

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ESTUDO DE FATORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS EM
CÃES COM SARCOMAS DE TECIDOS MOLES
CUTÂNEOS E SUBCUTÂNEOS**

ANDREA REGINA CARDOSO DE ALMEIDA MOREIRA

Botucatu – SP
Setembro de 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ESTUDO DE FATORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS EM
CÃES COM SARCOMAS DE TECIDOS MOLES
CUTÂNEOS E SUBCUTÂNEOS**

ANDREA REGINA CARDOSO DE ALMEIDA MOREIRA

Dissertação apresentada junto
ao Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia
Animal para obtenção de título
de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos
Eduardo Fonseca Alves.

Botucatu – SP
Setembro de 2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Moreira, Andrea Regina Cardoso de Almeida.

Estudo de fatores clínico-patológicos em cães com sarcomas de tecidos moles cutâneos e subcutâneos / Andrea Regina Cardoso de Almeida Moreira. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Carlos Eduardo Fonseca Alves

Capes: 50501003

1. Cães - Doenças. 2. Neoplasias. 3. Tumores dos tecidos moles. 4. Sarcoma. 5. Taxa de sobrevivência.

Palavras-chave: Estudo estatístico; Neoplasia mesenquimal; Sobrevivência.

Autor: Andrea Regina Cardoso de Almeida Moreira

Título: Estudo dos fatores clínico-patológicos em cães com sarcomas de tecidos moles cutâneos e subcutâneos.

Data: ____/____/____

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^o Dr^o Carlos Eduardo Fonseca Alves

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal – FMVZ – Unesp
Botucatu

Prof^o Dra Maria Lucia Zaidan Dagli

Membro

Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – USP

Prof^o Dra Renée Laufer Amorim

Membro

Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP

*Dedico esse trabalho à minha
família, cujo suporte e amor
foram sempre imprescindíveis
em minha jornada.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

À minha família, pela união e valores compartilhados; nossas raízes deixaram um legado que nos guiam hoje e sempre.

À minha mãe Eunice Judith Cardoso de Almeida, exemplo em muitas esferas, pela grandiosa participação técnica neste trabalho, não sei o que seria da minha vida sem você.

À minha tia amada Iara Regina Cardoso de Almeida Pinto, por estar sempre ao meu lado; se não fosse a sua valiosa ajuda, eu não teria ingressado nessa Pós-Graduação.

Ao meu primo Osmar Pinto Neto, agradeço imensamente por sua contribuição nos cálculos estatísticos que abrilhantaram esse trabalho e trouxeram dados fundamentais para o mesmo. Parabéns por ser essa pessoa incrível, você é de fato uma pessoa incrível.

Ao meu namorado Everaldo José da Silva, pelo seu amor, suporte e companheirismo tão importantes em minha vida.

Ao meu orientador Dr. Carlos Eduardo Fonseca Alves, por ser esse excelente mestre, um profissional extremamente competente e qualificado, cercado de determinação e de uma inteligência fenomenal; obrigada por ter me aceitado como sua orientada, é um presente estar ao seu lado.

Ao Ms. Juliano Nóbrega, profissional excepcional, pelos seus ensinamentos e por toda a revisão histopatológica dos casos deste trabalho, fornecendo assim informações fundamentais para os dados analisados. Ao recuperar parte do material perdido do acervo de lâminas da Faculdade, deixa também um legado para o futuro. Foi uma honra poder contar com a sua ajuda, muito obrigada.

À minha amiga e competente anestesista Dra. Renata Ramos Rodrigues, pelo auxílio na formatação deste trabalho.

Ao Dr. Paulo César Jark, um exemplo dentro da nossa profissão, por quem tenho uma profunda admiração, muito obrigada por sua colaboração.

Ao Dr. Denner dos Anjos, por se dispor a nos ajudar tornando nossa casuística mais significativa e completa, gratidão por seu tempo e profissionalismo.

À Dra Maíra Bonamin Martins, pelo trabalho conjunto de tantos anos perante as avaliações histopatológicas da nossa rotina e auxílio neste projeto, uma parceria de confiança e carinho.

A todos os meus colegas de trabalho e à Vanessa Pontes, por me aguentarem em dias difíceis, por estarem ao meu lado cumprindo a grandiosa missão de tratar dos nossos pacientes, seres tão especiais e por vezes desafiadores. Nossa rotina profissional é uma constante escola em muitas esferas. Obrigada, juntos formamos um belo time.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1.INTRODUÇÃO.....	4
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 INCIDÊNCIA E ETIOLOGIA	5
2.2 COMPORTAMENTO BIOLÓGICO	6
2.3 SINAIS CLÍNICOS.....	7
2.4 CLASSIFICAÇÃO.....	8
2.4.1 Tipo histológico	8
2.4.2 Graduação	13
2.4.3 Índice mitótico.....	167
2.5 DIAGNÓSTICO	188
2.5.1 Histologia.....	18
2.5.2 Exames laboratoriais e de imagem.	20
2.6 ESTADIAMENTO CLÍNICO.....	21
2.7 TRATAMENTO.....	222
2.7.1 Cirúrgico.	22
2.7.2 Quimioterapia.....	28
2.7.3 Quimioterapia metronomica.....	29
2.7.4 Radioterapia.....	31
2.7.5 Eletroquimioterapia	344
2.7.6	
Imunoterapia.....	366
2.8 FATORES PROGNÓSTICOS	377
3. REFERÊNCIAS	41

CAPÍTULO 2

1.INTRODUCTION	56
2.MATERIALS AND METHODS	57
2.1 Study design.....	57
2.2 Clinical data.....	57
2.3 Morphological Analysis.....	59
2.4 Statistical Analysis.....	59

3.RESULTS	60
4.DISCUSSION	633
5. CONCLUSION.....	65
6. REFERENCES.....	65

MOREIRA, A. R. C. A. **Estudo dos fatores clínico-patológicos em cães com sarcomas de tecidos moles cutâneos e subcutâneos.** Botucatu – SP. 2021,76p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. *Campus* de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

RESUMO

Os sarcomas de tecidos moles (STM) compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas de origem mesenquimal, com comportamento clínico e achados histopatológicos semelhantes. Caracterizam-se por alta taxa de recidiva local e baixa taxa de metástase, que ocorre por via hematogêna acometendo em torno de 20% dos pacientes. Podem ocorrer em diversos locais do organismo, entretanto a região cutânea e subcutânea são os sítios mais comuns. A evolução na caracterização da histogênese pode futuramente permitir uma melhor compreensão do comportamento de cada tipo histológico e, conseqüentemente, o estabelecimento de fatores prognósticos individuais. Esse estudo tem por objetivo avaliar pacientes caninos acometidos por sarcomas de tecidos moles cutâneos e subcutâneos e relacionar características clínico-patológicas com a sobrevida desses animais.

Palavras-chave: Neoplasia mesenquimal, estudo estatístico, sobrevida.

MOREIRA, A. R. C. A. **Multicenter study of clinical and pathological factors in dogs with cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas.** Botucatu – SP. 2021. 76p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. *Campus* de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

ABSTRACT

Soft tissue sarcomas are a heterogeneous group of malignant neoplasm develop from mesenchymal (STSs) with similar clinical behavior and histopathologic appearance. It is characterized by high local recurrence rate and low metastasize rate, that occurs hematogenously affecting around 20% of patients. They can occur in any anatomical site of the body, however most commonly involving the cutaneous and subcutaneous tissues. The advanced histologic characterization can in the future lead a better understanding of the behavior of each histologic type, and this way establish individual prognostic. This study aims to assess canine patients with cutaneous and subcutaneous STM and to list clinical-pathologic characteristics with the survival of this animals.

Keywords: Mesenchymal neoplasm, statistical study, survival.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

Os sarcomas de tecidos moles (STM) compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas de origem mesenquimal, cuja classificação é baseada no comportamento clínico e aparência histopatológica similar (FORREST et al., 2000; AVALLONE et al., 2020). Podem ocorrer em diversos locais do organismo, entretanto a região cutânea e subcutânea são os sítios mais comuns, respondendo por 8 a 20% da totalidade de tumores que acometem essa região (DOBSON et al., 2002; BRONDEN et al., 2010; DENNIS et al., 2011).

Os STM são provenientes do tecido mesenquimal como adiposo, nervoso, muscular, fascial, parede de vasos sanguíneos e tecido fibroso (FORREST et al., 2000). Acometem mais frequentemente cães de meia idade a idosos, sem aparente predileção sexual e racial. A metástase ocorre por via hematogêna, acometendo em torno de 20% dos pacientes, os linfonodos normalmente não estão acometidos, pode haver significativa infiltração local (FORREST et al., 2000; LIPTAK e FORREST, 2013).

Os STM caninos contemplam mais de 20 subtipos histológicos, sendo que a maioria apresenta um comportamento biológico similar, tendo alta infiltração local e baixo índice metastático. Os subtipos dos STM compreendem neoplasias benignas e malignas, sendo inclusos nessa última categoria: fibrossarcoma, lipossarcoma, mixossarcoma, tumor de bainha de nervo periférico, tumor de parede perivascular, sarcoma pleomórfico, mesenquimoma maligno, leiomiossarcoma, rabiomiossarcoma (EHRHART, 2005; DENNIS et al., 2011).

O diagnóstico dos STM geralmente é estabelecido por análise histopatológica, obtida preferencialmente por biópsia incisional, a qual permite avaliar o tipo tumoral e sua respectiva graduação. A determinação histológica desses tumores representa um desafio diagnóstico, devido ao padrão celular similar entre si e com uma variedade de outras neoplasias (WITHROW, 1991; POWERS et al., 1995).

Independente da histogênese, a abordagem terapêutica consiste sempre que possível na exérese cirúrgica com margens livres, podendo ser associada a técnicas adjuvantes como a eletroquimioterapia e a radioterapia. Um

planejamento cirúrgico adequado é fundamental para o sucesso terapêutico dos STM, e baseia-se na localização, tamanho e graduação histopatológica e realização de exérese amplas, por vezes acompanhadas de técnicas reconstrutivas (LIPTAK e FORREST, 2007; DENNIS et al., 2011).

Esse estudo teve por objetivo avaliar diferentes parâmetros clínico-patológicos, bem como a sobrevida de cães acometidos por sarcomas de tecidos moles, incluindo uma adaptação de um estudo clínico humano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INCIDÊNCIA E ETIOLOGIA

Os sarcomas de tecidos moles são neoplasias mesenquimais malignas e compreendem um grupo heterogêneo de tumores que podem ocorrer em diversos locais do organismo (AVALLONE et al., 2020). Entretanto, as regiões cutânea e subcutânea correspondem aos sítios mais comuns. Essas neoplasias respondem por 8 a 20% de todos os tumores cutâneos e subcutâneos em cães (DOBSON et al., 2002; LIPTAK e FORREST, 2007).

De maneira geral, os STM acometem preferencialmente cães de meia idade a idosos, não havendo predileção sexual ou racial, sendo mais comuns em cães de médio a grande porte (DOBSON et al., 2002; LIPTAK e FORREST, 2007).

Kok e colaboradores (2019) realizaram um estudo retrospectivo em 1.435 cães com tumores cutâneos, dos quais 56,66 % eram malignos e 43,34 % eram benignos. Os STM corresponderam a 18,40 % do total dos casos, tendo sido os mais numerosos. Os autores constataram que o risco de aparecimento de tumores cutâneos aumenta significativamente a partir dos 11 anos de idade.

Dentre as possíveis causas etiológicas de ocorrências dos STM, a literatura cita processos traumáticos, corpos estranhos, implantes ortopédicos, radiação e infecção pelo parasita *Spirocerca lupi*. Entretanto, na maioria dos casos de STM, a etiologia do processo não é definida (HARDY, 1976;

SINIBALDI et al., 1976; McSPORRAN, 2009; LIPTAK e FORREST, 2013). Em humanos e felinos, a aplicação de vacinas e fármacos também está relacionada ao aparecimento de STM (SINIBALDI et al., 1976).

2.2 COMPORTAMENTO BIOLÓGICO

Os subtipos dos STM originam-se do mesoderma embriológico, incluindo músculos, tendões, ligamentos, cápsulas articulares, fâscias, nervos e vasos sanguíneos e linfáticos (DENNIS et al., 2011; LIPTAK e FORREST, 2013). Esses tumores têm em geral um comportamento biológico similar, variações na aparência, mas geralmente apresentam-se como formações de consistência macia a firme, com tamanhos variados, podendo estar aderidos à pele, ao músculo e aos ossos, bem como demais estruturas locais, sendo encontrados com maior frequência em região de tronco e membros (Quadro 1). Quando cursam com uma velocidade de crescimento rápida, pode ocorrer deficiência de oxigenação local levando à desvitalização e a áreas ulceradas (LIPTAK e FORREST, 2013).

QUADRO 1 – Características histológicas dos Sarcomas de Tecidos Moles (como originalmente descrito por Liptak e Forrest, 2013)

- . Habilidade de se originar de qualquer local anatômico do corpo
- . Propensão de terem uma pseudocápsula com margens histológicas pobremente definidas
- . Tendência de invadir os planos adjacentes
- . Alta taxa de recorrência local após realização de excisão conservativa
- . Metastizarem por via hematogena
- . Tendência a ter baixa resposta ao tratamento quimioterápico

A maioria dos STM tem evolução lenta, são localmente invasivos, expansivos e infiltrativos (BACON et al., 2007). Geralmente são pseudoencapsulados, sendo que o tecido da pseudocápsula é semelhante a uma cápsula, entretanto, nos STM é formado pela compressão do tecido conectivo peritumoral e pode conter ou estar aderido às células tumorais. A

invasão tumoral ocorre entre os planos teciduais adjacentes e extensões de células neoplásicas através da pseudocápsulas semelhantes a “dedos de luva”. Devido à presença da pseudocápsula, a exérese cirúrgica aparenta ser fácil, entretanto frequentemente ocorrem recorrências locais devido às células tumorais que invadem os planos teciduais adjacentes (FORREST et al., 2000; DENNIS et al., 2011).

De acordo com critérios histológicos, os STM são classificados em três graus, I, II e III, sendo esse último o de padrão mais agressivo. Esses tumores apresentam, de forma geral, uma baixa a moderada taxa de metástase, a qual é reportada em aproximadamente 20% dos casos. Ocorre mais comumente nos STM de Grau III, neste caso podendo atingir uma taxa metastática em torno de 40%. A metástase ocorre principalmente por via hematogena acometendo principalmente os pulmões; entretanto, os linfonodos locais também podem estar comprometidos, bem como outras regiões anatômicas (KUNTZ et al., 1997; LIPTAK e FORREST, 2007). Os STM localizados na região cutânea e subcutânea têm uma taxa de recorrência pós-cirúrgica de baixa a moderada, em torno de 7 a 30%, sendo observada principalmente nos STM incompletamente excisados e nos de alto grau (BOSTOCK e DYE, 1980).

De forma geral, a maioria dos STM cutâneos e subcutâneos em cães tem bom prognóstico, mas deve-se considerar a variedade de comportamento biológico desse grupo de neoplasias. A acurácia no prognóstico é fundamental para selecionar os pacientes que têm indicação de serem submetidos a um protocolo de tratamento mais invasivo, bem como, uma intervenção cirúrgica extensa, podendo ser associada à radioterapia e ou à quimioterapia. Por essa razão, fatores prognósticos e preditivos são essenciais para o estabelecimento de uma adequada conduta (DENNIS et al., 2011).

2.3 SINAIS CLÍNICOS

Os sintomas estão diretamente relacionados ao local acometido e à invasão local (KUNTZ et al., 1997; BOVÈE e HOGENDOORN, 2010; LIPTAK e FORREST, 2013). Quando há uma taxa de proliferação celular rápida, podem haver focos de hemorragia e necrose intratumoral.

