tratamento realizado no HCV, 22% dos nódulos interescapulares corresponderam a fibrossarcomas recorrentes.

À palpação, o nódulo foi descrito como uma massa de crescimento rápido, de consistência firme, sólida, mal delimitada, não dolorosa e aderente aos tecidos adjacentes. Um tumor recorrente, apresentou uma forma multinodular. Estas descrições correspondem à típica apresentação clínica dos sarcomas associados a vacinas, segundo Hendrick (1999) os tumores apresentam-se como massas bem demarcadas, parcialmente encapsuladas, não dolorosas, variando desde uma forma solitária, nódulos firmes a massas difusas. Interessante pode ser o facto, de que no único caso em que se observou muita gordura em volta do nódulo, a avaliação histológica da massa após a exérese cirúrgica revelou uma celulite granulomatosa de corpo estranho que não voltou a ocorrer.

Em relação ao tamanho da massa, em média 4 cm de diâmetro (variação, 1,5 cm a 10 cm) também corrobora com o que tem sido relatado noutros estudos. Num estudo retrospectivo com 78 casos (Cohen *et al.*, 2001) observou-se uma média de 4,5cm (variação 0,25 cm a 8 cm).

Segundo Kass e colaboradores (2003), a região torácica dorsal corresponde ao local anatómico mais comum para a localização destes tumores (84%). No presente estudo a região habitualmente utilizada para vacinação/injecção foi identificada como sendo a mais frequente para o local de desenvolvimento tumoral: todos os gatos apresentaram massas na região torácica dorsal.

A diferença entre denominar sarcoma de tecido mole ou sarcoma associado a vacinas recai muitas vezes na localização da massa. Se o tumor localizar-se no topo da cabeça ou na porção

mais distal do membro, é denominado não associado a vacinas; se for na porção distal do pescoço ou na região interescapular, é denominado sarcoma associado a vacinas (VAFSTF, 2005). Por este motivo, os gatos observados no período de estágio com massas de localização interescapular foram incluídos neste estudo.

Um dos 9 gatos não voltou a comparecer nas consultas, e os procedimentos de diagnóstico não foram realizados, porém o animal foi incluído neste estudo, uma vez que a massa na avaliação clínica revelou ser compatível com um sarcoma associado a vacinas. Segundo VAFSTF (2005), qualquer massa localizada num local de vacinação que persista por mais de 3 meses, com um diâmetro superior a 2 cm ou que continua a crescer de tamanho por mais de 1 mês após a vacinação deve ser avaliada com forte suspeita para FISS. No entanto, é importante realizar a biopsia da massa para determinar a natureza da lesão (McEntee & Page, 2001).

Segundo McEntee & Page (2001) as fases iniciais para avaliar um paciente com um possível sarcoma associado a vacinas incluem um exame imagiológico e avaliação histopatológica da massa; radiografias torácicas e, em alguns casos, ecografias abdominais. Rotineiramente também se deve avaliar o estado geral de saúde dos gatos através de análises sanguíneas (hemograma e perfil bioquímico).

No presente estudo, os primeiros passos iniciaram-se com as análises sanguíneas a todos os 8 felídeos, seguidas pelos exames de imagem, que incluíram radiografias torácicas, ecografias abdominais, tomografias computadorizadas ou ressonâncias magnéticas; e em avaliações histopatológicas dos nódulos.

As análises sanguíneas não constituíram, propriamente, exames de diagnóstico, mas foram importantes para avaliar se o animal reunia condições para superar as terapêuticas instituídas (ex, cirurgia); para eliminar doenças concomitantes; e, por último, para controlo, principalmente, da função renal, nos animais sujeitos a quimioterapia. Os resultados destas análises revelaram uma linfopénia ligeira no hemograma em 63% dos felídeos e um aumento ligeiro dos níveis de glucose e diminuição dos níveis iónicos de potássio no perfil bioquímico em 38% dos gatos. A maioria dos estudos não descreve estas observações e a autora considera que estas alterações se deveram a uma situação normal de stress. Num dos animais, também se registou um aumento das transaminases hepáticas, pelo que, juntamente com o tratamento para o sarcoma no local de injeção, foram efectuados procedimentos de diagnóstico e de tratamento para esta doença (tendo sido sugerido uma possível histoplasmose).

As radiografias torácicas foram realizadas em duas fases: antes da intervenção cirúrgica, para detectar metástases e após o tratamento, para acompanhar a evolução clínica dos animais. Na

primeira fase identificou-se uma massa de tecido-mole sem aparente envolvimento de tecido-ósseo.

Segundo a VAFSTF (2005), com base na localização do tumor e também para identificar outras doenças subjacentes, a ecografia abdominal pode ser indicada. O objectivo deste exame, efectuado em três gatos, consistiu em detectar possíveis metástases e também para despistar outras doenças concomitantes.

A aparência dos FISS e a aparente invasão tumoral pode em alguns casos ser mal interpretada. Ao exame imagiológico topográfico, alguns tumores relativamente pequenos têm demonstrado ser muito invasivos. Por isso, é extremamente recomendada a realização de uma tomografia computadorizada ou de uma ressonância magnética para determinar a extensão do tumor antes da intervenção terapêutica (McEntee & Page, 2001).

O HCV apenas tinha o serviço de TC, razão pela qual este exame foi utilizado com maior frequência nos animais em estudo, as RNM foram realizadas em instituições exteriores. Em 63% das imagens observadas, o nódulo contactava com as apófises espinhosas e/ou escápula, embora não se tenha observado invasão óssea. Dada a natureza agressiva do tumor, mesmo sem aparente invasão óssea, na maior parte dos casos retirou-se parte da escápula e das apófises espinhosas.

Apenas duas avaliações citológicas foram realizadas e em instituições exteriores. Segundo a VAFSTF (2005), a aspiração por agulha-fina é considerada um método incerto para o diagnóstico de FISS e não é recomendada. Num dos felídeos, a citologia foi realizada para descartar um lipoma e acabou por se observar células grandes e anisocariose. Num outro animal, o patologista clínico identificou um processo tumoral, sugerindo um sarcoma. Em ambos os casos, após a exérese cirúrgica da massa, confirmou-se um fibrossarcoma, de grau III.

A biopsia é necessária para um diagnóstico definitivo e permite determinar a magnitude da cirurgia, isto é, lumpectomia *versus* cirurgia agressiva (Macy & Couto, 2001). Embora a VAFSTF (2005) sugira a realização de biopsia incisional antes da intervenção cirúrgica, nos casos em estudo, a maioria das avaliações histológicas foram realizadas após a exérese da massa. Nos casos em que se efectuaram os dois procedimentos o resultado acabou por ser o mesmo.

Segundo vários autores (Hendrick & Brooks, 1994; Doddy *et al*, 1996; Macy & Bergman, 1995; Macy & Hendrick, 1996; Couto *et al*, 2002) a maioria dos FISS são fibrossarcomas.

No presente estudo, verificou-se que todos os sarcomas corresponderam a fibrossarcomas.

Histologicamente a maioria dos sarcomas no local de injeção têm um elevado grau de pleomorfismo nuclear, atipia celular e células gigantes multinucleadas. Muitos, mas não todos

apresentam áreas centrais de necrose, agregados periféricos de linfócitos e macrófagos (Hendrick & Hershey, 2009).

A aparência microscópica dos fibrossarcomas em estudo revelou uma proliferação de células grandes, fusiformes e/ou estreladas, pleomórficas, dispostas em feixes com uma organização muito irregular, com núcleos ovóides ou alongados e nucléolos evidentes. A mesma imagem histológica foi observada em tumores primários e recorrentes.

O sistema de gradação utilizado para os sarcomas de tecido mole em medicina humana e previamente utilizado para caracterizar os sarcomas caninos veio também permitir a separação dos fibrossarcomas felinos em três grupos baseando-se em claros aspectos microscópicos. Trata-se de um sistema que classifica os sarcomas de 1 a 3 (sendo o grau 1, o menos agressivo e o grau 3, o mais agressivo), baseado na diferenciação celular, actividade mitótica e quantidade de necrose tumoral (Couto *et al.*, 2002).

A análise destes aspectos, nos fibrossarcomas em estudo, concluiu que 8,3% amostras corresponderam a fibrossarcomas grau I; 58,3% de grau II e 33,3% de grau III. Estes resultados traduzem a natureza agressiva deste tumor, uma vez que apenas uma das amostras era de grau I.

Segundo Couto e colaboradores (2002) a descoberta de células inflamatórias nos FISS, em maior percentagem que a encontrada em fibrossarcomas não associados a vacinas, sugere que a reacção inflamatória desempenha um papel importante na oncogénese destes sarcomas.

A inflamação esteve presente, sob a forma de infiltrados linfoplasmocíticos periféricos, em 41,7% dos fibrossarcomas analisados neste estudo. A percentagem é inferior, à que foi descrita anteriormente, mas ainda assim significativa, mantendo-se assim a hipótese da importância da inflamação nestes tumores. Interessante, pode ser o facto de se ter identificado em todos os fibrossarcomas de grau III (os mais agressivos) a presença da inflamação.

Segundo Couto e colaboradores (2002) as células gigantes multinucleadas são um achado comum nos fibrossarcomas associados a vacinas. Num estudo desenvolvido por estes autores as CGM estiveram presentes em 75% dos fibrossarcomas de grau III, 61,9% de grau II e nenhuma nos de grau I.

No presente estudo identificou-se CGM em 58,3% dos fibrossarcomas. A análise dos dados também sugere que a presença destas células pode indicar um fenotipo menos diferenciado, ou seja, mais agressivo de tumor, na medida que em todos os 4 fibrossarcomas de grau III foram encontradas CGM, e no caso do fibrossarcoma de grau I, nenhuma célula foi identificada.

Um tecido de granulação foi identificado numa das biopsias. Este tecido apresentou algumas características de inflamação aguda e nenhuma de contaminação bacteriana ou proliferação

neoplásica. Tendo em conta que esta amostra correspondia a um tumor recorrente, ter sido obtida por biopsia incisional, e pelo facto dos tumores serem muitas vezes contínuos com o tecido de granulação que envolve as áreas de necrose no local de vacinação (Couto *et al.*, 2002), não seria correcto excluir a hipótese de fibrossarcoma, pelo que passado um mês realiza-se outra biopsia no local e confirma-se o tumor.

A maioria dos animais foi tratada exclusivamente com cirurgia. Segundo Hendrick & Hershey (2009) a excisão cirúrgica agressiva assume o papel principal no tratamento de FISS, no entanto, a terapia combinada com radioterapia e/ou quimioterapia prolonga o tempo de sobrevivência.

Segundo Hershey e colaboradores (2000) a remoção de FISS através de uma primeira excisão cirúrgica radical permite um maior intervalo livre de doença que a remoção do tumor apenas com uma excisão marginal. Razão pela qual, a exérese do nódulo em todos os gatos foi realizada através de uma larga e radical excisão cirúrgica com pelo menos 3 cm de margem, independentemente da utilização de terapêuticas adjuvantes.

A escolha de uma cirurgia mais agressiva (ressecção de tecido mole, escapulectomia parcial e remoção das apófises espinhosas) foi tomada tendo em consideração: a imagem do TC/RNM (tumores muito invasivos), o grau de malignidade (grau III) e o número de ocorrências tumorais (tumores recorrentes). Salienta-se a importância de realizar biopsia incisional, uma vez conhecendo a natureza/grau do fibrossarcoma pondera-se melhor o tamanho das margens cirúrgicas a remover.

A informação relativa aos procedimentos cirúrgicos, realizados em instituições exteriores, é limitada, mas consta que apenas terá sido removido o nódulo interescapular na primeira tentativa de exérese tumoral.

Embora a utilização da quimioterapia para o tratamento dos FISS não seja ainda clara, neste estudo uma percentagem significativa de animais recebeu quimioterapia juntamente com a cirurgia. A decisão para a escolha desta terapêutica baseou-se no número de ocorrências tumorais, na presença de células tumorais nas margens da peça operatória e o grau de malignidade. Sendo que todos os nódulos recorrentes, os nódulos com células tumorais nas margens cirúrgicas e/ou os classificados de grau III foram submetidos a este tratamento.

Num único gato optou-se por administrar a doxorrubicina antes da intervenção cirúrgica para reduzir o tamanho de um tumor inoperável.

Em relação aos efeitos quimioterápicos registou-se, num dos animais, uma redução do tumor em 50%. Tal resultado também foi constatado num estudo (Barber *et al.*, 2000), em que 6 de 12 gatos com tumores inoperáveis experimentaram uma diminuição do tumor em mais de 50%.

Também se registaram efeitos indesejáveis, como hipotricose, apatia e linfopénia. Num caso observou-se uma neutropénia grave que se resolveu com a diminuição da dose inicial, e num outro, uma possível falha renal. Os efeitos adversos que têm sido registados incluem efeitos gastrointestinais (anorexia e vômito), toxicidade hematológica (neutropénia, anemia) e potencial toxicidade renal (Barber *et al.*, 2000).

A combinação de radioterapia com excisão cirúrgica pode ser benéfica em gatos com FISS quando comparada à cirurgia como única terapêutica (Cohen *et al.*, 2001). A radioterapia foi utilizada num único felídeo e como tratamento pré-cirúrgico.

A aplicação desta terapêutica foi feita num tumor de quarta ocorrência, após várias intervenções cirúrgicas e de um ciclo de quimioterapia, com o objectivo de poder estabilizar o tumor e melhorar a resposta cirúrgica. Como não foi realizada desde o início não se podem retirar conclusões válidas para a eficácia desta terapêutica.

Em relação à evolução clínica dos felídeos, observou-se que 71,4% dos animais morreram o que salienta, uma vez mais, a natureza agressiva destes tumores.

O tempo de sobrevivência total médio (TS) e o intervalo livre de doença médio (ILD) corresponderam, respectivamente, a 418 e 174 dias. Estes intervalos de tempo não são comparáveis aos que têm sido descritos (Hershey *et al.*, 2000; Bregazzi *et al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2001; Kobayashi *et al.*, 2002; Poirier *et al.*, 2002; Martano *et al.*, 2004), uma vez que têm sido utilizados diferentes protocolos terapêuticos.

Segundo Cohen e colaboradores (2001), os índices de recorrência correspondem a 30- 70% e os índices de metástases a 28%. No presente estudo, estes índices corresponderam, respectivamente, a 38% e 29%. O índice de metástases pode ser maior, uma vez que nem todos os animais foram sujeitos a radiografias torácicas na altura da morte.

Na última década, tentou-se estabelecer factores de prognóstico para gatos com FISS. Por exemplo, factores como o local anatómico, tamanho do tumor, ressecção completa, primeira excisão radical, terapêuticas adjuvantes e grau histológico (Kobayashi *et al.*, 2002; Hershey *et al.*, 2005; Liptak & Forrest, 2007).

Cohen e colaboradores (2001) constataram que as gatas castradas tinham um maior tempo de sobrevivência que os gatos castrados. Neste estudo, com um maior número de fêmeas castradas, os melhores TSs foram observados em machos castrados.

Em medicina humana, o tamanho dos tumores constitui um factor de risco para o desenvolvimento de metástases, os tumores grandes estão associados a um elevado índice de metástases (Romanelli *et al.*, 2008). De acordo com os resultados de um estudo (Cohen *et al.*, 2001), o tamanho do tumor poderá ser um factor de prognóstico para os gatos com FISS.

No presente estudo, observou-se que os nódulos primários de maior tamanho corresponderam a fibrossarcomas de grau III, os mais agressivos e por conseguinte os que podiam ter pior prognóstico. Embora tenha sido realizado TC e RNM, o tamanho dos tumores foi medido por palpação, pelo que a medida registada foi subvalorizada.

O grau histológico é actualmente, em humanos adultos, o factor de prognóstico mais importante para os sarcomas de tecido-mole em relação à probabilidade do desenvolvimento de metástases e do tempo de sobrevivência total (Couto *et al.*, 2002).

No presente estudo, verificou-se que os gatos com fibrossarcomas de grau II obtiveram o maior TS total médio, enquanto que os gatos com tumores de grau III obtiveram o maior ILD médio. Como a amostra é pequena, não se retiram conclusões válidas para determinar uma possível relação entre o grau histológico e o tempo de sobrevivência total dos gatos com FISSs. Mas salienta-se o facto do gato com um fibrossarcoma de grau I ter sido o único animal sobrevivente, à parte do gato com uma celulite granulomatosa.