Frequentemente, os STM podem ser macios, arredondados, mimetizando lipomas. (LIPTAK e FORREST, 2013).

Os tumores de bainha de nervo periférico envolvendo o plexo braquial ou lombossacro comumente levam a quadros de dor, claudicação, atrofia muscular e, eventualmente, paralisia. Esses tumores estão geralmente localizados na região axilar, sendo de difícil acesso à palpação. Diagnósticos precoces são difíceis, já que os pacientes não apresentam sintomas clínicos; os mesmos, normalmente aparecem quando o tumor tem um grande volume levando a quadros de claudicação e atrofia muscular (GAITERO et al., 2008).

A mobilidade do tumor pode ser um fator relacionado ao prognóstico, uma vez que tumores aparentemente fixos podem estar infiltrados em planos locais mais profundos, o que diminui o tempo livre de doença e taxa de sobrevivência (BRAY et al., 2014).

2.4 CLASSIFICAÇÃO

2.4.1 Tipo histológico

Sarcomas de tecidos moles correspondem a uma nomenclatura ampla usada para descrever tumores de diferentes origens celulares, porém que apresentam comportamento clínico e aparência histopatológica semelhante. São classificados de acordo com o seu fenótipo ou origem tecidual (DENNIS et al., 2011). A histogênese dos STM é controversa e pode ser difícil diferenciá-los pela avaliação histopatológica de rotina; a técnica de imuno-histoquímica pode auxiliar no diagnóstico de vários tumores (McSPORRAN, 2009; SIRRI et al., 2016).

Dennis e colaboradores (2011) propuseram a utilização de uma nomenclatura mais genérica como, sarcomas de tecidos moles ou tumor de células fusiformes de tecidos moles devido à dificuldade de diferenciação das diversas origens celulares, mesmo pelas técnicas de imuno-histoquímica. Na atualidade, a distinção histológica do tipo tumoral não é clinicamente relevante uma vez que os diversos tipos celulares classificados em STM têm comportamento clínico semelhante. Para a escolha do protocolo terapêutico mais apropriado, é necessária a determinação do tipo histológico, quando

possível, tamanho, localização, graduação e o estadió da doença. O grau do tumor é atribuído posteriormente à avaliação histológica de uma amostra de biópsia adequada (LIPTAK e FORREST, 2013).

Existem vários tumores mesenquimais derivados de tecidos moles que são convencionalmente excluídos da classificação do grupo de STM cutâneos e subcutâneos, sendo esses: linfangiossarcoma, hemangiossarcoma, sarcoma de células sinoviais, leiomiiossarcoma, rabdomiossarcoma, fibrossarcoma localizado na cavidade oral, tumor de bainha de nervo periférico do plexo braquial. Esses tumores podem ter distintas características microscópicas e ou localização anatômica, bem como comportamento biológico mais agressivo quando comparados aos demais tumores classificados no grupo de STM (DERNELL et al., 1998; LIPTAK e FORREST, 2007; STEFANELLO et al., 2008; McSPORRAN, 2009; LINDEN et al., 2019).

Neoplasias mesenquimais, com diagnóstico e prognóstico similares, que são agrupadas e classificadas em STM incluem: fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, tumor de parede perivascular, tumor da bainha de nervo periférico (TBNP), sarcoma pleomórfico, mesenquimoma maligno (DENNIS et al., 2011).

Os STM cutâneos e subcutâneos em cães são constituídos por células mesenquimais fusiformes, para a sua classificação histológica é necessário identificar áreas que se assemelhem a um tecido maturo ou que expresse determinadas marcas celulares de determinado fenótipo (Quadro 2) (GOLDSCHMIDT e HENDRICK, 2002; DENNIS et al., 2011). Entretanto, muitos desses tumores demonstram mais de um padrão histológico e tanto o estudo histopatológico quanto a imuno-histoquímica podem não ser conclusivos, por não caracterizarem a origem celular (AVALLONE et al., 2007; AVALLONE et al., 2020). Atualmente, não há um padrão de coloração ou um grupo de corantes que defina os diferentes tipos celulares; devido a essa dificuldade de diferenciação, muitos autores sugerem a classificação dos mesmos em um grupo único denominado STM (WILLIAMSON e MIDDLETON, 1998; GAITERO et al., 2008).

Os tumores de bainha de nervo periférico (TBNP) são o subtipo tumoral de STM mais comum em cães (KUNTZ et al., 1997), se originando das células de Schwann (schwannoma maligno) e fibroblastos intraneurais

(neurofibrossarcoma) e células perineurais (Sirri et al., 2016). Sua origem mesenquimal permite o crescimento desses tumores em qualquer região anatômica; entretanto, se desenvolvem comumente no tecido subcutâneo (EHRHART 2005; LIPTAK e FORREST, 2007; DENNIS et al., 2011).

QUADRO 2 - Diferenciação entre os tipos de sarcoma de tecidos moles em cães. Fonte: Dennis et al., 2011

Tipo	Tecido de origem (Histogênese)	Fenótipo	Walmart Histologia	Imunohistoquímica típica (%)
Fibrossarcoma	Tecido fibroso	Fibroblasto, Fibrócito	Feixes entremeados, padrão espinha de peixe, pronunciado estroma de colágeno	
Fibrossarcoma queloidal	Tecido fibroso	Fibroblasto, Fibrócito	Estroma de colágeno hialino	
Mixossarcoma	Tecido fibroso	Fibroblasto, Fibrócito	Formato estrelado a fusiforme, células estromais de mucina	
Lipossarcoma	Gordura	Lipoblasto, Lipócito	Células poliglionais com marcante citoplasma vacuolizado	
Tumor de parede perivascular (Glomus tumor, hemangiopeticitoma, miopericitoma, angioleiomioma/sarcoma, angiofibroblastoma, angiofibroma)	Células de parede perivascular	Pericito, Miopericito, Miócito liso	Padrão de crescimento vascular, placentóide, perivascular whorling, bandas de túnica média	Calpoin + ² Pan actin + ² SMA + (50%) ² S100 - ² NSE - ² GFAP - ² Mioglobina - ²
Tumor de bainha de nervo periférico (Schwanoma de neurofibrossarcoma)	Nervo periférico	Células Schwann, Neurofibroblasto	Feixes entremeados, feixes de colágeno “entremeados”= “whorling around”, padrão Antoni A e B	Nse + (45-82%) ¹² S100 + (50-100%) ^{12,44,47} Neurofilamento + (82%) ⁴⁷ NGFR + (47%) ¹² GFAP + (0-35%) ^{44,51}

QUADRO 2 -Diferenciação entre os tipos de sarcoma de tecidos moles em cães (continuação).Fonte: Dennis et al., 2011

Sarcoma pleomórfico (Histiocitoma fibroso maligno)	Tecido fibroso	Célula mesenquimal primitiva (potencialmente fibroblasto ou miofibroblasto)	Misto de células fibroblásticas e canoblásticas, citomegalia ou multinucleadas, células histiocíticas em padrão stonform, com variável infiltrado inflamatório	Lysozyme + (29-100%) ^{44,51} MHC II + (70%) ⁴⁵ Desmin + (85%) ⁵¹ S-100 - ⁵⁷
Mesenquimoma	Qualquer tecido mesenquimal	Múltiplos tipos celulares	Múltiplos tipos de células mesenquimais de tecido mole e componentes de matrix, incluindo osteocidais, condroides colágeno	
Leiomiossarcoma	Musculatura lisa	Leiomioblasto, Leiomiócito	Núcleo em “formato de charuto”, citoplasma destacado células	SMA + Desmin +(100%) ⁴⁴ Calponin + GFAP - ⁴⁴
Rabdomiossarcoma	Musculatura esquelética	Mioblasto esquelético, Miócito esquelético	Citoplasma estriado, “raquete” e “correias”	Myoglobin + Desmin + NSE +(50%) ¹² GFAP + (50%) ¹² S-100 – (75%) ¹²

Clinicamente, os TBNP têm comportamento semelhante às demais neoplasias do grupo dos STM caninos (KUNTZ et al., 1997; McSPORRAN, 2009; HOHENHAUS et al., 2016). De modo geral, crescem lentamente, são localmente expansivos e pseudoencapsulados; dependendo do grau histopatológico, apresentam baixa a moderada taxa de metástase, (KUNTZ et al., 1997; LIPTAK e FORREST, 2007; HOHENHAUS et al., 2016).

Os tumores de parede perivascular (TPP) são um subtipo tumoral dos STM e compreendem os miopericitomas, angioleiomiomas, angioleiomiossarcomas, angiofibromas e hemangiopericitomas; esse último foi reclassificado como tumor de parede perivascular (VILLAMIL et al., 2011). Um estudo feito por Avallone e colaboradores (2014) sugere que o tamanho tumoral e as margens cirúrgicas obtidas são os fatores prognósticos mais importantes dos cães com TPP.

Em um trabalho retrospectivo de grande abrangência, considerando o tipo histopatológico e as altas taxas de recorrência local, obteve-se: neurofibrossarcoma (18/56; 32-1%), mixoma (4/13; 30-7%) e fibrossarcoma (14/49; 28-6%), enquanto uma baixa taxa de recidiva local foi reportada para tumores de parede perivascular (2/22; 9%) (BRAY et al., 2014). Alguns autores consideram que os tumores de parede perivascular podem representar um subtipo de STM de característica menos agressiva (AVALLONE et al., 2007; STEFANELLO et al., 2011; BRAY et al., 2014).

2.4.2 Graduação

A graduação tumoral é considerada o principal fator prognóstico para os STM, sendo determinante para a escolha do planejamento cirúrgico e para os demais tratamentos instituídos (MILLANTA et al., 2020). Dependendo da graduação, tem-se um maior potencial metastático e de recidiva local (McSPORRAN, 2009; CHEN et al., 2011)

De acordo com o sistema adotado na medicina humana e também utilizado na graduação de STM caninos, leva-se em consideração o tipo tumoral, diferenciação celular, índice mitótico e porcentagem de necrose (COINDRE, 2006; YAP et al., 2017). Desde os anos de 1980, tem sido desenvolvido o respectivo sistema de graduação, com três distintos graus histológicos, que apresenta uma alta concordância entre as avaliações

dediferentes patologistas. Segundo McSporran (2009), houve uma concordância de 75% em 25 casos, avaliados por 15 patologistas.

Com base em critérios histológicos, os STM são classificados em neoplasias de baixo grau (grau I), grau intermediário (grau II) e alto grau (grau III). Neoplasias de alto grau estão relacionadas a comportamento biológico mais agressivo, altas taxas de recorrência local, metástase à distância e curto intervalo livre de doença (Kuntz et al. 1997; McSporran 2009; Dennis et al, 2011). As neoplasias de grau I são as que predominam na medicina veterinária (51-84%), tendo um comportamento biológico menos agressivo, com baixos índices metastáticos e de recidiva local (KUNTZ et al., 1997; McSPORRAN 2009; BRAY et al., 2014).

Avallone e colaboradores (2014) selecionaram 55 cães com TPP, desses 26 animais (47,5%) foram classificados em grau I, 25 animais (45,5%) em grau II e somente 4 animais (4%) em grau III; a taxa do índice mitótico foi em média de 4 mitoses em 10 campos de grande aumento. Em relação à margem cirúrgica, 7 animais tiveram margens limpas, 15 animais tiveram margens estreitas e 33 margens comprometidas. Diferente do que é citado na literatura, nesse trabalho não houve correlação entre o grau histopatológico e a margem cirúrgica. Em relação aos subtipos, computou-se: miopericitomas (24), angioleiomiossarcoma (5), angioleiomioma (4), adventício (2) e angiofibroma (1) (STEFANELLO et al., 2011).

Nesse último estudo, o impacto prognóstico foi atribuído somente ao tamanho do tumor, sendo que tanto o índice mitótico como a porcentagem de necrose não tiveram relevância em relação ao prognóstico, contrariamente ao que se preconiza na literatura atual. Tumores mensurando mais do que 5cm tiveram aproximadamente um risco de recidiva 7 vezes maior quando comparados aos tumores menores. Outro dado obtido no respectivo estudo é que animais jovens tiveram de modo geral tumores menores e de grau I, enquanto cães mais velhos tenderam a ter tumores maiores e de grau II (STEFANELLO et al., 2011).

Segundo a tabela de graduação dos STM proposta por Trojani et al. (1984), a análise anatomopatológica permite a graduação do tumor em grau I, II, e III ou bem diferenciado, moderadamente diferenciado e indiferenciado, respectivamente (Quadro 3).

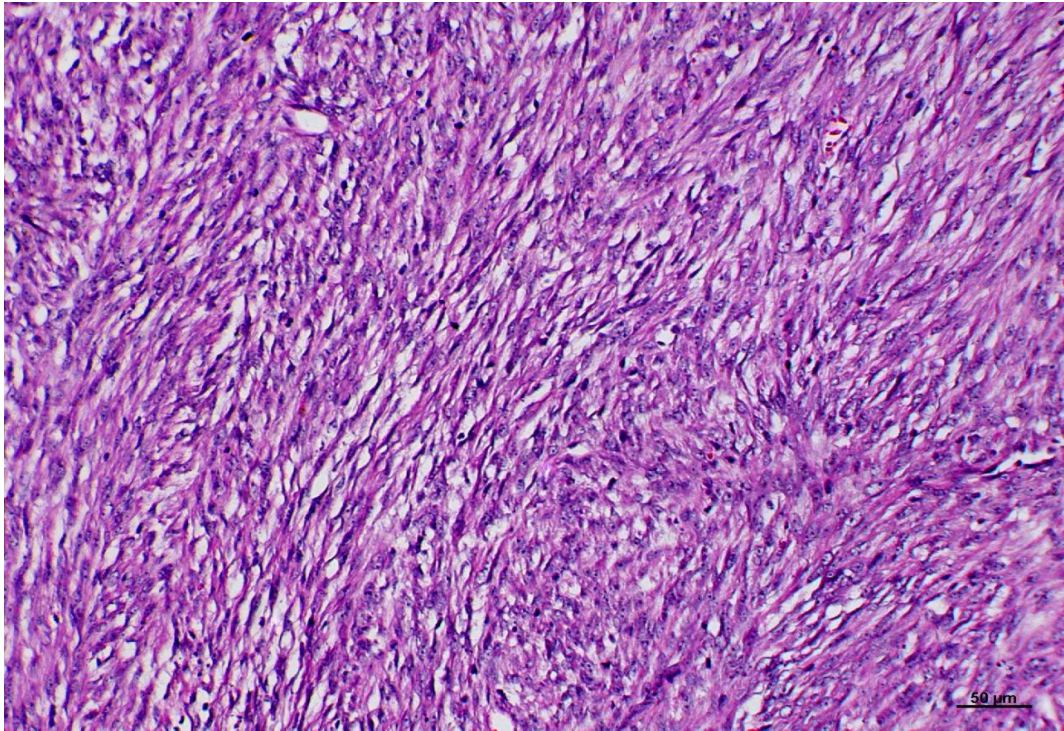
QUADRO 3– Sistemade graduação histológica para Sarcoma de Tecidos Moles Cutâneos e Subcutâneos em cães.