Relativamente às terapêuticas instituídas, constatou-se que os gatos tratados exclusivamente com cirurgia tiveram neste estudo um ILD de 211 dias. Este número é inferior ao encontrado num estudo (Hershey *et al.*, 2000) em que a remoção de FISS através de uma primeira excisão cirúrgica radical permitiu um ILD de 325 dias.

Constatou-se também que o intervalo de tempo entre a intervenção cirúrgica e o reaparecimento do tumor era mais pequeno nos animais submetidos a >1 cirurgia (62 e 44 dias). Segundo um estudo desenvolvido por Cohen e colaboradores (2001), o número de cirurgias estava significativamente associada com o ILD, os gatos submetidos a uma única cirurgia obtiveram um ILD médio de 469 dias, enquanto que os gatos que tiveram >1 cirurgia obtiveram um ILD médio de 345 dias (Cohen *et al.*, 2001).

Os animais sujeitos também a quimioterapia obtiveram um TS e ILD médios de 349 e 194 dias respectivamente. Estes resultados são inferiores aos registados num estudo (Poirier *et al.*, 2002), em que se utilizou doxorrubicina após cirurgia.

O único animal tratado com radioterapia alcançou o TS mais elevado dos gatos em estudo (913 dias). Num estudo desenvolvido por Cronin, Page e Trall (1998, citado por Hendrick & Hershey, 2009) em que o tratamento aplicado também consistiu em radioterapia pré-operatória, cirurgia e doxorrubicina, o TS médio correspondeu a 600 dias.

Numa tentativa de comparar as respostas observadas com a terapêutica instituída, os dados foram analisados e dispostos no gráfico 8.

As respostas maiores foram obtidas apenas nos casos tratados exclusivamente com cirurgia, salientando a importância da excisão cirúrgica.

As respostas parciais e progressivas foram registadas nos gatos submetidos a quimioterapia. Pelo que, os benefícios clínicos da quimioterapia adjuvante no manejo de gatos em estudo não foram claramente definidos.

A radioterapia aplicada num único felídeo também resultou numa resposta progressiva, acabando o animal por desenvolver a quinta ocorrência do tumor. A aplicação desta terapêutica no início do tratamento, e não como último recurso num animal com várias recidivas tumorais, poderia ter levado a resultados diferentes.

4. CONCLUSÃO

A componente prática do estágio curricular, efectuado no Hospital da Faculdade de Veterinária da Universidade Autónoma de Barcelona, Espanha, foi extremamente enriquecedora, tendo superado todas as expectativas da aluna, nomeadamente na aquisição de novos conhecimentos através do contacto directo com a prática hospitalar e com o Médico Veterinário.

Em 1991, uma carta para o *Journal of the American Veterinary Medicine Association* revelava a possibilidade do desenvolvimento de fibrossarcomas nos locais de injeção. Hendrick e Goldschmidt observaram uma “nova variante” de fibrossarcoma que possuía características únicas: uma predilecção para a região interescapular, uma aparência histológica com maior malignidade, um comportamento biológico agressivo e um elevado índice de recorrência mesmo com uma terapêutica multimodular.

Através deste estudo retrospectivo e de toda a bibliografia recolhida sobre a doença, a aluna conclui que o forte componente inflamatório encontrado em muitos fibrossarcomas, apoia a teoria da reacção inflamatória, provocada por algum componente vacinal, poder desenvolver um FISS.

Após a revisão de todo o processo de diagnóstico, a aluna conclui que relativamente às avaliações histológicas, estas deveriam ser realizadas mais frequentemente através de biopsias incisionais. O que, posteriormente, permite decidir entre uma lumpectomia ou uma cirurgia agressiva e evita-se submeter gatos com celulites granulomatosas a cirurgias agressivas.

A classificação histológica dos fibrossarcomas também deveria ser realizada antes da cirurgia, para permitir no caso de fibrossarcomas mais agressivos e indiferenciados a remoção mais adequada das margens cirúrgicas. Esta classificação permite elucidar os proprietários do animal em relação ao prognóstico da doença, sendo que apenas os fibrossarcomas de grau I possuem as melhores evoluções clínicas. A aluna sugere, que seja sempre feita a atribuição do grau histológico aos fibrossarcomas, nos relatórios emitidos pelos anatomopatologistas.

Relativamente ao tratamento dos FISS, a aluna conclui que nenhum esquema é completamente eficaz, provavelmente devido à natureza agressiva do tumor. Contudo, a cirurgia radical, com pelo menos 3 cm de margens, assume o papel principal e deve ser realizada logo na primeira abordagem terapêutica. Os tratamentos adjuvantes como a radioterapia ou a quimioterapia podem aumentar o tempo do prognóstico, embora não tenha ficado claro o seu benefício.

Em suma, os sarcomas no local injeção continuam a constituir um desafio para o médico veterinário. A sua natureza agressiva associada à elevada probabilidade de recorrência dificulta a probabilidade de cura, pelo que a detecção e o tratamento precoce constituem os princípios básicos para o manejo dos FISS.

É também importante referir que, embora existe uma alguma relação entre os componentes vacinais e os FISS, evitar o uso de vacinas pode ser perigoso e contraproducente. As doenças para as quais as vacinas estão designadas não são raras e têm importância a nível da saúde pública e veterinária.

BIBLIOGRAFIA

- Banerji, N. & Kanjilal, S. (2006). Somatic alterations of the p53 tumor suppressor gene in vaccine-associated feline sarcoma. *American Journal of Veterinary Research*. 67, 1766-1772. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Barber, L.G., Sorenmo, K.U., Cronin, K.L. & Shofer, F.S. (2000). Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 36, 416-421.
- Bregazzi, V.S., LaRue, S.M., McNiell, E., Macy, D.W., Dernell, W.S., Powers, B.E. & Withrow, S.J. (2001). Treatment with combination of doxorubicin, surgery, and radiation versus surgery and radiation alone for cats with vaccine-associated sarcomas: 25 cases (1995-2000). *Journal of American Veterinary Medical Association*. 218, 547-550. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Cohen, M., Wright, J.C., Brawner, W.R., Smith, A.N., Henderson, R. & Behrend, E.N. (2001). Use of surgery and electron beam irradiation, with or without chemotherapy, for treatment of vaccine-associated sarcomas in cats: 78 cases (1996-2000). *Journal of American Veterinary Medical Association*. 219, 1582-1589. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Couto, S.S., Griffey, S.M., Duarte, P.C. & Madewell, B. R. (2002). Feline vaccine-associated fibrosarcoma: morphologic distinctions. *Veterinary Pathology*. 39, 33-41.
- Cronin, K., Page, R.L., Spodnick, G., Dodge, R., Hardie, E.N., Price, G.S., Ruslander, D. & Thrall, D.E. (1998). Radiation therapy and surgery for fibrosarcoma in 33 cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 39, 51-56.
- Daly, M.K., Saba, C.F., Crochik S.S., Howerth, E.W., Kosarek, C.E., Cornell, K.K., Roberts, R.E. & Northrup, N.C. (2008). Fibrosarcoma adjacent to the site of microchip implantation in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 10, 202-205. Acedido em Jan. 16, 2009. Disponível em: www.sciencedirect.com
- Davidson, E.B., Gregory, C.R. & Kass, P.H. (1997). Surgical excision of soft tissue fibrosarcomas in cats. *Veterinary Surgery*. 26, 265-269.
- Doddy, F.D., Glickman, L.T., Glickman, N.W. & Janovitz, E.B. (1996). Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites. *Journal of Comparative Pathology*. 114, 165-174.
- Dubielzig, R.R., Hawkins, K.L. & Miller, R.E. (1993). Myofibroblastic sarcoma originating at the site of rabies vaccination in a cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 5, 637-638.
- De Man, M.M. & Ducatelle, R.V. (2007). Bilateral subcutaneous fibrosarcomas in a cat following feline-, herpes- and calicivirus vaccination. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 9, 432-434. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Ellis, J.A., Jackson, M.L., Bartsch, R.C., McGill, L.G., Martin, K.M., Trask, B.R. & Haines, D.M. (1996). Use of immunohistochemistry and polymerase chain reaction for

- detection of oncornavirus in formalin-fixed, paraffin-embedded fibrosarcomas from cats. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 209, 767-771.
- Esplin, D.G., Bigelow, M., McGill, L.D. & Wilson, S.R. (1999). Fibrosarcoma at the site of a lufenuron injection in a cat. *Veterinary Cancer Society*. 23, 8.
- Gobar, G.M & Kass, P.H. (2002). World Wide Web-based survey of vaccination practices, postvaccinal reactions, and vaccine site-associated sarcomas in cats. *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 220, 1477-1482.
- Hauck, M. (2003). Feline injection site sarcomas. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 33, 553-571.
- Hampel, V., Schwarz, B., Kempf, C., Kostlin, R., Schillinger, U., Kuchenhoff, H., Fenske, N, Brill, T. & Hirschberger, J. (2007). Adjuvant immunotherapy of feline fibrosarcoma with recombinant feline interferon- ω . *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21, 1340-1346. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Hendrick, M.J. & Goldschmidt, M.H. (1991). Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats? *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 199, 968.
- Hendrick, M.J., Goldschmidt, M.H., Shofer, F.S., Wang, Y.Y. & Somlyo, A.P. (1992). Postvaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum. *Cancer Research*. 52, 5391-5394.
- Hendrick, M.J. & Brooks, J.J. (1994). Postvaccinal sarcomas in the cat: histology and immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. 31, 126-129.
- Hendrick, M.J. (1999). Feline vaccine-associated sarcomas. *Cancer Investigation*. 17, 273-277.
- Hendrick, M.J. (2000). Feline fibrosarcoma: vaccine associated. In J.D. Bonagura, *Kirk's current veterinary therapy XIII*. (pp.498-500). W.B. Saunders Company.
- Hendrick, M.J. & Hershey, A.E. (2009). Feline vaccine-associated sarcomas. In D.C. Twedt & J.D. Bonagura, *Kirk's current veterinary therapy XIV*. (pp.332-335). Saunders Company.
- Henry, C.J. (2001). Update on vaccine-associated sarcomas. In J.R. August, *Consultations in feline internal medicine*. (pp.541-547). Philadelphia, W.B. Saunders Company.
- Hershey, A.E., Sorenmo, K.U., Hendrick, M.J., Shofer, F.S. & Vail, D.M. (2000). Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision: 61 cases (1986-1996). *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 216, 58-61.
- Hershey, A.E., Dubielzig, R.R., Padilla, M.L. & Helfand S.C.(2005). Aberrant p53 expression in feline vaccine-associated sarcomas and correlation with prognosis. *Veterinary Pathology*. 42, 805-811.
- Jelínek, F. (2003). Postinflammatory sarcoma in cats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 55,167-172.

- Jourdier, T.M., Moste, C., Bonnet, M.C., Delisle, F., Tafani, J.P., Devauchelle, P., Tartaglia, J. & Moingeon, P. (2003). Local immunotherapy of spontaneous feline fibrossarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Therapy*. 10, 2126-2132.
- Kass, P.H., Barnes Jr., W.G., Spangler, W.L., Chomel, B.B. & Culbertson, M.R. (1993). Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrosarcoma tumorigenesis in cats. *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 203, 396-405.
- Kass, P.H., Spangler, W.L., Hendrick, M.J., McGill, L.D., Esplin, D.G., Lester, S., Slater, M., Meyer, E. K., Boucher, F., Peters, M., Gobar, G.G., Htoo, T. & Decile, K. (2003). Multicenter case-control study of risk factors associated with development of vaccine-associated sarcomas in cats. *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 223,1283-1292. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Katayama, R., Huelsmeyer, M.K., Marr, A.K., Kurzman, I.D., Thamm, D.H. & Vail, D.M. (2004). Imatinib mesylate inhibits platelet-derived growth factor activity and increases chemosensitivity in feline vaccine-associated sarcoma. *Cancer Chemotherapy pharmacology*. 54, 25-33. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Kidney, B.A., Ellis, J.A., Haines, D.M. & Jackson, M.L. (2000). Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues obtained from vaccine site-associated sarcomas of cats for DNA of feline immunodeficiency virus. *American Journal of Veterinary Research*. 61, 1037-1041.
- Kidney, B.A., Haines, D.M., Ellis, J.A., Burnham, M.L., Teifke, J.P., Czerwinski, G. & Jackson, M.L. (2001). Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from vaccine site-associated sarcomas of cats for papillomavirus DNA and antigen. *American Journal of Veterinary Research*. 62, 833-839.
- Kidney, B.A. (2008). Role of inflammation/wound healing in feline oncogenesis: a commentary. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 10, 107-109. Acedido em Jan. 16, 2009. Disponível em: www.sciencedirect.com
- Kirpensteijn, J. (2006). Feline injection site-associated sarcoma; is it a reason to critically evaluate our vaccination policies?. *Veterinary Microbiology*. 117, 59-65. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Kobayashi, T., Hauck, M.L., Dodge, R., Page, R.L., Price, S., Williams, L.E., Hardie, E.M., Mathews, K.G. & Thrall, D.E. (2002). Preoperative radioterapy for vaccine associated sarcoma in 92 gatos. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 43, 473-479.
- Kuntz, C.A., Dernell, W.S., Powers, B.E., Devitt, C., Straw, R.C., Withrow, S.J. (1997). Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986-1996). *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 211,1147-1151.
- Liptak, J.M. & Forrest, I.J. (2007). Soft tissue sarcomas. In S.J. Withrow & D.M. Vail (eds). *Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology*. (4rd ed.). (pp. 442-449). Philadelphia, W.B. Saunders Company.

- Macy, D.W. (1995). The potential role and mechanisms of FeLV vaccine-induced neoplasms. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 10, 234–237.
- Macy, D.W. & Bergman P.J. (1995). Vaccine-associated sarcomas in cats. *Feline Practice*. 23, 24-27.
- Macy, D.W. & Hendrick, M.J. (1996). The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 26, 103–109
- Macy, D.W. (1997). Vaccine adjuvants. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 12, 206–211.
- Macy, D.W. (1999). Current understanding of vaccination site-associated sarcomas in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 1, 15-21. Acedido em Jan. 16, 2009. Disponível em: www.sciencedirect.com
- Macy, D.W. & Couto, C.G. (2001). Prevention and treatment of injection-site sarcomas. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 3, 169-170. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Madewell, B.R., Griffey, S.M., McEntee, M.C., Leppert, V.J., Munn, R.J. (2001) Feline vaccine-associated fibrosarcoma: an ultrastructural study of 20 tumors. *Veterinary Pathology*. 38,196–202.
- Martano, M., Morello, E., Ughetto, M., Iussich, S., Petterino, C., Cascio, P. & Buracco, P. (2004). Surgery alone versus surgery and doxorubicin for treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases. *The Veterinary Journal*. 170, 84-90. [Cortesia de Luca Luciani, DVM]. Disponível em: www.sciencedirect.com
- McEntee, C.M. & Page, R.L. (2001). Feline vaccine-associated sarcomas. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 15, 176-182
- Moore, A.S. & Ogilvie, G.K. (2001). Soft-tissue sarcomas. In A.S.Moore & G.K. Ogilvie, *Feline oncology-a comprehensive guide to compassionate care*. (3rd). (pp.429-439). Elsevier Science.
- Nambiar, P.R., Jackson, M.L., Ellis, J.A., Chelack, B.J., Kidney, B.A. & Haines, D.M. (2001). Immunohistochemical detection of tumor suppressor gene p53 protein in feline injection site-associated sarcomas. *Veterinary Pathology*. 38, 236-238. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Nieto, A., Sánchez, A., Martínez, E. & Rollán, A. (2003). Immunohistochemical expression of p53, fibroblast growth factor-b, and transforming growth factor- α in feline vaccine-associated sarcomas. *Veterinary Pathology*. 40, 651-658. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Petterino, C., Cascio, P., Cerruti, F., Martini, M., Morello, E., Bruno, R., Castagnaro, M. & Buracco, P. (2006). Immunohistochemical study of STAT3 expression in feline injection-site fibrossarcomas. *Journal of Comparative Pathology*. 134, 91-100. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com