<i>Grau de Diferenciação</i>	
1.	Sarcomas que se assemelham ao tecido mesenquimal adulto normal por tipo (ex.: tumor de parede perivascular bem diferenciado, tumor de bainha de nervo periférico bem diferenciado, fibrossarcoma bem diferenciado, lipossarcoma bem diferenciado)
2.	Sarcomas que tem o seu tipo histológico determinado, entretanto com pobre diferenciação (lipossarcoma pobremente diferenciado, fibrossarcoma, tumor de parede perivascular, tumor de bainha de nervo periférico)
3.	Sarcomas indiferenciados, sarcomas sem determinação do tipo histológico
<i>Índice Mitótico: mitoses em 10 campos de grande aumento (400x)</i>	
1.	0 – 9
2.	10 – 19
3.	> 19
<i>Porcentagem de Necrose Tumoral</i>	
0.	Sem necrose
1.	< 50% necrose
2.	≥ 50% necrose
<i>Grau Histológico: total</i>	
I.	≤3
II.	4 – 5
III.	≥6

Fonte: Trojani et al. (1984)

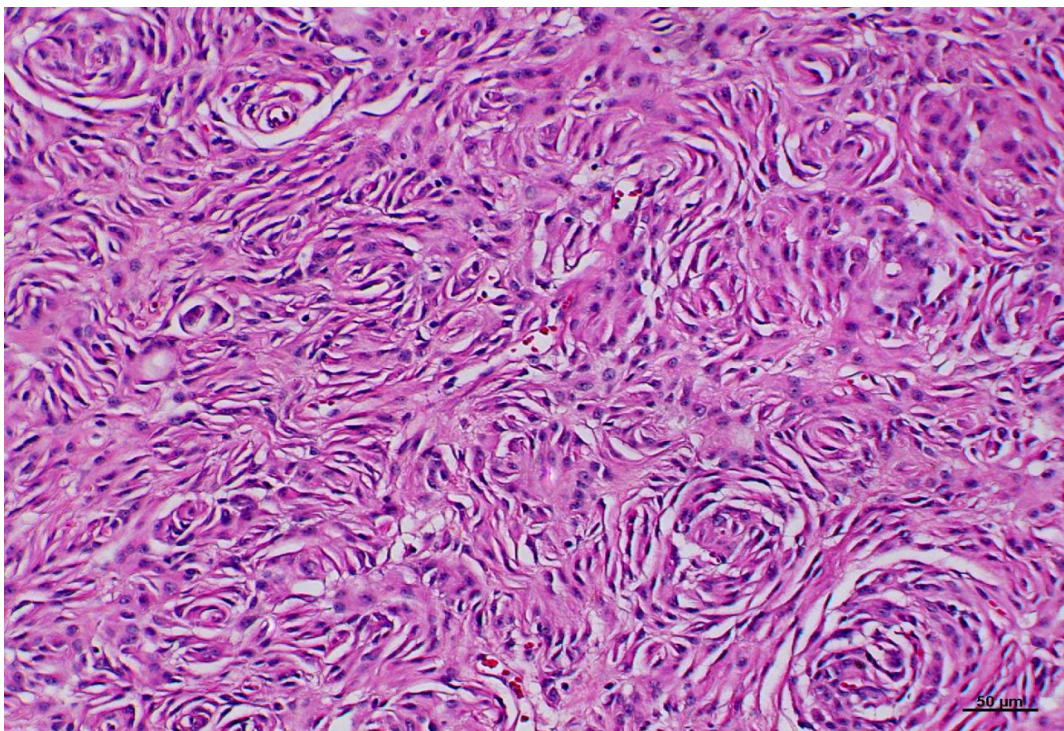
Recentemente, Millanta e colaboradores (2020) avaliaram a utilidade e precisão do sistema de graduação citológica, empregando a técnica de citologia aspirativa. A concordância entre os sistemas citológico e histológico foi de 50 % para grau I, de 67 % para grau II e zero para grau III. Apesar de reconhecerem a necessidade da análise de um maior número de casos, os autores sugerem que a graduação citológica pode ser uma ferramenta útil para a escolha da terapia a ser instituída e para o prognóstico.

Fig 1: Fotomicrografia de sarcoma de tecido mole



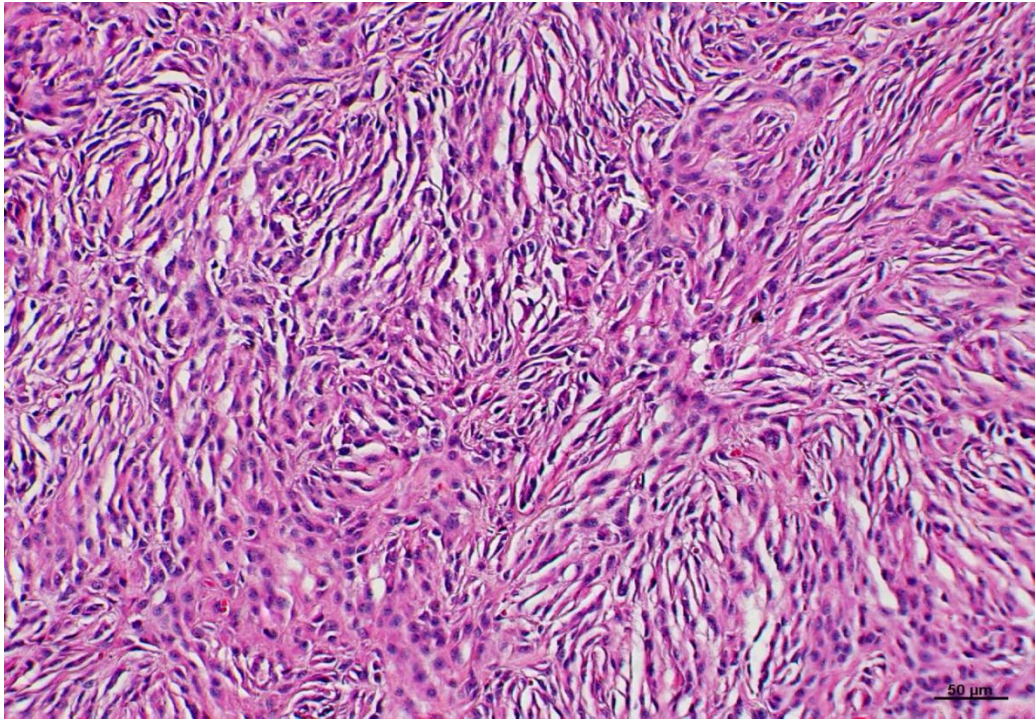
Fonte: Arquivo Setor de Patologia FMVZ-UNESP Campus Botucatu, 2021; Colaboração: Juliano Nóbrega
Coloração: HE (400 x)

Fig 2: Fotomicrografia de sarcoma de tecido mole



Fonte: Arquivo Setor de Patologia FMVZ-UNESP Campus Botucatu, 2021; Colaboração: Juliano Nóbrega
Coloração: HE (400 x)

Fig 3: Fotomicrografia de sarcoma de tecido mole



Fonte: Arquivo Setor de Patologia FMVZ-UNESP Campus Botucatu, 2021; Colaboração: Juliano Nóbrega
Coloração: HE (400 x)

2.4.3 Índice mitótico

O índice mitótico consiste na mensuração da atividade proliferativa do tumor, que é calculada a partir do número de figuras de mitose em 10 campos de grande aumento (400), sendo relevante para fatores prognósticos relacionados ao tumor. Um alto índice mitótico (IM) está relacionado ao aumento de recorrência tumoral, baixo tempo livre de doença, altas taxas metastáticas e redução da sobrevida (BOSTOCK e DYE, 1980; KUNTZ et al., 1997; ETTINGER et al., 2006; MCSPORRAN, 2009; DENNIS et al., 2011; BRAY et al., 2014).

Outros marcadores, como Ki 67 e AgNOR promovem informações adicionais, uma vez que detectam células tumorais em proliferação nas diversas fases do ciclo celular, e devem ser incluídos na avaliação sempre que possível (ETTINGER et al., 2006).

2.5 DIAGNÓSTICO

Para um diagnóstico adequado, preconiza-se sempre que a determinação do tipo histológico seja estabelecida, bem como a graduação e o estadiamento do tumor. Para tanto deve-se incluir uma avaliação histológica dos linfonodos regionais pesquisando possíveis infiltrações de células neoplásicas e exames de imagem a fim de verificar possíveis focos de metástase a distância (EHRHART, 2005).

2.5.1 Histologia

Apesar da citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) ser um método de triagem em pacientes com nódulos cutâneos, a mesma pode não ser conclusiva em todos os casos de STM, devendo assim ser usada com cautela. Entretanto, sua realização tem fortes indicações, podendo ser útil na identificação da origem tumoral, na diferenciação de formações neoplásicas e não neoplásicas, e de processos inflamatórios, abscessos e cistos (LIPTAK e FORREST, 2013; BRAY et al., 2014).

A limitação da acurácia que pode ocorrer com a CAAF para o diagnóstico de alguns casos de STM é atribuída a algumas variantes, bem como resultados falso-negativos podem estar relacionados a áreas de necrose e ao fato desses tumores serem pouco esfoliativos quando comparados aos tumores epiteliais e os de células redondas (MacEWEN et al., 2001). No caso de um estudo realizado com 40 cães portadores de STM, 15% tiveram um diagnóstico incorreto e 23% das amostras citológicas foram inconclusivas (BAKER-GABB et al., 2003).

Quando amostras citológicas são obtidas de formações suspeitas para STM e o resultado é sugestivo de um processo reativo ou inflamatório, deve-se levar em consideração a aparência e histórico clínico do paciente, bem como a limitação dessa técnica para os neoplasmas em questão (KAMSTOCK et al., 2011).

A avaliação citológica oferece uma boa acurácia para os quadros de hemangioperitoma e para os tumores de células fusiformes de baixo grau, podendo ter maior limitação diagnóstica para os tumores de alto grau (PINSON, 1998; CANIATTI et al., 2001).

A análise por citomorfometria realizada em um microscópio trinocular digital (Motic Professional B3 digital microscópico) mostrou-se eficaz na diferenciação dos sarcomas para os processos reativos teciduais, havendo uma histomorfometria nuclear distinta. Nos processos reativos, o núcleo é maior e há uma considerável diferença do seu tamanho e formato comparativamente as células dos STM, entretanto essa técnica não foi eficaz para determinar a diferenciação dos diferentes tipos de STM (SIMEONOV et al., 2014).

A biópsia incisional consiste no método de escolha para colheita de fragmentos dos STM, para posterior avaliação histopatológica e confirmação diagnóstica. A técnica de biópsia excisional é aplicada em diversos tipos tumorais, entretanto seu uso não é recomendado para os STM que requerem intervenções com margens amplas; assim, esse tipo de abordagem pode impactar negativamente na morbidade e acarretar maiores custos de tratamento. Além disso, múltiplas tentativas de excisão, incluindo a biópsia incisional, pode tornar a neoplasia cada vez mais agressiva, necessitando de margens cirúrgicas mais amplas, tendo desta forma um impacto negativo no tempo de sobrevivência dos cães com STM (POSTORINO et al., 1988).

O desenvolvimento de técnicas de imuno-histoquímica e a disponibilidade de anticorpos monoclonais e policlonais para diversos marcadores teciduais têm melhorado o diagnóstico dos sarcomas de tecidos moles na patologia humana, e também de forma mais limitada na veterinária (JARK et al., 2016).

Em 2011, um comitê oncológico do Colégio Americano de patologistas veterinários estabeleceu um consenso das diretrizes de avaliação histológicas dos STM em cães com critérios e padrões descritivos, auxiliando assim na conduta clínica cirúrgica futura. Um relato detalhado do quadro oncológico, bem como, da macroscopia tumoral pelo solicitante é um importante auxílio para o estudo histopatológico (LIVACCARI et al., 2018).

Com a avaliação histopatológica, é possível determinar o grau do tumor e auxiliar na determinação das condutas futuras, principalmente se a escolha da técnica cirúrgica tiver um considerável impacto sobre o paciente (EHRHART, 1998; ETTINGER, 2003; EHRHART e WITHROW, 2007). As amostras histopatológicas dos STM são obtidas com maior facilidade quando a biópsia é realizada com instrumentos percutâneos de tamanhos 12 a 14 (e.g Tru-cut

agulhas ou trépanos); sempre que possível, preconiza-se que o exame seja realizado de forma guiada pelo ultrassom (EHRHART e WITHROW, 2007).

Pacientes humanos com STM que tiveram amostras histopatológicas coletadas por agulhas transcutâneas apresentaram resultados comparáveis às biopsias abertas; em 93% dos casos, foi possível distinguir tumor de alto grau de um de baixo grau, o que demonstra uma boa acurácia (Ballet al., 1990; Heslin et al., 1997). Já um estudo similar realizado com cães mostrou que em 29% dos casos as biopsias pré-operatórias subestimavam, e em 12% superestimavam a graduação da formação comparativamente à amostra enviada para avaliação histopatológica após a cirurgia (PERRY et al., 2014).

2.5.2 Exames laboratoriais e de imagem

A realização de exames complementares é imprescindível para a conclusão diagnóstica e um estadiamento clínico apropriado. Deve-se considerar a realização de exames de sangue, como o hemograma e bioquímico sérico, três incidências radiográficas e exames de imagem que contemplem o abdômen e o local do tumor (SPANGLER e KASS, 1999; MacEWEN et al., 2001; SKORUPSKI et al., 2007).

Os exames de imagem são imprescindíveis para os pacientes com STM, fornecendo diagnóstico, estadiamento, avaliação do tamanho e da invasão local, auxiliando desta forma, na escolha do tratamento mais adequado e no melhor planejamento cirúrgico. As técnicas de tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) são especialmente úteis para avaliar o tamanho e o grau de infiltração do tumor, auxiliando assim na viabilidade de exérese cirúrgica e no planejamento da melhor conduta terapêutica a ser instituída (SUGIURA et al., 2002).

A TC e RM também são de grande valia para o diagnóstico de tumores de bainha de nervo periférico, contemplando os de plexo braquial e lombossacra, bem como os de raiz medular. A RM é superior à TC para essa avaliação, já que a excelente resolução de contraste tem a capacidade de distinguir melhor os feixes nervosos. Outras modalidades de imagem para estadiamento tumoral local incluem: pesquisas radiográficas, ultrassonográficas, angiografia e cintilografia nuclear (LIPTAK e FORREST, 2013).

As radiografias torácicas realizadas em três projeções são de suma importância, uma vez que os campos pulmonares são o principal sítio de metástase dos sarcomas. São necessárias três projeções e o padrão nodular é a principal forma de apresentação de metástases (VILLEDIEU et al., 2021). Apesar da taxa de metástase dos STM para órgãos abdominais ser menos comum quando comparada ao pulmão, a avaliação da cavidade abdominal deve sempre ser realizada, sendo os linfonodos, baço e fígado os locais mais comumente acometidos (KUNTZ et al., 1997; EHRHART, 2005).

Com relação aos exames de ultrassonografia, há poucos relatos na literatura, eles são usados para visualizar as características internas do tumor, incluindo a vascularização. Para fins de diagnóstico, esse tipo de exame não substitui a biópsia e a histopatologia (LOH et al., 2009).

Os exames de imagem podem detectar alteração nos linfonodos internos, sendo incomum a metástase dos STM para linfonodos regionais. Desta forma, a citologia aspirativa por agulha fina ou biópsia do linfonodo regional é indicada para os casos dos pacientes que apresentem algum tipo de alteração nos linfonodos, para os sarcomas de alto grau e os sarcomas atípicos, pois nesses casos, como exceção, há uma alta taxa metastática (KAPATKIN et al., 1992; COHEN et al., 2003; EHRHART, 2005; LIPTAK e FORREST, 2013).

2.6 ESTADIAMENTO CLÍNICO

O estadiamento clínico dos STM deve ser realizado sempre, pois é fundamental para o prognóstico e planejamento terapêutico. Ele é instituído pela avaliação clínica e demais exames diagnósticos de imagem, objetivando estabelecer a extensão da doença no local e à distância.

O sistema de estadiamento para os neoplasmas de STM em cães foi modificado pelo AJCC (*American Joint Committee on Cancer*). A principal mudança foi atribuída à categorização do local da doença, dando menor ênfase ao tamanho do tumor, uma vez que esse fator é considerado uma atribuição arbitrária, e maior ênfase ao grau da profundidade de invasão. Um tumor considerado superficial é definido como um STM localizado acima da fáscia superficial e que não a invade, enquanto que um tumor profundo apresenta invasão da fáscia superficial.