- Poirier, V.J., Douglas, H.T., Kurzman, I.D., Jeglum, K.A., Chun, R., Obradovich, J.E., O'Brien, M., Fred III, R.M., Phillips, B.S. & Vail, D.M. (2002). Liposome-encapsulated doxorubicin (doxil) and doxorubicin in the treatment of vaccine-associated sarcoma in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 16, 726-731.
- O'Rourke, K., 2004. Controversy, confusion continue to surround vaccine guidelines. *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 225, 814-815.
- Quintin-Colonna, F., Devauchelle, P., Fradelizi, D., Mourot, B., Faure, T., Kourilsky, P., Roth, C. & Mehtali, M. (1996). Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Therapy*. 3, 1104-1112.
- Rassnick, K.M., Moore, A.S., Northrup, N.C., Kristal, O., Beaulieu, B.B., Lewis, D. & Page, R.L. (2006). Phase I trial and pharmacokinetic analysis of ifosfamide in cats with sarcomas. *American Journal of Veterinary Research*. 67, 510-516. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Rassnick, K.M., Rodriguez, C.O., Khanna, C., Rosenberg, M.P., Kristal, O., Chaffin, K. & Page, R.L. (2006). Results of a phase II clinical trial on the use of ifosfamide for treatment of cats with vaccine associated sarcomas. *American Journal of Veterinary Research*. 67, 517-523. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Reiman, R.A., Mauldin, G.E., Mauldin, G.N. (2008). A comparison of toxicity of two dosing schemes for doxorubicin in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 10, 324-331. Acedido em Jan. 16, 2009. Disponível em: www.sciencedirect.com
- Romanelli, G., Marconato, L., Olivero, D., Massari, F. & Zini, E. (2008). Analysis of prognostic factors associated with injection-site sarcomas in cats: 57 cases (2001-2007). *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 232, 1193-1199. Acedido em Jan. 23, 2009. Disponível em: www.pubmed.com
- Vaccine- Associated Feline Sarcoma Task Force. (2005). The current understanding and management of vaccine-associated sarcomas in cats. *Journal of American Veterinarian Medical Association*. 226, 1821-1842. [Cortesia de Luca Luciani, DVM].
- Williams, L.E., Banerji, N., Klausner, J.S., Kapur, V. & Kanjilal, S. (2001). Establishment of two vaccine-associated feline sarcoma cell lines and determination of in vitro chemosensitivity to doxorubicin and mitoxantrone. *American Journal of Veterinary Research*. 62, 1354-1357.

ANEXOS

Anexo 1: Recomendações fornecidas pela *Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force* (VAFSTF) para o diagnóstico e tratamento do Sarcoma no local de Injeção**Diagnóstico e Tratamento de Sarcomas suspeitos de FISS****1. Diagnóstico**

Registrar a localização anatômica, forma, e tamanho (avaliar pelo calibre e registrar em 3 dimensões) de todas as massas no local de injeção.

2. Gerir a massa, que se desenvolve no local prévio a uma injeção, como se fosse maligna até que se prove o contrário

Uma lesão deve ser completamente avaliada e agressivamente tratada se apresenta um dos seguintes critérios:

- a. Persiste mais de 3 meses pós-injeção
- b. Tamanho maior que 2 cm de diâmetro
- c. Aumenta de tamanho depois de 1 mês pós-injeção

3. Se a massa apresenta um dos critérios supracitados, recomendamos que realize uma biopsia antes da excisão cirúrgica

Uma biopsia com agulha Tru-Cut ou uma biopsia incisional em cunha é preferível para diagnosticar as lesões. A biopsia com Tru-Cut deve ser realizada, de modo, a que a remoção cirúrgica subsequente possa incluir o inteiro tracto perfurado pela agulha, se for uma biopsia incisional, todo tecido afectado pelo procedimento deve ser removido. A citologia com a aspiração por agulha-fina é considerada incerta para o diagnóstico de FISS e não é recomendada.

4. A gestão de massas confirmadas como malignas deve ser feita de acordo com que é sugerido em seguida.

- a. Realizar rotineiramente radiografias torácicas e análises sanguíneas antes de realizar cirurgia
- b. Quando praticável, os gatos com FISS histologicamente confirmado devem ser submetidos a uma tomografia computadorizada (TC) ou ressonância magnética. Estes sarcomas estendem-se para os planos musculares e podem não ser detectados visualmente nas suas faces iniciais de crescimento. Estes exames são úteis para determinar a extensão da cirurgia e/ou o tamanho do campo de radiação que irá ser necessário para maximizar as alterações para o tratamento de sucesso.

5. Consultar um oncologista

Conhecer as opções actuais de tratamento antes e iniciar a terapia

6. Nunca subestimar um sarcoma. A remoção cirúrgica incompleta é a causa mais comum da falência terapêutica

Empregar técnicas cirúrgicas oncológicas para evitar a propagação de células malignas. Remover pelo menos 2 cm de margem em todos os planos. Em alguns casos, será necessário a reconstrução da parede do corpo, remoção do osso ou outras avançadas técnicas cirúrgicas.

7. Submeter inteira a massa extirpada para histopatologia

Marcar as extremidades da massa extirpada com tinta da china ou com suturas Tag para promover uma referência anatômica e facilitar o futuro tratamento.

8. Após a remoção do sarcoma

- a. Reavaliar através de um exame físico em cada mês durante os primeiros 3 meses, depois pelos menos a cada três meses por ano.
- b. Realizar diagnóstico adicional se apropriado tendo em conta as anomalias detectadas.

9. Relatar todos os FISS histologicamente confirmados ao fabricante e U.S. Pharmacopoeia Veterinary Practitioners` reporting program

Anexo 2- Recomendações fornecidas pela *Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force* (VAFSTF) para os protocolos vacinais.

Recomendações para as Vacinações Felinas

- 1. O único documento oficial que o veterinário, actualmente, possui para demonstrar a base das vacinações encontra-se nas etiquetas dos fabricantes.**
 - 2. As vias de vacinação alternativas (ex., nasal, tópica) devem ser consideradas, quando disponíveis**
 - 3. O uso de vacinas monovalentes deve ser aconselhado**
 - 4. A vacinação é um processo médico e os protocolos devem ser individualizados para cada paciente. A administração de qualquer vacina só deve ser realizada depois de tomada em consideração o seu significado médico e o potencial zoonótico do agente infeccioso, o risco de exposição do paciente, e os requerimentos legais.**
 - 5. Qualquer ocorrência de sarcomas associado a vacinas ou outras reacções adversas deve ser registada directamente ao fabricante da vacina.**
 - 6. As seguintes recomendações para a administração da vacina (ou outro produto injectável) são sugeridas:**
 - a) Os veterinários devem adoptar protocolos estandardizados para os locais de vacinação e documentar as localizações de cada injeção, tipo de vacina, e fabricante ou número de série.
 - b) As vacinas que contêm antigénios limitados ao vírus da panleucopénia, herpesvirus felino tipo1 e calicivírus felino com ou sem antigénios de *chlamydia* devem ser administradas na extremidade anterior direita.
 - c) As vacinas que contêm antigénios do vírus da raiva, com ou sem outro antigénio, devem ser administradas na extremidade posterior direita o mais distalmente possível.
 - d) As vacinas que contêm o antigénio da FeLV, com ou sem outros antigénios, devem ser administradas na extremidade posterior esquerda o mais distalmente possível.
 - e) Os locais de injeção devem ser registados.
-

Anexo 3- Identificação da população de felídeos com FISS

Animal	Raça	Sexo	Idade (Anos)	Data de diagnóstico	Indoor/ Outdoor	Estado Imunitário	Tumor Primário (TP)/ Recorrência (R)	ILD (meses) (se aplicável)	Observações
Guizmo	Europeu Comum	Macho-Orquidectomia	6	7/05/2007	<i>outdoor</i>	Vacinado (Trivalente + FeLV)	TP		
Negri	Europeu Comum	Macho-Orquidectomia	11	3/02/2006			1ª R (após 1ª cirurgia); 2ª R (após a 2ª cirurgia); 3ª R (após 3ª cirurgia).	12 4 2	
Misha 95	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	12	24/12/2007	<i>indoor</i>	Vacinada (Trivalente + FeLV)	TP		FIV/FeLV (-)
Misha 98	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	10	11/02/2008	<i>outdoor</i>		TP		
Missi	Europeu Comum	Fêmea-Fértil	12	08/2008	<i>indoor</i>	Vacinada, (Trivalente + FeLV +Raiva)	TP		
Perla	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	7	14/2/2008	<i>indoor</i>	Vacinada à mais de 4 anos	TP		Sem continuação do caso
Phoebe	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	3	25/02/2008	<i>indoor</i>	Vacinada (Trivalente + FeLV)	TP		FIV/FeLV (-)
Xa	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	7	25/12/2007	<i>indoor</i>	Vacinada (Trivalente + FeLV + Raiva) Ultima vacina: 1 ano antes de VAS	TP		Cadiomiopatia hipertrófica leve. Transaminases elevadas e icterícia recente
Woarda	Europeu Comum	Fêmea-Ovariohisterectomia	3	5/11/2007	<i>indoor</i>	Vacinada (Trivalente + FeLV)	1ª R (após 1ª cirurgia)	7	