O Quadro4 mostra o sistema de estadiamento clínico dos STM para cães, modificado pelo AJCC.

QUADRO 4 – Sistema de estadiamento clínico para neoplasias sólidas de tecidos moles

<p><i>Tumor primário (T):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> . T0: não há tumor . T1: tumor <1 cm de diâmetro e não invasivo . T2: tumor 1-3 cm de diâmetro ou localmente invasivo . T3: tumor >3 cm ou localmente invasivo ou ulcerado <p><i>Linfonodos regionais (N):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> . N0: sem envolvimento de linfonodos regionais . N1: linfonodos regionais firmes e aumentados . N2: linfonodos regionais firmes, aumentados e aderidos . N3: envolvimento de outros linfonodos além dos regionais <p><i>Metástases à distância (M):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> . M0: ausência de metástase . M1: presença de metástase para um sistema . M2: presença de metástase para mais de um sistema <p><i>Estádios:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - I: qualquer T, N0, M0, grau histopatológico I e II - II: T1a-1b, T2a, N0, M, grau histopatológico III - III: T2b, N0, M0, grau histopatológico III - IV: qualquer T, N1, qualquer N, qualquer M, M1, grau histopatológico I a III.
--

Fonte: Owen (1980).

2.7 TRATAMENTO

2.7.1 Cirúrgico

O tratamento cirúrgico consiste no método de escolha para tratar os STM. Dependendo da localização, grau histopatológico e tamanho da formação a cirurgia pode ser utilizada como método único ou associada a modalidades terapêuticas adicionais. Os STM invadem tecidos adjacentes que apresentam

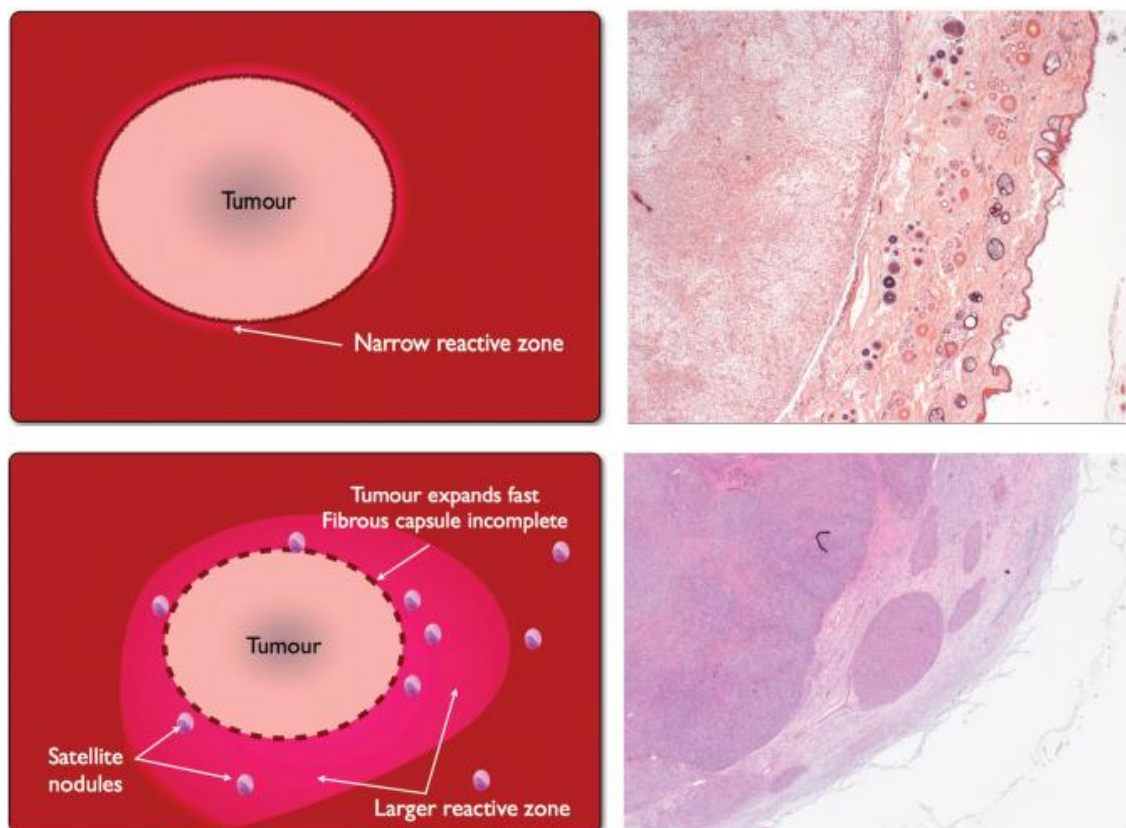
menor resistência ea sua expansão ocorre de forma centrífuga; a compressão e atrofia desses tecidos leva à formação da pseudocápsula.

Nos tumores de baixo grau, a pseudocápsula tem margens bem definidas podendo ser uma barreira protetora para o crescimento e infiltração tumoral local, enquanto que nos tumores de alto grau, a pseudocápsula tem margens mal definidas e pode conter células neoplásicas viáveis (Figura 1). Assim, não pode ser considerada como uma estrutura anatômica segura no momento da exérese do tumor; a presença microscópica de células neoplásicas aumenta a chance de recidiva local (DUART-CLEMENTE et al., 2008; BRAY, 2016; BRAY, 2017).

A zona reativa está localizada entre a pseudocápsula e o tecido local, apresenta-se como uma área menos pigmentada, podendo ser identificada em alguns casos (Figura 1). A mesma é composta por células mesenquimais em proliferação, células inflamatórias, nódulos satélites (skip metástases), áreas hemorrágicas, edema, neovascularização e outras alterações granulomatosas (BRAY, 2017). Nódulos satélites podem atravessar a pseudocápsula, bem como a zona reativa, e formarem pequenos nichos celulares isolados depositados no tecido local (Figura 4) (ENNEKING et al., 1980; LIU et al., 2008). Em um estudo com pacientes humanos, em 30% dos casos, nódulos satélites foram encontrados entre 1 a 4 cm da massa principal (WHITE et al., 2005).

Os nódulos satélites são mais comumente observados em tumores de alto grau, enquanto, em tumores de baixo grau, praticamente não são reportados (ENNEKING et al., 1980). Outro dado relacionado à graduação tumoral é a integridade histopatológica da pseudocápsula que permite a passagem de células tumorais para o entorno da formação; esta integridade reduz à medida que aumenta o grau tumoral. As células dos tumores de baixo grau apresentam uma forma de crescimento expansiva, enquanto que os de alto grau, além da expansão, também possuem comportamento infiltrativo entre os tecidos adjacentes (BRAY, 2017).

Figura 4: A estrutura e composição da pseudocápsula dos STM



Fonte: Bray et al. (2017)

Diversos estudos mostram que a recidiva local é um fator determinante na sobrevivência desses pacientes, e sendo assim, a obtenção de margens livres é uma das metas do tratamento cirúrgico (BANKS et al., 2004; DUART-CLEMENTE et al., 2008; QURESHI et al., 2012; BRAY et al., 2014). Fatores relacionados à recidiva local incluem: tamanho e graduação tumoral, habilidade do cirurgião, marcação das margens, extensão adequada da exérese e contração muscular (EILBER et al., 2003; DUART-CLEMENTE et al., 2008; BRAY, 2016; BRAY, 2017).

A quantificação das margens cirúrgicas é uma questão que difere na literatura e para a qual ainda não há uma concordância de padronização. No intuito de evitar a recorrência local, as recomendações cirúrgicas convencionais para a abordagem dos STM seguem as diretrizes de classificação dos tumores musculoesqueléticos (ENNEKING et al., 1980). A intervenção cirúrgica deve compreender uma ressecção radical com margens amplas, e em alguns casos, tecidos musculares, ósseos e membros devem ser considerados no planejamento da exérese (LIPTAK e FORREST, 2013; BRAY, 2016).

Principalmente para os tumores de grau I e II, alguns autores recomendam uma incisão cirúrgica de 3cm ao redor do tumor, baseado na margem macroscópica do mesmo e um plano tecidual de profundidade. Outros autores sugerem uma intervenção mais radical, principalmente para os tumores de grau III, considerando 5cm de margem ao redor da formação e até dois planos teciduais de profundidade (KUNTZ et al. 1997; BANKS et al., 2004; EHRHART, 2005; LIPTAK e FORREST, 2013).

Stefanello e colaboradores (2008) realizaram um estudo com 35 cães, a fim de avaliarem a margem cirúrgica, e concluíram que a determinação da graduação do neoplasma deve sempre ser realizada previamente à intervenção, para o estabelecimento das condutas mais adequadas. Para os tumores de baixo grau, margens cirúrgicas próximas ao limite macroscópico e não incluindo um plano de fáscia profunda podem ser justificadas uma vez que os STM de baixo grau apresentam baixos índices de recidiva local.

A classificação da margem cirúrgica é baseada em uma variedade de métodos microscópicos, podendo ser incompleta, exígua/próxima ou completa. As margens incompletas correspondem àquelas em que há presença de células neoplásicas em pelo menos um dos planos da margem cirúrgica ou quando há presença de células neoplásicas há menos de 1mm de alguma margem (SELTING et al., 2005). Para a classificação como margem exígua, a distância entre o neoplasma e a margem cirúrgica deve ser menor que 3mm (STEFANELLO et al., 2008) ou a dissecação passa através da pseudocápsula (McSPORRAN, 2009). Na margem completa, a distância entre o neoplasma e a margem é de pelo menos 3 a 5mm (BANKS et al., 2004; BACON et al., 2007; STEFANELLO et al., 2008).

Recentemente, Abrams e colaboradores (2021) fizeram uma revisão minuciosa da literatura com o objetivo de identificar qual era o sistema de classificação utilizado pelos diferentes autores para margem cirúrgica. A maioria dos trabalhos adota a classificação de completa ou incompleta. Critérios quantitativos, que são os recomendados para determinar as margens histológicas, foram utilizados em apenas 7,5 % dos artigos analisados.

A fim de se obter uma margem cirúrgica adequada, no transcirúrgico, após a remoção da formação, ela pode ser avaliada microscopicamente por uma técnica histopatológica específica; se houver evidência de que existem células

neoplásicas comprometendo a margem, a mesma poderá ser ampliada (HARNESS et al., 2014).

O uso de tomografia de coerência óptica (OCT) no transcirúrgico consiste em uma excelente técnica para o auxílio na correta extensão da margem cirúrgica (SELMIC et al., 2019; DORNBUSCH et al., 2021). Apesar de não distinguir neoplasias benignas de malignas, ao se realizar a exérese cirúrgica, a imagem fornece a delimitação do neoplasma para o tecido adiposo e muscular do entorno. Além da técnica ser realizada em tempo real, as suas sensibilidade e especificidade são superiores às das técnicas de congelamento histopatológico transcirúrgico (MESA et al., 2017).

Milovancev e colaboradores (2019) realizaram um estudo minucioso de meta-análises, compilando a casuística de distintos pesquisadores, a fim de averiguar a relação da recorrência tumoral com a margem microscópica cirúrgica. Apesar de haver margens cirúrgicas consideradas livres que sofrem recidiva tumoral, e margens comprometidas em que por até dois anos após a cirurgia não houve indícios de recidiva, os autores concluíram que há uma relação significativa entre a avaliação microscópica da margem cirúrgica e o risco de recidiva tumoral.

Para Milovancev e colaboradores (2020), a taxa de recorrência local para STM de graus baixo e intermediário é pequena; dos 19 cães acompanhados por 2 anos, nenhuma recorrência ou metástase foram diagnosticadas.

A porcentagem de recorrência tumoral quando há margens comprometidas ou exíguas é similar. Os trabalhos referem taxas de 17% a 28% subsequentes, entretanto, ainda é necessário um maior número de trabalhos para o estudo em questão (KUNTZ et al., 1997; STEFANELLO, 2008; McSPORRAN, 2009).

Recorrências locais de STM excisados com margem exígua são relativamente comuns, sendo reportadas em 13 de 45 (29%) e em 10 de 27 (37%) dos tumores excisados pela primeira e segunda vezes, respectivamente (CHASE et al., 2009). A relação entre gradação tumoral e a taxa de sobrevivência ainda não está claramente demonstrada, mas é foco de diversos estudos e consiste em um importante fator prognóstico na sobrevivência desses pacientes (McKNIGHT et al., 2000; STEFANELLO et al., 2008; CHASE et al., 2009).

O tamanho do tumor é um fator a ser considerado no planejamento terapêutico, mas segundo Dennis e colaboradores (2011) não está relacionado a um fator prognóstico para os STM. Entretanto, o tamanho do tumor está diretamente relacionado à abordagem cirúrgica e tumores com diâmetro maiores que 5 cm estão relacionados a um menor tempo livre de doença, tanto em cães como em humanos (BRAY, 2016).

McSporran (2009) destacou a importância da gradação tumoral relacionada à margem cirúrgica e possível recidiva após a primeira intervenção. Enquanto o grau I tem uma baixa porcentagem, sendo de 7% (3/41), o grau II e III já apresentam uma taxa maior, de 34% (14/41) e 59% (24/41), respectivamente.

A mobilidade tumoral pode estar relacionada com a extensão da infiltração e a expansão tumoral local. Tumores com menor mobilidade requerem, na maioria das vezes, margens cirúrgicas mais amplas e têm uma maior probabilidade de recidiva local (BRAY et al., 2014).

Considerando que os STM têm uma alta taxa de recidiva local e baixo percentual metastático, e que em muitos casos a recidiva local ocorre de forma tardia entre 1 a 2 dois anos após a intervenção cirúrgica, um projeto de segmento a longo prazo deve ser instituído a fim de acompanhar adequadamente esses pacientes. Uma sugestão seria o acompanhamento mensal pelos três primeiros meses após a cirurgia, seguido por avaliações a cada três meses no primeiro ano, e posteriormente a cada seis meses. Exames de radiografia torácica e ultrassonografia abdominal devem ser realizados nos 6, 12, 18 e 24 meses após a cirurgia. Possível recorrência local é diagnosticada por exame citológico ou histopatológico, estando localizada em até 2 cm do local previamente excisado (DERNELL et al., 1998).

Quando a intervenção cirúrgica resulta em margens comprometidas, seja pela localização do tumor ou por um planejamento inadequado, a instituição de um tratamento complementar deve ser considerada, uma vez que esses pacientes apresentam em média 10,5 vezes maiores chances de terem uma recorrência tumoral local (KUNTZ et al., 1997). Uma nova intervenção cirúrgica e a radioterapia são as técnicas mais comumente empregadas, porém nenhum

tratamento trará resultados tão satisfatórios como a intervenção cirúrgica primária com margens adequadas.

2.7.2 Quimioterapia

Ainda não está bem estabelecida a eficácia da quimioterapia para os STM em cães, o aumento da sobrevida, bem como o tempo livre de doença. Nos STM, a metástase normalmente ocorre de forma tardia, em média, após 365 dias (KUNTZ et al., 1997).

A taxa de metástase nos STM é baixa quando comparada à de outros sarcomas, como hemangiossarcoma, osteossarcoma e sarcoma histiocítico. A quimioterapia é indicada para os pacientes com STM grau III, onde a taxa de metástase pode chegar a 41% (MacEWEN et al., 2001; WILEY et al., 2010).

O tratamento quimioterápico pode ser instituído previamente à cirurgia, uma vez que a microcirculação local está preservada, resultando em uma maior ação quimioterápica, se comparada ao pós-operatório, que pode ter uma interrupção da microcirculação local e assim um aumento da dificuldade de ação do fármaco. Além disso, estudos têm mostrado uma diferença na pseudocápsula tumoral entre os pacientes que recebem o quimioterápico antes da intervenção cirúrgica e os que não recebem (GITELIS et al., 1989; WODAJO et al., 2001).

A redução da taxa de metástase, principalmente para o pulmão, e o aumento da taxa de sobrevida podem ser alcançados quando se associa a quimioterapia ao tratamento. A utilização de agentes como a doxorrubicina, dacarbazina e ifosfamida resultou em uma taxa de resposta superior a 20%; já com relação ao auxílio no controle da doença local, a sua eficácia ainda está sendo estabelecida (CORMIER e POLLOCK, 2004).

Os protocolos utilizando a doxorrubicina como droga única ou em associação com a ciclofosfamida são muito utilizados, com uma taxa de resposta de até 23% (OGILVIE et al., 1989). Outra opção de protocolo utiliza a doxorrubicina conjuntamente com a ifosfamida, com uma taxa mediana de sucesso para o controle tumoral local (PERVAIZ et al., 2008). Aplicações semanais ao redor do local da incisão cirúrgica de 5-fluoracila é uma opção para controle da doença local, sendo bem toleradas pelos pacientes (MARCONATO et al., 2007).

Em 19 cães com STM confirmados histologicamente, foi feita intervenção cirúrgica combinada à quimioterapia com cisplatina em forma de implante biodegradável. Durante o acompanhamento (874 dias), nenhum animal mostrou metástase; três cães apresentaram recorrência após 214, 264 e 874 dias; e nove animais permaneceram vivos (HAVLICEK et al., 2009).

2.7.3 Quimioterapia Metronômica

A quimioterapia metronômica consiste em uma modalidade de tratamento que proporciona uma contínua administração de fármacos quimioterápicos em doses significativamente menores que a dose máxima tolerada utilizada nos protocolos tradicionais. Os contínuos níveis circulantes dos fármacos antineoplásicos conferem efeitos citotóxicos, antiangiogênicos e imunomoduladores, além de proporcionar baixos índices de efeitos adversos e de resistência aos quimioterápicos (HANAHAN et al., 2000).

Comparativamente aos protocolos quimioterápicos convencionais, a terapêutica metronômica leva à inibição da angiogênese tumoral de forma mais eficaz, contribuindo assim para o controle do desenvolvimento e progressão tumoral (BURTON et al., 2011). Isso se deve ao fato das células endoteliais serem sensíveis a essa forma de exposição e sofrerem menos mutações genéticas que lhe conferem uma vantagem de resistência (ZOU, 2005).

Dentre os efeitos dos protocolos de quimioterapia metronômica está a inibição da mobilização de células progenitoras endoteliais produzidas na medula óssea para o foco tumoral. Essas células são as principais responsáveis pela neovascularização nos sítios tumorais (ELMSLIE et al., 2008). Além disso, a terapêutica metronômica também estimula a produção de trombospondina-1 um potente inibidor da angiogênese endógena (BOCCI et al., 2003; KAMAT et al., 2007).

Também há evidências de que o sistema imune é modulado pela terapêutica metronômica, através da inibição dos efeitos das células T regulatórias (Treg). As Treg incluem linfócitos CD4+ e CD25+ e têm um papel determinante na inibição da resposta imune antitumoral atuando sobre os linfócitos T citotóxicos e/ou células NK. Desta forma, a diminuição da ação efetora das Treg melhora a resposta imunitária antitumoral, favorecendo o seu

controle (BAECHER-ALLAN e ANDERSON, 2006; GALLIMORE e SIMON, 2008).

Burton e colaboradores (2011) demonstraram que tanto o número relativo como o absoluto de Treg no sangue periférico de pacientes com STM são maiores quando comparados aos de cães saudáveis. O tratamento com a ciclofosfamida por via oral levou à diminuição da Treg, entretanto não alterou a contagem do número tanto absoluto quanto relativo de CD4 e CD8. No mesmo estudo, verificou-se que a ciclofosfamida metronômica foi eficaz para tratar cães com STM; com relação à diminuição de Treg, a dosagem de 15 mg/m²/dia apresentou vantagem em relação à dose de 12,5mg/m²/dia.

A ciclooxigenase-2 (COX-2) pode estar superexpressa em células tumorais e também pode promover o crescimento tumoral por estimular a angiogênese. Em tecidos com hiperexpressão de COX-2, há aumento das concentrações de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF) e o fator de crescimento transformante β (TGF- β). Recentes estudos também mostram que a COX tem um importante papel tanto na geração de células Treg quanto na regulação das suas funções efetoras (MAHIC et al., 2006; YAQUB et al., 2007).

O protocolo com quimioterapia metronômica utilizando a ciclofosfamida e os inibidores de COX-2, inibe tanto a angiogênese quanto a supressão de Treg. Assim, protocolos combinados de fármacos, como a ciclofosfamida e o piroxicam, trazem um efeito superior à utilização dos mesmos de forma isolada (ELMSLIE et al., 2008). O clorambucil administrado diariamente é uma opção terapêutica para os protocolos metronômicos (LEACH et al., 2011).

Um estudo comparou o tempo livre de doença de 30 cães tratados com quimioterapia metronômica, com 50 cães de um grupo controle, e o resultado foi significativamente favorável (ELMSLIE et al., 2008).

O tratamento padrão para prevenir a recorrência tumoral em cães com STM que tiveram ressecções incompletas é uma nova intervenção cirúrgica ou a radioterapia (MAULDIN, 1997; FORREST et al., 2000). Desta forma, a modalidade de tratamento da quimioterapia metronômica associada aos inibidores de COX-2 representa uma alternativa paliativa para os pacientes com STM, principalmente para os que têm potencial de recidiva local.

Um estudo retrospectivo analisou 50 cães que apresentavam STM macroscópicos tratados com radmetronômicaiação 5x6 Gy quando eram submetidos à quimioterapia metronômica ou somente recebiam o tratamento com radiação. A adição da quimioterapia metronômica aumentou a sobrevida absoluta (757 dias) quando comparada a dos animais que só receberam radiação (286 dias), mas não influenciou o tempo livre de doença (CANCEDDA et al., 2016).

2.7.4 Radioterapia

A radioterapia apresenta resultados promissores no tratamento dos STMe pode ser associado à cirurgia tanto nos casos em que a margem cirúrgica foi adequada, bem como nos casos em que a margem cirúrgica foi estreita ou comprometida. É também uma alternativa terapêutica para os tumores localizados em membros, na tentativa de evitar a amputação ou quando a mesma não é uma opção viável para o paciente, mas objetiva-se um controle tumoral. A exérese de neoplasmas localizados em membros seguida de radioterapia consiste em uma alternativa para a preservação do membro, independente da realização de um tratamento quimioterápico conjunto (LIPTAK e FORREST, 2007; SOYFER et al., 2010;).

Oncologistas humanos consideram que a taxa de controle local do neoplasma e as taxas de sobrevivência são semelhantes quando se comparamos resultados obtidos com técnicas cirúrgicas conservadoras, que envolvem procedimentos mais estéticos e que mantêm a função local, associadas à radioterapia, com os advindos de intervenções cirúrgicas mais extensas como única técnica terapêutica aplicada (SUIT e SPIRO, 1994; DIRIX et al., 1997; NGAN, 1997).

Outra indicação da radioterapia seria a sua utilização como modalidade única em pacientes em que a remoção cirúrgica não é uma prática possível ou sua aplicação no pré-operatório objetivando a redução do tamanho tumoral para favorecer a intervenção cirúrgica (SOYFER et al., 2010). Irradiação de tumores microscópicos após a incisão traz melhores resultados quando comparada à radiação de tumores macroscópicos (LIPTAK e FORREST, 2007; GAGNON et al., 2020).

A terapia de radiação corpórea estereotáxica consiste em uma modalidade de radioterapia que utiliza altas doses (>8 a 10Gy) de radiação aplicadas de forma direcionada às células tumorais, não excedendo cinco frações. A radiação é direcionada para o tumor poupando os tecidos locais, tendo o intuito de eliminar por completo as células neoplásicas através da apoptose de células endoteliais. A radioterapia fracionada aplicada após exérese cirúrgica teve uma efetividade superior à radiação estereotáxica, sendo que esta técnica pode ser indicada em casos na qual a intervenção cirúrgica não será aplicada (GAGNON et al., 2020).

O uso da radioterapia como uma modalidade de tratamento pré-operatório vem se tornando uma prática comum no meio da oncologia veterinária. A razão e vantagem dessa modalidade são atribuídas a uma melhor oxigenação tecidual prévia à cirurgia, uma vez que, após a mesma, a região a ser radiada pode sofrer maiores efeitos colaterais pela menor taxa de oxigenação tecidual local. Antes da cirurgia, o campo radiado é menor, já depois da cirurgia, toda a região deve ser radiada o que contribui para uma maior toxicidade; e por último a radioterapia reduz o número de células tumorais, o que favorece o ato cirúrgico e a obtenção de uma margem cirúrgica adequada (KALNICKI e BLOOMER, 1992; EILBER et al., 1995; CHENG et al., 1996; MOCELLIN et al., 2006).

Como desvantagem da radioterapia ser realizada previamente ao procedimento cirúrgico tem-se: a dificuldade de cicatrização pós-operatória da área radiada, extensas áreas de necrose que necessitam de debridamento do tecido desvitalizado e deiscência de pontos, o que pode resultar na necessidade de realização de técnicas reconstrutivas locais. Aguiar Junior e colaboradores (2009) realizaram um estudo com 43 pacientes humanos portadores de STM que foram tratados com radioterapia antes do procedimento cirúrgico, dos quais 41,8% tiveram complicações de cicatrização na ferida cirúrgica. Esse número é similar ao de outro estudo randomizado que apresentou uma taxa de complicações de cicatrização na área radiada previamente ao procedimento cirúrgico de 35% comparada a 17% de pacientes que receberam a radioterapia posteriormente ao procedimento cirúrgico (O'SULLIVAN et al., 2002; PISTERS et al., 2002; AGUIAR JUNIOR et al., 2009).

Há diversos protocolos que utilizam a radioterapia prévia ao tratamento cirúrgico associado à quimioterapia (radioquimioterapia), como por exemplo, a Doxorubicina. Com essa associação há melhores taxa de sucesso, entretanto também há maiores taxas de complicações pré-operatórias, que variam entre 26% à 30% (PISTERS, 1999; PISTERS et al., 2002; HOHENBERGER e WYSOCKI, 2008). A radioterapia tem uma ação de controle da doença local, não evitando a ocorrência de micrometástases; já a quimioterapia pode auxiliar tanto no controle local como a distância, devido ao seu efeito sistêmico (AGUIAR JUNIOR et al., 2009).

Recomenda-se, para os tumores que são completamente excisados, a colocação de grampos cirúrgicos radiopacos nas margens laterais, proximal e distal, já que os mesmos não comprometem o campo de radiação (McENTEE et al., 2004).

Normalmente indica-se iniciar a radioterapia pelo menos sete dias após a realização da cirurgia, a fim de se evitar complicações advindas da radiação, bem como deiscência e retardo cicatricial (STRANDER et al., 2003).

Os protocolos de radioterapia para tratar os pacientes com STM são distintos do tratamento de outros tipos tumorais, necessitando muitas vezes de doses de radiação mais altas. Os protocolos mais comumente instituídos são os de curso incompleto fracionado, com doses que variam de 3 à 4,2 Gy administradas ao longo de cinco dias seguidos ou às segundas, quartas e sextas feiras, totalizando de 42 à 63 Gy. A melhor fração ou dose total para os STMs caninos ainda não foi estabelecida, porém doses altas cumulativas acima de 50 Gy são recomendadas e parecem estar relacionadas com um melhor controle local da doença (FORREST et al., 2000; SOYFER et al., 2010).

Estudos realizados em pacientes que tiveram a cirurgia associada ao tratamento radioterápico mostraram que a utilização de altas doses de radiação, com 52 a 63 Gy, resultou em melhores taxas de controle local quando comparada a doses menores; resultados ainda mais promissores foram obtidos com doses ainda maiores, de 60-65 Gy (MAULDIN et al., 1993; SUIT, 1994; NGAN, 1997).

Nos casos em que o STM foi excisado de forma incompleta, a radioterapia mostrou ser uma técnica eficaz para o controle local da doença e prolongar o tempo de sobrevivência desses pacientes (MAULDIN et al., 1993; FORREST et al.,

2000). A associação de protocolos quimioterápicos a radioterapia não trouxe um aumento no tempo de progressão da doença, bem como da sobrevida geral (CROWNSHAW et al., 2020).

Outros trabalhos mostram uma satisfatória taxa de controle local quando a radioterapia é aplicada em ressecções incompletas. Foram realizadas avaliações microscópicas do local radiado, 80% a 95% tiveram o local livre de doença por um ano e 72% a 91% por dois anos, com uma expectativa da taxa de sobrevivência de três anos e cinco anos, respectivamente (FORREST et al., 2000; McKNIGHT et al., 2000).

Kung e colaboradores (2016) trataram 48 cães com ressecção incompleta de STM com frações 6-8 Gy/semana até uma dose total de 24 à 32 Gy. Dez animais (21%) apresentaram recorrência local, 11 (23%) desenvolveram metástases e três animais, recorrência e metástases. A probabilidade de ter o local sem células neoplásicas por um ano foi de 81%, e por três anos de 73%.

Radioterapia como modalidade única de tratamento utilizando doses de 50Gy pode resultar em taxas de controle local em 50% por um ano e 33% por dois anos (McCHESNEY et al., 1989). O tratamento com radioterapia como modalidade única para o controle local de tumores macroscópicos é mais limitada, geralmente resulta na redução parcial da formação ou estabilização da mesma (BANKS e MORRIS, 1975). A radioterapia como modalidade única normalmente confere uma melhora paliativa e não um tratamento definitivo dos STM (LIPTAK e FORREST, 2007).

Os efeitos colaterais mais comumente correlacionados com a radioterapia são: alopecia, ulceração, hiperpigmentação e hiperqueratose. Quanto maior for a dose de radiação, maiores são as chances de ocorrer efeitos adversos, que podem ser controlados normalmente com tratamento adequado.

2.7.5 Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia (EQT) é uma modalidade terapêutica na qual de forma sistêmica ou local é aplicado um agente quimioterápico, normalmente a bleomicina ou cisplatina. Na região onde se encontra a formação, com a utilização de um equipamento especializado, é aplicado um estímulo elétrico que forma pulsos elétricos de alta intensidade, mantendo a viabilidade celular; a intensidade do pulso, o número e a duração são variáveis e dependem do

caso em questão. Dessa forma, a célula sofre um mecanismo de eletroporação, tendo o diâmetro dos poros da membrana aumentados, permitindo assim que moléculas, que não tem ou que apresentam baixa permeabilidade pela membrana plasmática, entrem no meio intracelular. A EQT apresenta a vantagem de se tratar de um método pouco invasivo, ser facilmente aplicada, segura, ausente de toxicidade sistêmica e com baixo custo, quando comparada a técnicas como a radioterapia (BRUNNER, 2016; SPUGNINI et al., 2016; GEBOERS et al., 2020; LUZ et al., 2021).

Agentes citotóxicos são usados em combinação com a EQT. A bleomicina é aplicada tanto intratumoral quanto por via endovenosa, e cisplatina somente intratumoral (TORRIGIANI et al., 2019). A bleomicina é um antineoplásico da classe dos antibióticos, não permeável à membrana celular, sua ação deve-se à ligação do fármaco ao DNA da célula tumoral, produzindo quebras filamentosas simples e duplas, aberrações, gaps, fragmentação e translocação (FROUDARAKIS et al., 2013). Além disso, a bleomicina tem a ação de causar a morte específica de células endoteliais tumorais (MARKELC et al., 2013; LUZ et al., 2021). A cisplatina é bem tolerada e bons resultados têm sido alcançados em cães com STM de graus I e II (BERGMAN et al., 2016).