Anexo 4-Aparência e Comportamento clínico do sarcoma no local de injeção na primeira consulta do animal no HCV-UAB

Animal	Descrição da Massa			Observações
	Localização	Consistência	Tamanho (diâmetro)	
Guizmo	Interescapular	Massa sólida firmemente em contato com o tecido adjacente. Crepitação. Não dolorosa	4cm	Aparecimento à 1 mês. EFG= normal
Negri	Interescapular	Nódulos diversos na zona da ferida, muito aderidos e profundos	10cm	3 ^a Recorrência EFG= normal
Misha 95	Interescapular	Massa não dolorosa	3 cm	EFG= normal
Misha 98	Interescapular	Nódulo com abundante gordura à volta	2x2cm	EFG= normal
Missi	Interescapular	Neoformação irregular invasiva até às paredes laterais	5-8cm (irregular)	EFG= normal
Perla	Interescapular	Nódulo	1,5cm	Aparecimento à 1 mês EFG= normal
Phoebe	Parede torácica dorsal	Nódulo firmemente aderido ao tecido muscular	1,5cm	EFG= normal
Xa	Zona caudal da escápula-lado direito	Nódulo duro, não doloroso, sem aderências palpáveis aos tecidos adjacentes	4cm	Aparecimento à 7dias.
Woarda	Interescapular	Nódulo mal delimitado	3cm	1 ^a Recorrência Perda de Peso

EFG, exame físico geral.

Anexo 5-Exames de diagnóstico e descrição macroscópica do nódulo

Animal	Exames de Diagnóstico				Observações
	Hemograma Bioquímica	Exames de Imagem	Citologia/Biopsia Pré-cirurgia	Biopsia pós-cirurgia (Descrição Macroscópica)	
Guizmo	Hemograma ligeira linfopénia.	Radiografias torácicas normais (sem metástases). TC – massa bem delimitada, não se observa invasão óssea mas a lesão está adjacente às apófises espinhosas.	Citologia por agulha fina: descarta-se lipoma. Células grandes e anisocariose. Biopsia incisional mediante punch de 6 mm de diâmetro - 2 porções de tecido branco e mole; fibrossarcoma subcutâneo	Amostragem: 2 nódulos interescapulares de 2 cm, esbranquiçados, moles e bem demarcados. Escápula. Diagnóstico: fibrossarcoma.	Citologia- noutro hospital.
Negri			Biopsia - fibrossarcoma.		Antes 1ª cirurgia (noutro hospital)
	Normais na 2ª recorrência do tumor.	Ressonância magnética na 1ª recorrência tumoral - não parece estar invadindo os tecidos. Radiografias torácicas na 2ª recorrência- normais.		Biopsia na 1ª recorrência do tumor (após 2ª cirurgia). Amostragem: nódulo subcutâneo Diagnóstico: fibrossarcoma bem diferenciado	1ª e 2ª recorrência do tumor (2ª e 3ª cirurgia). (noutro hospital)
	Hemograma linfopénia. Bioquímica- ↑Glu ↓K	Radiografias torácicas - normais. Ecografia abdominal - normal.		Amostragem: massa subcutânea multilobulada, 10x8x6cm, compostas por massas redondas de tamanho variável, separadas por tecido conjuntivo. Consistência sólida e coloração esbranquiçada. Diagnóstico: sarcoma cutâneo.	3ª Recorrência do tumor Durante o tratamento do tumor ainda surge uma 4ª recorrência. HCV
Misha 95	Normais.	Radiografias - normais. TC- não se observa invasão óssea.		Amostragem: nódulo subcutâneo rodeado de amplas margens cirúrgicas (2-3cm). Nódulo de 5x3 cm, duro, esbranquiçado, bem demarcado embora muito aderido ao tecido fibro-adiposo muscular circundante. Diagnóstico: fibrossarcoma.	
Misha 98	Normais, Bioquímica- ↑Glu ↓K.	Radiografias torácicas -normais TC- não se observa invasão óssea.		Amostragem: nódulo interescapular. Placa de tecido SC e muscular com 11,5x10x5cm, mal delimitada e consistência variada. Detecta-se uma área de central triangular, de cor amarela, consistência dura e que infiltra o tecido circundante. Diagnóstico: celulite granulomatosa de corpo estranho (Vacina?).	

TC- tomografia computadorizada; Glu- glucose; K- potássio.

Anexo 5 (continuação) - Exames de diagnóstico e descrição macroscópica do nódulo

Animal	Exames de Diagnóstico				Observações
	Hemograma Bioquímica	Exames de Imagem	Citologia/biopsia pré-cirúrgica	Biopsia pós-cirurgia (Descrição Macroscópica)	
Missi	Hemograma - linfopenia.	Radiografias torácicas - normais. Ressonância Magnética -lesão expansiva biloculada. 85mm (cr-ca) x 64mm (l-l) x 59mm (d-v). Zona central com características líquidas e uma periferia sólida de aspecto capsular. Extensão digitiforme esquerda. Sem alterações ósseas ou musculares mas que contacta com as apófises espinhosas de T4-T12.		Amostragem: nódulo interescapular mais dois tecidos adjacentes. O tumor apresenta-se como uma massa multilobulada (8x5x3cm), com uma secção esbranquiçada onde se encontra uma cavidade quística ocupada por material necrótico/ mucoso. Diagnóstico: fibrossarcoma.	(RNM- realizada noutro hospital).
Phoebe	Hemograma - linfopenia. Bioquímica- ↑Glu ↓K.	Radiografias torácicas -normais. Ecografia abdominal -normal. TC- não se observa invasão óssea mas a lesão está adjacente às apófises espinhosas.		Amostragem: nódulo subcutâneo de 1,5cm, duro esbranquiçado, remoção de amplas margens e de tecido muscular anexo às apófises espinhosas. Diagnóstico: fibrossarcoma.	
XA	Hemograma - normal Perfil hepático - ↑ enzimas hepáticas.	Ecografia abdominal- normal. Ecocardiografia - Cardiomiopatia hipertrófica. Dilatação da aurícula esquerda. TC- não se observa invasão óssea.	Citologia -Células pleomórficas, de perfil estrelado fusiforme. Algumas células gigantes multinucleadas. A citologia é compatível com o desenvolvimento tumoral de origem mesenquimatoso em concreto com um sarcoma.	Amostragem: nódulo subcutâneo de uns 4 cm e músculo adjacente (5x10cm). Diagnóstico: fibrossarcoma.	Citologia - noutro hospital.
Woarda	Hemograma - leucopenia ligeira, linfopenia	Radiografias torácicas -normais. TC- sem invasão óssea, lesão adjacente às apófises espinhosas e escápula.	Biopsia -fibrossarcoma	Amostragem: nódulo dorsal de uns 3 cm (recidiva). Diagnóstico: fibrossarcoma.	Na 1ª recorrência do tumor (Antes e depois da 2ªcirurgia) Biopsia pré- 2ªcirurgia(realizado noutro hospital).

TC- tomografia computadorizada; RNM- ressonância magnética; Glu- glucose; K- potássio.

Anexo 6- Descrição dos Achados Histopatológicos (lesões microscópicas)

Animal	Achados histopatológicos (lesões microscópicas)	
Guizmo	Fibrossarcoma. As duas porções remetidas correspondem a uma proliferação tumoral infiltrativa irregular situada na derme profunda-hipoderme, mal delimitada, não encapsulada, de moderada densidade celular, com células tumorais em todos as margens das amostras. São células fusiforme grandes, de bordos mal definidos, dispostas em feixes de forma desordenada e com escasso estroma fibrovascular. Moderado citoplasma eosinofílico, que em ocasiões apresenta vacúolos não corados, e grandes núcleos ovóides centrais, com nucléolo/s basófilo/s evidente/s e cromatina granular, com marcada anisocitose e anisocarose, observando-se cariomegálios e células bi e trinucleadas (cariomegália). Índice mitótico elevado (2-4 x40). Múltiplos pontos de infiltração linfoplasmocitaria, em toda a periferia dos fragmentos. Áreas focais de necrose de coagulação generalizadas e várias áreas quísticas arredondadas, de aproximadamente 100-600µm, vazias de conteúdo e limitadas por um epitélio pavimentoso mal definido, em distintos pontos do tumor. Observam-se células neoplásicas na periferia das amostras.	Biopsia
	Fibrossarcoma. A lesão nodular remetida consiste numa proliferação mal delimitada de células fusiformes que se dispõem em forma e feixes celulares densos, desordenados e orientados em todas as direcções. Há zonas onde a matriz intercelular é laxa de aspecto mucinoso. Intenso pleomorfismo. Anaplasia. Índice mitótico significativo mas não elevado (<4-5 40x). Algumas células multinucleadas dispersas. O aspecto é bastante heterogéneo, já que há zonas extensas onde é muito abundante a substância intercelular de carácter hialino eosinófilo. Também se apreciam algumas zonas de necrose com neutrófilos associados e o que poderiam ser restos de vacúolos irregulares lípidicos. Aparentemente, a proliferação descrita não ultrapassa o músculo subcutâneo. Não obstante, a dita proliferação não está em absoluto delimitada no subcutis. A parte dorsal da escápula (cartilagem) e a musculatura associada não revelam sinais de proliferação neoplásica. Os bordos laterais parecem ser suficientes. Também se apreciam alguns agregados de células inflamatórias linfoplasmocíticas dispersas pela lesão.	Exérese da massa
Negri	Fibrossarcoma. Trata-se de um nódulo delimitado constituído por um crescimento sólido, denso, constituído por uma proliferação de células fusiformes ou estreladas, grandes, marcadamente pleomórficas, com núcleo ovóide ou alargado, cromatina rugosa, nucléolos evidentes, abundantes mitoses e citoplasma eosinófilo de aspecto fibrilar. As células estão ordenadas em feixos entrelaçados irregularmente. Multinucleação ocasional. A neoplasia tem características agressivas com projecções periféricas digitóides infiltrativas em áreas próximas das margens.	Biopsia (antes da 1ª cirurgia).
	Fibrossarcoma bem diferenciado. Proliferação mal delimitada, infiltrativa e caracterizada por um crescimento sólido, denso, constituída por uma proliferação de células fusiformes ou estreladas, grandes, marcadamente pleomórficas, com núcleo ovóide ou alargado, cromatina rugosa, nucléolos evidentes, abundantes mitoses e citoplasma eosinófilo de aspecto fibrilar. Estas células estão ordenadas em feixes entrelaçados irregularmente. Observa-se multinucleação ocasional. Margens cirúrgicas não estão isentas de células neoplásicas, podem aparecer recidivas.	Exérese (após a 2ª cirurgia).
	Sarcoma cutâneo. No pânículo adiposo observam-se múltiplas proliferações nodulares bem delimitadas e não encapsuladas de células neoplásicas. Trata-se de células de morfologia fusiforme que se dispõem formando feixes desordenados e orientados em todas as direcções ou em camadas concêntricas. Trata-se de células de núcleo laxo ovalado e citoplasma relativamente abundante eosinonófilo mal definido. O índice mitótico é moderado (2-3 mitoses a 40x). A substância intercelular, embora não abundante, é evidente em toda a neoplasia. Em algumas zonas o crescimento têm aspecto mais laxo e a substância intercelular tem aspecto mixóide. Não se observam células neoplásicas nas margens da amostra remetida, mas estas também não são muito amplas.	Exérese (após a 4ª cirurgia). HCV
	Tecido de granulação bem diferenciado. Diferentes estados de reorganização com abundante neovascularização. Em algumas áreas aprecia-se uma activação do endotélio com abundante presença de neutrófilos intra e extravascular com moderada e dispersa presença de uma matriz mucinosa basofílica. Em um dos fragmentos observa-se um pequeno trajecto fistuloso (positivos incisões), moderadamente profundo, com escassa presença de material estranho e neutrófilos intraluminais. Tecido com algumas características de inflamação aguda e fistulação. Não se observa contaminação bacteriana nem proliferação neoplásica aparente.	Biopsia (1 mês após 4ª cirurgia)
	Fibrossarcoma. Proliferação multinodular de células fusiformes que se dispõem em feixes desordenados e orientados em todas as direcções ou em camadas concêntricas. Trata-se de células de núcleo ovalado e citoplasma relativamente abundante eosinofílico mal definido. O índice mitótico é pouco significativo. A substância intercelular, embora não abundante, é evidente por toda a neoplasia. Existe ulceração da epiderme.	Biopsia (2 meses após 4ª cirurgia)

Anexo 6 (continuação) - Descrição dos Achados Histopatológicos (lesões microscópicas)

Animal	Achados histopatológicos (lesões microscópicas)	
Misha 95	Fibrossarcoma. A totalidade da lesão consiste em matriz conjuntiva colagenizada muito escassamente celular que infiltra e invade o tecido adiposo circundante. Em algumas zonas também se observam focos de densa proliferação celular de carácter neoplásico. Trata-se de células fusiformes muito activas com abundantes mitoses que infiltram o adiposo subjacente. Margens histologicamente limpas.	Exérese
Misha 98	Celulite granulomatosa de corpo estranho. Reacção inflamatória extensa no panículo adiposo. Trata-se de uma inflamação do tipo granulomatosa com grande quantidade de macrófagos vacuolizados, células gigantes, linfócitos e algumas células plasmáticas rodeando grandes cavidades repletas de material granular basófilo (corpo estranho, possivelmente restos de alguma substância injectada). Moderada fibrose. Em algumas zonas, observam-se cristais de colesterol também associados à reacção granulomatosa. Não se observam indícios de crescimento neoplásico na amostra remetida.	Exérese
Missi	Fibrossarcoma. Proliferação neoplásica não encapsulada e altamente infiltrativa, que invade a musculatura esquelética associada ao tumor, e que alcança as margens do fragmento remetido. Mostra elevada densidade celular, dispondo-se as células em feixes desordenados, separados por moderado estroma conjuntivo, que em algumas zonas mostra abundante material extracelular mucinoso e que em outras adquire características desmoplásicas. São células fusiformes, de bordos definidos, moderado citoplasma basófilo e núcleo ovóide central de cromatina pouco densa granular e um ou vários nucléolos basófilos. Observam-se células multinucleadas. Moderado pleomorfismo celular, elevada anisocariose e anisocitose. Índice mitótico aproximado de 2-3 mitoses x40 aumentos. Numerosas áreas de necrose dispersas. Infiltrado linfoplasmocítico multifocal moderado, maioritariamente disposto na periferia do tumor. Numa das margens são observadas células neoplásicas.	Exérese
Phoebe	Fibrossarcoma. Proliferação nodular de células fusiformes que se dispõem formando feixes desordenados e orientados em todas as direcções ou em camadas concêntricas. Trata-se de células de núcleo ovalado citoplasma relativamente abundante eosinofílico. O índice mitótico é pouco significativo. A substância intercelular, embora não abundante, é evidente por toda a neoplasia. Em algumas zonas o crescimento têm um aspecto mais laxo e a substância intercelular tem um aspecto mixóide. Embora não revele um comportamento claramente invasivo, a neoplasia não está bem delimitada das zonas adjacentes, mas as margens cirúrgicas são muito amplas e estão isentas de crescimento tumoral. A musculatura adjacente não parece estar afectada.	Exérese
Xa	Fibrossarcoma. No nódulo remetido observa-se no panículo adiposo uma proliferação sólida, multinodular, de células redondas-fusiformes que crescem dispostas em feixes em múltiplas direcções. As células neoplásicas mostram marcado pleomorfismo. Observam-se células com núcleos pequenos e nucleolo evidente e células com núcleos volumosos, alguns gigantes, e abundante citoplasma eosinofílico. Em algumas o citoplasma está vacuolizado. O índice mitótico é elevado com a presença de mitoses atípicas. Numerosas células gigantes multinucleadas dispersas por toda a neoplasia. O crescimento neoplásico infiltra e diseca o tecido conjuntivo e adiposo da periferia. Infiltrados linfoplasmocíticos na periferia do crescimento neoplásico. Sem células neoplásicas nas margens e nas diferentes secções de músculo.	Exérese
Woarda	Fibrossarcoma moderadamente diferenciado. Proliferação neoplásica de natureza mesenquimatosa, composta por células volumosas muito pleomórficas com um núcleo também muito pleomórfico alargado com cromatina compacta e nucléolos evidentes. O índice mitótico é elevado. As células encontram-se ordenadas em algumas ocasiões em feixes que se dispõem em uma organização muito irregular, distinguem-se também algumas células gigantes multinucleadas. Neoplasia infiltrativa muito mal delimitada, possíveis recidivas.	Biopsia pré-2ªcirugia
Woarda (continuação)	Fibrossarcoma. Na massa subcutânea remetida observa-se um proliferação multinodular de células fusiformes que se dispõem formando feixes desordenados e orientados em todas as direcções ou em camadas concêntricas. Trata-se de células de núcleo oval e citoplasma relativamente abundante eosinofílico mal definido. O índice mitótico é bastante significativo. Elevada celularidade comparativamente com a substância intercelular. Em algumas zonas o crescimento têm um aspecto mais laxo e a substância intercelular tem um aspecto mixóide. A neoplasia não está bem delimitada das zonas adjacentes, em uma das margens laterais existe proliferação neoplásica próxima da margem. Na periferia da neoplasia apreciam-se abundantes acúmulos linfóides dispersos. Na amostra escapular e na outra amostra de músculo da zona não se apreciam lesões	Exérese pós-2ªcirugia

Anexo 7- Abordagens terapêuticas e considerações cirúrgicas.