Trinta cães com excisões incompletas de STM receberam bleomicina por via endovenosa e cisplatina de forma intratumoral. Em seguida, foram aplicados pulsos elétricos de alta intensidade. Após duas semanas, uma segunda sessão foi realizada. O tratamento foi bem tolerado e os efeitos colaterais foram mínimos. Dos 30 animais, 26 não apresentaram recorrência e quatro sim; dentre estes últimos, um animal morreu devido a metástase em pulmão. O tempo médio sem doença foi de 857 dias (SPUGNINI et al., 2019).

Para o tratamento local de tumores sólidos, como os STM, a EQT é uma modalidade terapêutica indicada, podendo ser utilizada em associação com a cirurgia ou, em casos em que a margem cirúrgica tenha ficado comprometida, como modalidade única. Devido à alta incidência de STM localizados em membros, que constituem local complexo para a obtenção de margens cirúrgicas adequadas, a EQT pode favorecer o sucesso do tratamento. Em tumores que meçam 1-2 cm, a EQT pode ser utilizada como modalidade única, tendo resultados relativamente positivos (TORRIGIANI et al., 2019).

Spugnini e colaboradores (2007) relatam um trabalho realizado com 22 cães que apresentavam excisões incompletas de diversos tipos de sarcomas grau III. Bleomicina foi aplicada no leito da região tumoral, seguida da realização de pulsos elétricos bifásicos; a taxa de resposta foi de 95%, com uma média de 730 dias para a recorrência neoplásica.

O mesmo autor refere o caso de um cão com sarcoma de alto grau localizado em cotovelo, no qual foi feita a EQT com aplicação da bleomicina no local do tumor, previamente à cirurgia. Obteve-se um resultado satisfatório tendo uma redução significativa do tamanho da formação, o que favoreceu a sua excisão cirúrgica. Após a cirurgia, realizou-se uma nova sessão de EQT. No caso em questão, além do sucesso terapêutico o paciente teve o seu membro preservado (SPUGNINI et al., 2008).

Spugnini e Baldi (2019) consideram que a EQT está sendo cada vez mais utilizada na oncologia veterinária, tanto combinada à cirurgia quanto como tratamento paliativo ou curativo. Segundo os autores, essa ampla aceitação da EQT deve-se à sua eficácia e morbidade reduzida.

2.7.6 Imunoterapia

A imunoterapia consiste em uma modalidade de terapia antineoplásica muito promissora, e que vem agregando eficácia aos tratamentos convencionais. A utilização de imunoterapia atuando em fatores de crescimento angiogênicos e em receptores de angiogênese é uma opção para o controle do crescimento tumoral (KAMSTOCK et al., 2007).

Uma vacina xenogênica (recombinante humana) anti VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) foi utilizada em nove cães portadores de STM. A avaliação da eficácia e segurança sobre a angiogênese e o crescimento tumoral foi positiva, sendo que nenhum animal apresentou efeitos colaterais graves e 30% tiveram uma taxa de resposta, tendo remissão parcial da formação neoplásica. Três pacientes que receberam um maior número de aplicações da vacina apresentaram redução nas concentrações plasmáticas de VEGF e dois cães tiveram diminuição da microdensidade vascular tumoral. Os autores salientaram que o estudo em questão apresentou resultados promissores e que a imunoterapia pode ser uma modalidade de terapêutica coadjuvante no controle local dos cães com STM (KAMSTOCK et al., 2007).

2.8 FATORES PROGNÓSTICOS

A maioria dos STM tem bom prognóstico, porém devido ao comportamento biológico variável, fatores diversos podem influenciar o tratamento e sua taxa de sucesso. O tratamento cirúrgico com margens livres consiste no principal método de controle local, corroborando para um prognóstico favorável.

Vários estudos têm considerado o tipo histopatológico como um potencial fator prognóstico para os STM caninos, mas ainda não está estabelecida uma correlação da histogênese com a progressão da doença (DENNIS et al., 2011).

O subtipo histopatológico não é considerado um fator prognóstico para recorrência tumoral e risco de metástases; já a graduação e o índice mitótico são importantes fatores de avaliação preditiva e prognóstica dos pacientes com STM (KUNTZ et al., 1997).

Dentre os fatores relacionados ao prognóstico de recorrência local após excisão cirúrgica, dois trabalhos demonstram a correlação do índice mitótico e margem cirúrgica excisadas de forma livre; a presença de células neoplásicas é avaliada por análises histológicas (BOSTOCK e DYE, 1980; KUNTZ et al., 1997). Em relação ao prognóstico de sobrevida dos pacientes com STM, considera-se também o índice mitótico, conjuntamente com a graduação tumoral (ETTINGER et al., 2006).

Segundo McSporran (2009), dois fatores prognósticos foram identificados em um estudo realizado com 236 animais. A margem cirúrgica livre é um fator preditivo do tempo livre de doença e consiste no fator mais importante para recidiva tumoral, juntamente com a graduação histológica, corroborando os achados de outros estudos.

As taxas de recorrência local, após a realização do procedimento cirúrgico como única técnica local ou associada à radioterapia, variam entre 7% a 32% (BOSTOCK e DYE, 1980; POSTORINO et al., 1988; BAKER-GABB et al., 2003). Um estudo com 75 cães demonstrou que a taxa de recorrência local para ressecções tumorais incompletas é de 28% e 11 vezes maior se comparada à encontrada em tumores excisados com margens livres (KUNTZ et al., 1997). O tratamento relacionado a tumores recidivantes é geralmente

mais complexo e de pior prognóstico quando comparado ao tumor primário, acarretando maior morbidade, alta taxa de metástase e baixo tempo de sobrevida, enfatizando a indicação de uma abordagem mais invasiva na primeira intervenção (DERNELL et al., 1998; BAKER-GABB et al., 2003).

Devido às altas taxas de recidiva tumoral local, é recomendado o acompanhamento dos pacientes no período pós-operatório por um tempo prolongado. Esses cuidados são aplicados aos casos em que houve uma ressecção completa ou uma ressecção incompleta seguida de radioterapia adjuvante, onde a recidiva tumoral não está descartada. Dessa forma, sugere-se o seguimento dos pacientes em intervalos regulares, a reavaliação dos mesmos mensalmente pelos primeiros três meses após a intervenção cirúrgica, seguida de um intervalo de 3 meses pelos 12 meses subsequentes, e posteriormente a cada 6 meses (DERNELL et al., 1998). O tempo médio de recorrência é de 368 dias segundo estudo realizado com 75 cães, salientando a importância de haver seguimento por um longo período (KUNTZ et al., 1997).

O tamanho do tumor está relacionado ao controle local, por estar diretamente relacionado à capacidade de ressecção completa e risco de recidiva; ainda assim, diversos estudos não consideram o tamanho do tumor um fator prognóstico para recorrência local, sobrevida ou tempo livre de doença (BOSTOCK e DYE, 1980; McCHESNEY et al., 1989; BAKER-GABB et al., 2003; BANKS et al., 2004; BACON et al., 2007). Estudos descrevem que tumores mensurando $> 5,5$ cm ou ≥ 4 cm na sua maior dimensão sugerem um menor tempo de sobrevida e menor resposta terapêutica à radiação (McCHESNEY et al., 1992; KUNTZ et al., 1997).

A mobilidade do tumor é um indicativo de invasão nos tecidos adjacentes. A aderência local pode ser avaliada através da palpação durante o exame clínico, intervenção cirúrgica ou exames de imagem. Os STM são caracterizados pela alta infiltração local, o que pode tornar mais difícil a sua completa excisão e resultar em um pior prognóstico (POSTORINO et al., 1988; STEFANELLO et al., 2008).

A taxa de metástase nos STM é baixa, sendo referida em aproximadamente 17% dos casos. Dentre as causas que aumentam o risco metastático estão o grau histopatológico, o número de figuras de mitose, a porcentagem de necrose tumoral e a localização do tumor, bem como a

integridade da margem cirúrgica que está diretamente relacionada à recidiva local. A taxa de metástase para cães com STM grau I e II é menor que 15%, comparada a de 41% a 44% para o grau III (KUNTZ et al., 1997; LIPTAK e FORREST, 2007; CHASE et al., 2009).

Villedieu e colaboradores (2021) realizaram uma ampla análise envolvendo 146 cães com STM, utilizando tomografia computadorizada e radiografia. Em 137 animais, foram encontrados nódulos pulmonares sugestivos de metástases, em maior frequência nos de grau III e duração acima de três meses. Nos nove restantes, os exames de imagem não foram conclusivos.

Os tumores de Grau I apresentam baixos índices de recidiva após a excisão cirúrgica; entretanto, é referida uma taxa de recorrência de 7% quando as margens estão exíguas, mesmo nos tumores dessa classificação. As taxas de metástase são raras, sendo os sítios mais comuns os campos pulmonares e linfonodos satélites (STEFANELLO et al., 2008; McSPORRAN, 2009).

Os tumores de Grau II ocorrem com uma frequência intermediária. Quando excisados completamente, as taxas de recorrência são baixas, diante de margens exíguas que apresentam taxas de recorrência maior quando comparados aos tumores de Grau I. O tempo de intervalo livre de doença também é menor se comparados aos tumores de Grau I (McCHESNEY et al., 1992; ETTINGER et al., 2006; McSPORRAN, 2009)..

Os tumores de Grau III são os menos frequentes, correspondendo de 7 a 17% de todos os STM que acometem a epiderme e derme dos cães, tendo um alto potencial de recorrência e metástase (McCHESNEY et al., 1992; ETTINGER et al., 2006; McSPORRAN, 2009). Nos casos em que as margens foram amplas e encontravam-se livres de células tumorais houve, ainda que baixa, uma porcentagem de recorrência local (BANKS et al., 2004; SELTING et al., 2005; McSPORRAN, 2009). STM grau III com margens exíguas têm uma taxa de recorrência maior quando comparados aos tumores de Grau I e II, sendo 3 de 4 (41%) (McSPORRAN, 2009) e há um consenso de que é mais complexa uma excisão completa dos tumores de Grau III quando comparada à dos tumores das outras graduações (ETTINGER et al., 2006).

Ainda não há um consenso referente ao grau dos STM e sua relação com o tempo de sobrevida; alguns trabalhos consideram que exista essa correlação

(KUNTZ et al., 1997), e outros não (McKNIGHT et al., 2000; ETTINGER et al., 2006; McSPORRAN, 2009). O grau de diferenciação do tumor é o fator prognóstico mais relevante, estando diretamente relacionado com a recidiva local e a taxa de metástase em cães com STM (ETTINGER et al., 2006; McSPORRAN, 2009).

Segundo Simon e colaboradores (2007), a graduação histológica de 25 STM derivados de pacientes humanos teve uma concordância de 75%, entre 15 diferentes patologistas. Entretanto, o mesmo não ocorreu com a avaliação histogênica de STM caninos. Algumas diretrizes são propostas por Trojani e colaboradores (1984) com o intuito de melhorar os critérios de avaliação entre os patologistas, as quais foram baseadas na prática dos autores e no sistema de graduação usado para pacientes humanos (Quadro 5).

Quadro 5 – Critérios de avaliação histológicas dos STM

Avaliar um segmento tumoral de 2 cm de diâmetro, as áreas utilizadas para a graduação tumoral devem ser bem fixadas e não devem contemplar áreas com inflamação ou hemorragia.

Áreas de necrose devem ser marcadas pelos corantes mucina e hialina e diferenciadas de áreas hemorrágicas ou associadas a trauma causado pela cirurgia ou biópsia.

A histogênese e a classificação da diferenciação tecidual é baseada na avaliação da arquitetura tecidual e na graduação tumoral não devem ser considerados os tumores de origem histogênica incerta

Fonte: Trojani et al. (1984)

O índice mitótico (IM) fornece informações relevantes independente do grau, sendo que os STM são divididos em três escores: score 1, quando há de 0 a 9 figuras de mitose em 10 campos de maior aumento [400 x]); score 2, quando há de 10 a 19 figuras de mitose em 10 campos de maior aumento [400 x]), e score 3, quando há um número igual ou maior do que 20 figuras de mitose em 10 campos de maior aumento [400 x]). O alto IM está associado às recidiva, metástase e diminuição do tempo de sobrevivência. Em relação ao tempo

de sobrevida, este é 150 a 343 dias para $IM \geq 9$, já para $IM < 9$ o tempo médio de sobrevida é de 826 a 1.138 dias (BOSTOCK e Dye, 1980; SIMON et al., 2007).

Kuntz e colaboradores (1997) avaliaram que o tempo médio de sobrevida era de 236 dias para $IM > 20$, de 532 dias para IM entre 10 e 19, e de 1.444 dias para $IM < 10$. Esses autores também afirmam que a ocorrência de metástase é 5 vezes mais frequente em tumores que tenham índice mitótico igual ou maior que 20 figuras de mitose em 10 campos de grande aumento (400x). Em relação à taxa de óbito, esta é 2,6 vezes mais alta em casos com $IM > 20$ quando comparados aos casos com $IM < 20$.

O tempo de sobrevida para pacientes com STM é em média de 1.416 dias quando submetidos à intervenção cirúrgica e de 2.270 para os pacientes tratados com cirurgia e radioterapia. No geral, 33% dos cães morrem de causas relacionadas ao tumor, sendo 2,8 vezes maior em formações que tem 10% de áreas de necrose e 2,6% quando o índice mitótico é maior que 20 [400x] (KUNTZ et al., 1997).

3.REFERÊNCIAS

ABRAMS, B.E.; PUTTERMAN, A.B.; RUPLE, A.; WAVREILLE, V.; SELMIC, L.E. Variability in tumor margin reporting for soft tissue sarcoma and cutaneous mast cell tumors in dogs: A systematic review. **Veterinary Surgery**, v. 50, n. 2, p. 259-272, 2021.

AGUIAR JUNIOR, S.; FERREIRA, F.O.; ROSSI, B.M.; SANTOS, E.M.M.; SALVAJOLI, J.V.; LOPES, A. Neoadjuvant chemoradiation therapy for soft tissue sarcomas of the extremities. **Clinics**, v. 64, n. 11, p. 1059-1064, 2009.

AVALLONE, G.; HELMBOLD, P.; CANIATTI, M.; STEFANELLO, D.; NAYAK, R.C.; ROCCABIANCA, P. The spectrum of canine cutaneous perivascular wall tumors: Morphologic, phenotypic, and clinical characterization. **Veterinary Pathology**, v. 44, p.607-620, 2007.

AVALLONE, G.; BORACCHI, P.; STEFANELLO, D.; FERRARI, R.; REBUGHINI, A.; ROCCABIANCA, P. Canine perivascular wall tumors: high prognostic impact of site, depth, and completeness of margins. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 4, p. 713-721, 2014.

AVALLONE, G.; STEFANELLO, D.; FERRARI, R.; ROCCABIANCA, P. The controversial histologic classification of canine subcutaneous whorling tumours:

The path to perivascular wall tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.18, n. 1, p. 3-8, 2020.

BACON, N.J.; DERNELL, W.S.; EHRHART, N.; POWERS, B.E.; WITHROW, S.J. Evaluation of primary re-excision after recent inadequate resection of soft tissue sarcomas in dogs: 41 cases (1999-2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 4, p. 548-554, 2007.

BAECHER-ALLAN, C.; ANDERSON, D.E. Regulatory cells and human cancer. **Seminars in Cancer Biology**, v. 16, n. 2, p. 98-105, 2006.

BAKER-GABB, M.; HUNT, G.B.; FRANCE, M.P. Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs: clinical behaviour and response to surgery. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. 12, p. 732-738, 2003.

BALL, A.; FISHER, C.; PITTAM, M. *et al.* Diagnosis of soft tissue tumours by Tru-Cut biopsy. **British Journal of Surgery**, v. 77, n. 7, p. 756-758, 1990.

BANKS, W.C.; MORRIS, E. Results of radiation treatment of naturally occurring animal tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 166, p. 1063-1064, 1975.

BANKS, T.; STRAW, R.; THOMSON, M.; POWERS, B. Soft tissue sarcomas in dogs: a study assessing surgical margin, tumor grade and clinical outcome. **Australian Veterinary Practice**, v. 34, n. 4, p. 142-147, 2004.

BERGMAN, N.S.; URIE, B.K.; PARDO, A.D.; NEWMAN, R.G. Evaluation of local toxic effects and outcomes for dogs undergoing marginal tumor excision with intralesional cisplatin-impregnated bead placement for treatment of soft tissue sarcomas: 62 cases (2009-2012). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 248, n. 10, p. 1148-1156, 2016.

BOCCI, G.; FRANZIA, G.; MAN, S. *et al.* Thrombospondin I, a mediator of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.100, p. 12917-12922, 2003.

BOSTOCK, D.E.; DYE, M.T. Prognosis after surgical excision of canine fibrous connective tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 17, n. 5, p. 581-588, 1980.

BOVÈE, J.V.M.; HOGENDOORN, P.C.W. Molecular pathology of sarcomas: concepts and clinical implications. **Virchows Archiv**, v.456, n. 2, p. 193-199, 2010.

BRAY, J.P. Soft tissue sarcoma in the dog – part 1: a current review. **Journal of Small Animal Practice**, v.57, n.10, p.510-519, 2016.

BRAY, J.P. Soft tissue sarcoma in the dog – part 2: surgical margins, controversies and a comparative review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 58, n. 2, p. 63-72, 2017.

BRAY, J.P.; POLTON, G.A.; McSPORRAN, K.D.; BRIDGES, J.; WHITBREAD, T.M. Canine soft tissue sarcoma managed in first opinion practice: outcome in 350 cases. **Veterinary Surgery**, v. 43, p.1-9, 2014.

BRONDEN, L.B.; ERIKSEN, T.; KRISTENSEN, A.T. Mast cell tumors and other skin neoplasia in Danish dogs – data from the Danish Veterinary Cancer Registry. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n.6, 2010. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-6>

BRUNNER, C.H.M. Eletroquimioterapia. *In*: DALECK, C.R.; DENARDI, A.B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed., cp. 18. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 249-259.

BURTON, J.H.; MITCHELL, L.; THAMM, D.H.; DOW, S.W.; BILLER, B.J. Low-dose cyclophosphamide selectively decreases regulatory T cells and inhibits angiogenesis in dogs with soft tissue sarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 920-926, 2011.

CANCEDDA, S.; MARCONATO, L.; MEIER, V.; LAGANGA, P.; ROOS, M.; LEONE, V.F.; ROSSI, F.; BLEY, C.R. Hypofractionated radiotherapy for macroscopic canine soft tissue sarcoma: A retrospective study of 50 cases treated with a 5 x 6 Gy protocol with or without metronomic chemotherapy. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v. 57, n. 1, p. 75-83, 2016.

CANIATTI, M.; GHISLENI, G.; CERUTI, R. *et al.* Cytological features of canine hemangiopericytoma in fine needle aspiration biopsy. **Veterinary Record**, v. 149, p. 242-244, 2001.

CHASE, D.; BRAY, J.; IDE, A.; POLTON, G.A. Outcome following removal of canine spindle cell tumours in first opinion practice: 140 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 11, p. 568-574, 2009.

CHEN, Y.; HAO, J.; YANG, Y. *et al.* Tumor rupture predicts early metastasis and poor prognosis in Stage III soft tissue sarcomas. **World Journal of Surgery**, v.35, p. 1002-1009, 2011.

CHENG, E.Y.; DUSENBERY, K.E.; WINTERS, M.R. *et al.* Soft tissue sarcomas: preoperative versus postoperative radiotherapy. **Journal Surgery Oncology**, v. 61, p. 90-99, 1996.

COHEN, M.; BOHLING, M.W.; WRIGHT, J.C. *et al.* Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, p.964-967, 2003.

COINDRE, J-M. Grading of soft tissue sarcomas: review and update. **Archives of Pathology Laboratory Medicine**, v. 130, p. 1448-1453, 2006.

CORMIER, J.N.; POLLOCK, R. Soft Tissue Sarcoma. **Ca-A Cancer Journal for Clinicians**, v.54, n. 2, p. 94-109, 2004.

CROWNSHAW, A. H.; McENTEE, M.C.; NOLAN, M.W.; GIEGER, T.L. Evaluation of variables associated with outcomes in 41 dogs with incompletely excised high-grade soft tissue sarcomas treated with definitive-intent radiation therapy with or without chemotherapy. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n. 7, p. 783-791, 2020.

DENNIS, M.M.; MCSPORRAN, K.D.; BACON, N.J.; SCHULMAN, F.Y.; FOSTER, R.A.; POWERS, B.E. Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 73-84, 2011.

DERNELL, W.S.; WITHROW, S.J.; KUNTZ, C.A.; POWERS, B.E. Principles of treatment for soft tissue sarcoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 13, n. 1, p. 59-64, 1998.

DIRIX, L.Y.; VERMEULEN, P.; DE WEVER, I.; van OSTEROM, A.T. Soft tissue sarcoma in adults. **Current Opinion in Oncology**, v. 9, n.4, p. 348-359, 1997.

DOBSON, J.M.; SAMUEL, S.; MILSTEIN, H.; ROGERS, K.; WOOD, J.L. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, p.240-246, 2002.

DORNBUSCH, J.A.; SEMIC, L.E.; HUANG, P-C; SAMUELSON, J.P.; McLAUGHLIN, E.M.; WAVREILLE, V.A.; OGDEN, J.A.; ABRAMS, B. *et al.* Diagnostic accuracy of optical coherence tomography for assessing surgical margins of canine soft tissue sarcomas in observers of different specialties. **Veterinary Surgery**, v. 50. n. 1, p. 111-120, 2021.

DUART-CLEMENTE, J.; SAN-JULIÁN, M.; MARTÍNEZ-MONGE, R.; MARTÍN-ALGARRA, S. Soft tissue sarcoma: can a rescue procedure be performed when the first surgery was unsuccessful? **Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología**, v. 52, n. 1, p.21-26, 2008.

EHRHART, N. Principles of tumor biopsy. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 13, p. 10-16, 1998.

EHRHART, N. Soft-tissue sarcomas in dogs: a review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n.4, p. 241-246, 2005.

EHRHART, N.P.; WITHROW, S.J. Biopsy principles. *In*: Eds WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4.ed. Saint Louis: Elsevier Saunders, 2007. p. 147-153.

EILBER, F.C.; ECKARD, J.; ROSEN, G.; FORSCHER, C.; SELCH, M.; FU, Y.S. Preoperative therapy for soft tissue sarcoma. **Hematol Oncology Clinics of North America**, v. 9, p. 817-823, 1995.

EILBER, F.C.; ROSEN, G.; NELSON, S.D.; SELCH, M.; DOREY, F.; ECKARD, E.J.; EILBER, F.R. High-grade extremity soft tissue sarcomas: factors predictive

of local recurrence and its effect on morbidity and mortality. **Annals of Surgery**, v. 237, n. 2, p. 218-226, 2003.

ELMSLIE, R.E.; GLAWE, P.; DOW, S.W. Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p.1373-1379, 2008.

ENNEKING, W.F.; SPANIER, S.S.; GOODMAN, M.A. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 153, p.106-120, 1980.

ETTINGER, S.N. Principles of treatment for soft-tissue sarcomas in the dog. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 118-122, 2003.

ETTINGER, S.N.; SCASE, T.J.; OBERTHALER, K.T.; CRAFT, D.M.; MCKNIGHT, J.A.; LEIBMAN, N.F.; CHARNEY, S.C.; BERGMAN, P.J. Association of argyrophilic nucleolar organizing regions, Ki-67, and proliferating cell nuclear antigen scores with histologic grade and survival in dogs with soft tissue sarcomas: 60 cases (1996-2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.228, n. 7, p. 1053-1062, 2006.

FORREST, L.J.; CHUN, R.; ADAMS, W.M.; COOLEY, A.J., VAIL, D.M. Postoperative radiotherapy for canine soft tissue sarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 578-582, 2000.

FROUDARAKIS, M.; HATZIMICHAEL, E.; KYRIAZOPOULOU, L. *et al.* Revisiting bleomycin from pathophysiology to safe clinical use. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 87, n. 1, p. 90-100, 2013.

GAGNON, J.; MAYER, M.N.; BELOSOWSKY, T.; MAULDIN, G.N.; WALDNER, C.L. Stereotactic body radiation therapy for treatment of soft tissue sarcomas in 35 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n.1, p.102-110, 2020.

GAITERO, L.; ANOR, S.; FONDEVILA, D.; PUMAROLA, M. Canine cutaneous spindle cell tumors with features of peripheral nerve sheath tumours: a histopathological and immunohistochemical study. **Journal Comparative Pathology**, v. 139, p. 16-23, 2008.

GALLIMORE, A.M.; SIMON, A.K. Positive and negative influences of regulatory T cells on tumour immunity. **Oncogene**, v. 27, p. 5886-5893, 2008.

GEBOERS, B.; SCHEFFER, H. J.; GRAYBILL, P.M.; RUARUS, A.H.; NIEUWENHUIZEN, S.; PUIJK, R.S.; van den TOL, P.M.; DAVALOS, R.V.; RUBINSKY, B. *et al.* **Radiology**, v. 295, n. 2, p. 254-272, 2020.

GITELIS, S.; THOMAS, R.; TEMPLETON, A.*et al.* Characterization of the pseudocapsule of soft-tissue sarcomas. An experimental study in rats. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 246, p. 285-292, 1989.

GOLDSCHMIDT, M.H.; HENDRICK, M.J. Tumours of the skin and soft tissues. In: Meuten DJ, ed. **Tumors in Domestic Animals**. 4.ed. Ames: Iowa State Press, 2002. p.45-99.

GUSTAFSON, P.; AKERMAN, M.; ALVEGARD, T.A.*et al.* Prognostic information in soft tissue sarcoma using tumour size, vascular invasion and microscopic tumour necrosis-the SIN-system. **European Journal of Cancer**, v. 39, p. 1568-1576, 2003.

HANAHAN, D.; BERGERS, G.; BERGSLAND, E. Less is more, regularly: Metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice. **Journal Clinical Investigation**, v. 105, p. 1045-1047, 2000.

HARDY, W.D. The etiology of canine and feline tumors. **Journal of the American Animals Hospital Association**, v. 12, p. 313-334, 1976.

HARNESS, J.K.; GIULIANO, A.E.; POCKAJ, B.A.*et al.* Margins: a status report from the Annual Meeting of the American Society of Breast Surgeons. **Annals of Surgical Oncology**, v. 21, n. 10, p. 3192-3197, 2014.

HAVLICEK, M.; STRAW, R.S.; LANGOVA, V.; DERNELL, W.S. Intra-operative cisplatin for the treatment of canine extremity soft tissue sarcomas. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 2, p. 122-129, 2009.

HESLIN, M.J.; LEWIS, J.J.; WOODRUFF, J.M. *et al.* Core needle biopsy for diagnosis of extremity soft tissue sarcoma. **Annals of Surgical Oncology**, v. 4, p. 425-431, 1997.

HOHENBERGER, P.; WYSOCKI, W.M. Neoadjuvant treatment of locally advanced soft tissue sarcoma of the limbs: which treatment to choose? **The Oncologist**, v. 13, p. 175-186, 2008.

HOHENHAUS, A.E.; KELSEY, J.L.; HADDAD, J.; BARBER, L.; PALMISANO, M.; FARRELLY, J.; SOUCY, A. Canine cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcoma: an evidence-based review of case management. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 52, n. 2, p. 77-87, 2016.

JARK, P.C.; REIS FILHO, N. P.; FERREIRA, M.G.P.A.; RAMOS, C.S.; PASCOLI, A.L.C.R. Sarcomas de Tecidos Moles Cutâneos e Subcutâneos em Cães. In: Eds DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 517-529.

KALNICKI, S.; BLOOMER, W. Radiation therapy in the treatment of bone and soft tissue sarcomas. **Orthopaedic Clinics of North America**, v. 20, n. 3, p. 505-512, 1989.

KAMAT, A.A.; KIM, T.J.; LANDEN, C.N.JR.*et al.* Metronomic chemotherapy enhances the efficacy of antivasular therapy in ovarian cancer.**Cancer Research**, v. 67, p. 281-288, 2007.

KAMSTOCK, D.A.; ELMSLIE, R.; THAMM,D.*et al.* Evaluation of a xenogeneic VEGF vaccine in dogs with soft tissue sarcoma.**Cancer Immunology Immunotherapy**, v. 56, p. 1299-1309, 2007.

KAMSTOCK, D.A.; EHRHART, E.J.; GETZY, D.M. *et al.* Recommended guidelines for submission, trimming, margin evaluation and reporting of tumor biopsy specimens in veterinary surgical pathology. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 19-31, 2011.

KAPATKIN, A.S.; MULLEN, H.S.; MATTHIESEN, D.T*et al.* Leiomyosarcoma in dogs: 44cases (1983-1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 1077-1079, 1992.

KOK, M.K.; CHAMBERS, J.K.; TSUBOI, M.; NISHIMURA, R.; TSUJIMOTO, H.; UCHIDA, K.; NAKAYAMA, H. Retrospective study of canine cutaneous tumors in Japan, 2008-2017. **Journal Veterinary Medical Science**, v. 81, n. 8, p. 1133-1143, 2019.

KUNG, M.B.J.; POIRIER, V.J.; DENNIS, M.M.; VAIL, D.M.; STRAW, R.C. Hypofractionated radiation therapy for the treatment og microscopic canine soft tissue sarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, n. 4, p. 135-145, 2016.

KUNTZ, C.A.; DERNELL, W.S.; POWERS, B.E.; DEVITT, C.; STRAW, R.C.; WITHROW, S.E. Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**,v. 211, n. 9, p. 1147-1151, 1997.

LEACH, T.N.; CHILDRESS, M.O.; GREENE, S.N.*et al.* Prospective trial of metronomic chlorambucil chemotherapy with naturally occurring cancer. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, p. 102-112, 2011.

LINDEN, D.; LIPTAK, J.M.; VINAYAK, A.; GRIMES, J.A.; SANDEY, M.; SMILEY, W.; MATZ, B.M. Outcomes and prognostic variables associated with primary abdominal visceral soft tissue sarcomas in dogs: A Veterinary Society of Surgical Oncology retrospective study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 3, p. 265-270, 2019.

LIPTAK, J.M.; FORREST, L.J. Soft Tissue Sarcomas. *In*: Eds WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. **Withrow &MacEwen`s Small Animal Clinical Oncology**. 4.ed. Saint Louis: Elsevier Saunders, 2007. p. 425-454.

LIPTAK, J.M.; FORREST, L.J. Soft Tissue Sarcomas. *In*: Eds WITHROW, S.J., VAIL, D.M.; PAGE, R.L.**Withrow &MacEwen`s Small Animal Clinical Oncology**.5.ed., cp.21. Saint Louis: Elsevier Saunders,2013. p. 356-380.

LIU, Q.Y.; LI, H.G.; CHEN, J.Y. *et al.* Correlation of MRI features to histopathologic grade of soft tissue sarcoma. **Ai Zheng**, v. 27, p. 856-860, 2008.