Animal	Radioterapia e/ou Quimioterapia Pré-cirurgia	Cirurgia		Quimioterapia após exérese de VAS	
		Material removido	Considerações cirúrgicas		
Guizmo		- Nódulo interescapular de 5 cm de diâmetro e músculo adjacente. -5 apófises espinhosas -Parte dorsal da escápula direita.	FS: Monosyn, nylan; PA: Buprenorfina; I: Propofol, Valium; TE: Kurgan AG: Isoflurano. Drenagem penrose: 4-5d; Tirar pontos: 10-12 d 4 dias de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l (4dias); CRI: Ketamina 3µg/kg/min (1dia); Medicações: Cefazolina 20mg/Kg BID IV e Buprenorfina 20µg/kg QID IV (4dias); Meloxicam 0.1mg/kg SID SC (1dia) Após Hospitalização: Cortisona + Enrofloxacina (dor e febre) 13 dias após cirurgia: supuração purulenta a nível caudal da escápula e orifício de drenagem. Apatia. Seguir com o antibiótico. Complicações pós cirúrgicas: ferida não cicatriza bem (tto: askina gel + askina transorbent), + 2 cirurgias de reintervenção de ferida (28 dias e 2 meses após exérese de VAS)	2 meses após Cx: 4 sessões de doxorubicina.	
Negri		Cirurgia do nódulo interescapular (1ª cirurgia)			Início do tto-outro hospital
		Cirurgia após RNM (2ª cirurgia)		1 mês após Cx: 3 sessões de Doxo separadas 21 dias (1 mês)	Na 1ª recorrência
		Cirurgia (3ª cirurgia)	Abertura da ferida no momento de remoção de pontos.		Na 2ª R
	15 sessões de RT, 4Gy cada (60 Gy no total)	4ª cirurgia -Massa multinodular de 10x8x6 cm de diâmetro e músculos adjacentes. -apófises espinhosas -escápula	FS: Monosyn, monoplus, premilene; PA: Buprenorfina; I: Propofol, Valium; AG: Isoflurano; TE: Kurgan. 1 dia de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l; CRI: Ketamina 3µg/kg/min; Medicações: Cefazolina e Buprenorfina. Após Hospitalização: cefalexina, meloxicam (3dias) e buprenorfina. 13 dias após cirurgia: muita tensão na zona de incisão com alguma supuração. Convenia 3 dias antes. Complicações pós-cirúrgicas: deiscência de sutura (tto: askina gel + askina transorbent), biopsia (1 mês após Cx): tecido de granulação. +1 cirurgia para sutura de ferida cirúrgica (2 meses após Cx).	2 meses após Cx: quimioterapia paliativa com doxorubicina 1mg/kg IV. +10 dias: neutropenia grave, ↓dose (+synolox) No total 7 sessões de quimioterapia.	Na 3ª recorrência HCV
Misha 95		Nódulo interescapular e músculos adjacentes 5x3cm. (segundo TC, as apófises espinhosas e a escápula não se encontram afectadas, não sendo removidas)	FS: Monosyn, dafilon. PA: Buprenorfina; AG: Isoflurano; TE: Kurgan. 1 dia de hospitalização para control. Medicações: Cefazolina e Buprenorfina. Após Hospitalização: cefalexina e buprenorfina. 5 dias após cirurgia: ferida limpa sem supuração. O proprietário limpa a ferida com soro 1 vez/dia.		

Legenda: RT- radioterapia; TC- tomografia computadorizada; FS- fio de sutura; PA- pré-anestesia; I- indução; AG- anestesia geral; TE- terapêutica especial; Cx- cirurgia; R- recorrência; Doxo- doxorubicina

Anexo 7 (continuação) - Abordagens terapêuticas e considerações cirúrgicas.

Animal	Radioterapia e/ou Quimioterapia Pré-cirurgia	Cirurgia		Quimioterapia após exérese de VAS	
		Material removido	Considerações cirúrgicas		
Misha 98		Nódulo interescapular e músculos adjacentes 11,5x10x5cm	FS: Monosyn PA:morfina, midazolam; I: propofol, valium AG: Isoflurano; TE: Kurgan. 4 dias de hospitalização. CRI: Ketamina 2µg/kg/min + Fentanilo 5µg/kg/h. Medicações: Cefazolina e metacam (0.05mg/kg, SC, 4dias). Parche Fentanilo 25µg. Após Hospitalização: Rilexine75 BID 10 dias. + 1 Cirurgia para sutura de ferida (10 dias após CX).		
Missi	7 sessões de quimioterapia sempre seguidas de analíticas (CBC's- normais. Redução em 50% do tamanho tumoral.	Nódulo interescapular 8x5x3cm e tecidos musculares adjacentes com 3 cm de diâmetro cada um.	FS: Monosyn; Drenagem penrose:4-5d; Tirar pontos 15-17d 3 dias de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l ; CRI: fentanilo 5µg/kg/h (3 dias). Medicações: Cefazolina, Morfina (2dias), Meloxicam . 15 dias após cirurgia: remover pontos, ferida com eritema, crosta + prurido (mupirocina)	1 mês após cx: Doxorubicina (4mg em SFF)	Ainda em tratamento
Phoebe		Nódulo interescapular de 1.5cm e músculo adjacente. -apófises espinhosas	FS: Monosyn; 4 dias de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l + 2.5% de glucose (3dias); CRI: Ketamina 3µg/kg/min (1dia) + fentanilo 5µg/kg/h (1 dia). Medicações: Cefazolina e Meloxicam (5dias). 20 dias após cirurgia: remover pontos, ferida com boa cicatrização		Sugere-se Radioterapia (por razões económicas não se realiza)
XA		Nódulo interescapular de 4 cm, e músculos adjacentes 5x10cm -escápula (direita)	FS: Monosyn, dafilon. PA:morfina, midazolam; I: propofol, AG: Isoflurano; Drenagem penrose (4-5dias) Tirar pontos 10-12d 1 dia de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l. Parche de fentanilo Medicações: cefazolina, morfina e urbason Após a hospitalização: enrofloxacina + prednisona 5 dias após cirurgia: tirar drenagem , boa cicatrização.		Donos ponderam realizar quimioterapia
Woarda		Cirurgia para extirpação de nódulo			Início de tto-outro hospital
		2ª Cirurgia. Nódulo interescapular de 2x2,5 cm e músculos adjacentes. Apófises espinhosas (T3-T6) e terço superior da escápula direita.	FS: Monosyn; PA:morfina,; I: ketamina, midazolam, AG: Isoflurano; TE: Kurgan. Drenagem penrose: 4-5d; 1 dia de hospitalização: Fluidoterapia: RL + 20 mEq KCl/l. CRI: Ketamina 0.5µg/kg/min. Parche de fentanilo. Morfina Após a hospitalização: rilexine 300 (1/4 de comprimido BID 10 dias) e parche de fentanilo (5 dias).	2 meses após Cx: Doxo (1ª dose). Possível falho renal: ↓dose em 10%.	Na 1ª recorrência do tumor. HCV.

Legenda: RT- radioterapia; TC- tomografia computadorizada; FS- fio de sutura; PA- pré-anestesia; I- indução; AG- anestesia geral; TE- terapêutica especial; Cx- cirurgia; R- recorrência; Doxo- doxorubicina