LIVACCARI, A.M.; SELMIC, L.E.; REAGAN, J.K.; DRISKELL, E.A.; CRAY, M.T.; LAMOUREUX, L.M.; GARRETT, L.D. Evaluation of information presented within soft tissue sarcoma histopathology reports in the United States: 2012-2015. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 4, p. 424-430, 2018.

LOH, Z.H.K.; ALLAN, G.S.; NICOLL, R.G.; HUNT, G.B. Ultrasonographic characteristics of soft tissue tumours in dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, n. 8, p. 323-329, 2009.

LUZ, J.C.S.; ANTUNES, F.; CLAVIJO-SALOMON, M.A.; SIGNORI, E.; TESSAROLLO, N.G.; STRAUSS, B.E. Clinical applications and immunological aspects of electroporation-based therapies. **Vaccines**, v. 9, n. 7, p. 727, 2021.

MacEWEN, E.G.; POWERS, B.E.; MACY, D. *et al.* Soft tissue sarcomas. *In*: Eds WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 3.ed., Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 283-304.

MAHIC, M.; YAQUB, S.; JOHANSSON, C.C. *et al.* FOXP3+CD4+CD25+ adaptive regulatory T cells express cyclooxygenase-2 and E2-dependent mechanism. **Journal of Immunology**, v. 177, p. 246-254, 2006.

MARCONATO, L.; COMASTRI, S.; LORENZO, M.R. *et al.* Post-surgical intra-incisional 5-fluorouracil in dogs with incompletely resected, extremity malignant spindle cell tumours: a pilot study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 5, p. 239-249, 2007.

MARKELC, B.; SERSA, G.; CEMAZAR, M. Differential mechanisms associated with vascular disrupting action of electrochemotherapy: intravital microscopy on the level of single normal and tumor blood vessels. **PLoS One**. 2013;8(3):c59557. <https://doi.org/10.1371/journal.ponc.0059557>.

MAULDIN, G.N. Soft tissue sarcomas. **Veterinary Clinical North Small Animal Practice**, v.27, n. 1, p. 139-148, 1997.

MAULDIN, G.N.; MELEO, K.A.; BURK, R.L. Radiation therapy for the treatment of incompletely resected soft tissue sarcomas in dogs: 21 cases. **Proceedings of the Veterinary Cancer Society**, v. 13, p.111, 1993.

McCHESNEY, S.L.; WITHROW, S.J.; GILLETTE, E.L.; POWERS, B.E.; DEWHIRST, M.W. Radiotherapy of soft tissue sarcomas in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 1, p. 60-63, 1989.

McCHESNEY, S.L.; GILLETTE, E.L.; DEWHIRST, M.W. *et al.* Response of canine soft tissue sarcomas to radiation or radiation plus hyperthermia: a randomized phase II study. **Internal Journal of Hyperthermia**, v. 8, p.309-320, 1992.

McENTEE, M.C.; SAMII, V.F.; WALSH, P. *et al.* Postoperative assessment of surgical clip position in 16 dogs with cancer: a pilot study. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, p. 300-308, 2004.

McKNIGHT, J.A.; MAULDIN, G.N.; McENTEE, M.C. *et al.* Radiation treatment for incompletely resected soft-tissue sarcomas in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 2, p. 205-210, 2000.

McSPORRAN, K.D. Histologic grade predicts recurrence for marginally excised canine subcutaneous soft tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 5, p. 928-933, 2009.

MESA, K.J.; SELMIC, L.E.; PANDE, P.; MONROY, G.L.; REAGAN, J.; SAMUELSON, J.; DRISKELL, E.; LI, J.; MARJANOVIC, M.; CHANEY, E.J.; BOPPART, S.A. Intraoperative optical coherence tomography for soft tissue sarcoma differentiation and margin identification. **Lasers in Surgery and Medicine**, p.1-9, 2017.

MILLANTA, F.; ASPRONI, P.; AQUINO, G.; POLI, A. Cytologic grading of canine and feline spindle-cell sarcomas of soft tissues and its correlation with histologic grading. **Topics in Companion Animal Medicine** 2020 Nov;41:100458.doi: 10.1016/j.tcam.2020.100458.

MILOVANCEV, M.; TUOHY, J.L.; TOWNSEND, K.L.; IRVIN, V.L. Influence of surgical margin completeness on risk of local tumor recurrence in canine cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcoma: a systematic review and meta-analysis. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, p.354-364, 2019.

MILOVANCEV, M.; TOWNSEND, K.L.; TUOHY, J.L.; GORMAN, E.; BRACHA, S.; CURRAN, K.M.; RUSSEL, D.S. Long-term outcomes of dogs undergoing surgical resection of mast cell tumors and soft tissue sarcomas: A prospective 2-year-long study. **Veterinary Surgery**, v. 49, n. 1, p. 96-105, 2020.

MOCELLIN, S.; ROSSI, C.R.; BRANDES, A.; NITTI, D. Adult soft tissue sarcoma: conventional therapies and molecularly targeted approaches. **Cancer Treatment Reviews**, v. 32, p. 9-27, 2006.

NGAN, S.Y. Radiotherapy in soft tissue sarcomas of the extremities. **Acta Orthopaedica Scandinavica Suppl**, v. 273, p.112-116, 1997.

OGILVIE, G.K.; OBRADOVICH, J.E.; ELMSLIE, R.E. *et al.* Efficacy of mitoxantrone against various neoplasms in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 9, p. 1618-1621, 1991.

OGILVIE, G.K.; POWERS, B.E.; MALLINCKRODT, C.H. *et al.* Surgery and doxorubicin in dogs with hemangiosarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 6, p. 379-384, 1996.

OGILVIE, G.K.; REYNOLDS, H.A.; RICHARDSON, R.C. *et al.* Phase II evaluation of doxorubicin for treatment of various canine neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 11, p. 1580-1583, 1989.

O'SULLIVAN, B.; DAVIS, A.M.; TURCOTTE, R. *et al.* Preoperative versus postoperative radiotherapy in soft-tissue sarcoma of the limbs: a randomised trial. **Lancet**, v. 359, p. 2235-2241, 2002.

OWEN, L.N. **TNM Classification of Tumours in Domestic Animals**. 1. ed. Geneva: World Health Organization, 1980. 53p.

PERRY, J.A.; CULP, W.T.; DAILEY, D.D.; EICKHOFF, J.C.; KAMSTOCK, D.A.; THAMM, D.H. Diagnostic accuracy of pre-treatment biopsy for grading soft tissue sarcomas in dogs. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.12, n. 2, p. 106-113, 2014.

PERVAIZ, N.; COLTERJOHN, N.; FARROKHYAR, F. *et al.* A systematic meta-analysis of randomized controlled trials of adjuvant chemotherapy for localized resectable soft-tissue sarcoma. **Cancer**, v. 113, p. 573-581, 2008.

PINSON, D.M. Low grade spindle cell tumor. **Veterinary Medicine**, v.93, p. 27-28, 1998.

PISTERS, P.W.T. Chemoradiation treatment strategies for localized sarcoma: conventional and investigational approaches. **Semin Surgery Oncology**, v. 17, p. 66-71, 1999.

PISTERS, P.W.T.; BALLO, M.T.; PATEL, S.R. Preoperative chemoradiation treatment strategies for localized sarcoma. **Annals of Surgical Oncology**, v. 9, p. 535-542, 2002.

POSTORINO, N.C.; BERG, R.J.; POWERS, B.E. *et al.* Prognostic variables for canine hemangiopericytoma: 50 (1979-1984). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 24, p. 501-509, 1988.

POWERS, B.E.; HOOPES, P.J.; EHRHART, E.J. Tumor diagnosis, grading and staging. **Semin Veterinary Medicine Surgery**, v.10, p.158-167, 1995.

QURESHI, Y.A.; HUDDY, J.R.; MILLER, J.D. *et al.* Unplanned excision of soft tissue sarcoma results in increase rates of local recurrence despite full further oncological treatment. **Annals of Surgical Oncology**, v. 19, p. 871-877, 2012.

SELMIC, L.E.; SAMUELSON, J.; REAGAN, J.K.; MESA, K.J.; DRISKELL, E.; LI, J.; MARJANOVIC, M.; BOPPART, S.A. Intra-operative imaging of surgical margins of canine soft-tissue sarcoma using optical coherence tomography. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.17, n. 1, p. 80-88, 2019.

SELTING, K.A.; POWERS, B.E.; THOMPSON, L.J.; MITTLEMAN, E.; TYLER, J.W.; LAFFERTY, M.H.; WITHROW, S.J. Outcome of dogs with high-grade soft

tissue sarcomas treated with and without adjuvant doxorubicin chemotherapy: 39 cases (1996-2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 9, p. 1442-1448, 2005.

SIMEONOV, R.; ANANIEV, J.; GULUBOVA, M. Quantitative morphology in canine cutaneous soft tissue sarcomas. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 4, p. 481-484, 2014.

SIMON, D.; RUSLANDER, D.M.; RASSNICK, K.M. *et al.* Orthovoltage radiation and weekly low dose of doxorubicin for the treatment of incompletely excised soft-tissue sarcomas in 39 dogs. **Veterinary Record**, v. 160, n. 10, p. 321-326, 2007.

SINIBALDI, K.; ROSEN, H.; LIU, S.K. Tumors associated with metallic implants in animals. **Clinical Orthopaedics**, v. 118, p. 257-266, 1976.

SIRRI, R.; SABATTINI, S.; BETTINI, G.; MANDRIOLI, L. Reclassification of 21 presumptive canine peripheral nerve sheath tumors (PNST) using a literature based immunohistochemical panel. **Acta Veterinaria**, v.66, n.4, p. 455-465, 2016.

SKORUPSKI, K.A.; CLIFFORD, C.A.; PAOLONI, M.C. *et al.* CCNU for the treatment of dogs with histiocytic sarcoma. **Journal of the Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 121-126, 2007.

SOYFER, V.; CORN, B.W.; KOLLENDER, Y.; TEMPELHOFF, H.; MELLER, I.; MERIMSKY, O. Radiation therapy for palliation of sarcoma metastases: a unique and uniform hypofractionation experience. **Sarcoma**, p. 1-4, 2010.

SPANGLER, W.L.; KASS, P.H. Splenic myeloid metaplasia, histiocytosis and hypersplenism in the dog (65 cases). **Veterinary Pathology**, v. 36, p. 583-593, 1999.

SPUGNINI, E.P.; BALDI, A. Electrochemotherapy in veterinary oncology: State-of-the-art and perspectives. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practice**, v. 49, n. 5, p. 967-979, 2019.

SPUGNINI, E.P.; VINCENZI, B.; AMADIO, B.; BALDI, A. Adjuvant electrochemotherapy with bleomycin and cisplatin combination for canine soft tissue sarcomas: A study of 30 cases. **Open Veterinary Journal**, v. 9, n. 1, p. 88-93, 2019.

SPUGNINI, E.P.; AZARITO, T.; FAIS, S.; FANCIULLI, M.; BALDI, A. Electrochemotherapy as first line cancer treatment: Experiences from veterinary medicine in developing novel protocols. **Current Cancer Drug Targets**, v. 16, n. 1, p. 43-52, 2016.

SPUGNINI, E.P.; VINCENZI, B.; CITRO, G. *et al.* Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely excised spontaneous canine sarcomas. **In Vivo (Brooklyn)**, v.21, n. 5, p.819-822, 2007.

SPUGNINI, E.P.; VINCENZI, B.; BETTI, G.; CORDAHI, F.; DOTSINSKY, I.; MUDROV, N.; CITRO, G.; BALDI, A. Surgery and eletrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. **Veterinary Record**, v. 162, n. 6, p. 186-188, 2008.

STEFANELLO,D.; AVALLONE, G.; FERRARI, R.; ROCCABIANCA, P.; BORACCHI, P. Canine cutaneous perivascular wall tumors at first presentation: clinical behaviour and prognostic factors in 55 cases. **Journal of the Veterinary Internal Medicine**, v. 25,n. 6, p. 1398-1405, 2011.

STEFANELLO,D.; MORELLO, E.; ROCCABIANCA, P.; IUSSICH, S.; NASSUATO, C.; MARTANO, M.; SQUASSINO, C.; AVALLONE, G.; ROMUSSI, S.; BURACCO, P. Marginal Excision of low-grade spindle cell sarcoma of canine extremities: 35 dogs (1996-2006). **Veterinary Surgery**, v. 37, n. 5, p. 461-465, 2008.

STRANDER, H.; TURESSON, I.; CAVALLIN-STAHN, E. A systematic overview of radiation therapy effects in soft tissue sarcomas. **Acta Oncology**, v. 42, p. 516-531, 2003.

SUGIURA, H.; TAKAHASHI, M.; KATAGIRI, H.; NISHIDA, Y.; NAKASHIMA, H.; YONEKAWA, M. Additional wide resection of malignant soft tissue tumors. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 394,p. 201-210, 2002.

SUIT, H.D.; SPIRO,I. Role of radiation in the management of adult patients with sarcoma of soft tissue. **Semin Surgery Oncology**, v. 10, p. 347-356, 1994.

TANAKA, K.;OZAKI,T. New TNM classification (AJCC eighth edition) of bone and soft tissue sarcomas: JCOG bone and soft tissue tumor study group. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 49, n. 2, 103-107, 2019.

THRALL, D.E.; GILLETTE,E.L. Soft-tissue sarcomas.**Semin Veterinary Medicine Surgery Small Animal**, v. 10, n. 3, p. 173-179, 1995.

TORRIGIANI, F.; PIERINI, A.; LOWE, R.; SIMCIC, P.; LUBAS, G. Soft tissue sarcoma in dogs: a treatment review and a novel approach using eletrochemotherapy in a case series. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n.3, p. 234-241, 2019.

TROJANI, M.; CONTESSO, G.; COINDRE, J-M.; ROUESSE, J.; BUI, N.B.;de MASCAREL, A.; GOUSSOT, J.F.; DAVID, M.; BONICHON, F.; LAGARDE, C. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. **International Journal of Cancer**, v. 33, n. 1, p. 37-42, 1984.

VIACHESLAV, S.; CORN, B.; KOLLENDER, Y.; TEMPELHOFF, H.; MELLER, I.; MERIMSKY, O. Radiation therapy for palliation of sarcoma metástases: a unique and uniform hypofractionation experience. **Sarcoma**, v. 2010, p. 1-4, 2010.

VILLAMIL, J.A.; HENRY, C.J.; BRYAN, J.N.*et al.* Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasmas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.239, p.960-965, 2011.

VILLEDIEU, E.J.; PETITE, A.F.; GODOLPHIN, J.D.; BACON, N.J. Prevalence of pulmonar nodules suggestive of metastasis at presentation in dogs with cutaneous or subcutaneous soft tissue sarcoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 258, n. 2, p. 179-185, 2021.

WHITE, L. M.; WUNDER, J.S.; BELL, R.S. *et al.* Histologic assessment of peritumoral edema in soft tissue sarcoma. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 61, p. 1439-1445, 2005.

WILEY JL, ROCOK KA, CLIFFORD CA, *et al.* Efficacy of doxorubicin-based chemotherapy for non-resectable canine subcutaneous haemangiosarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 8, p. 221-233, 2010.

WILLIAMSON, M.M.; MIDDLETON,D.J. Cutaneous soft tissue tumors in dogs: classification, differentiation, and histogenesis. **Veterinary Dermatology**, v. 9, p. 43-48, 1998.

WITHROW, S.J. The threee rules of good oncology, Biopsy, biopsy, biopsy. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 27, p. 311-314, 1991.

WODAJO, F.M.; WITTIG, J.; KUMAR, D.*et al.* Successful treatment of high grade soft tissue sarcoma with induction chemotherapy: clinicopathological analysis of thick capsule formation allowing less extensive “ marginal “ surgical resection. **ASCO Annual Meeting, American Society of Clinical Oncology**, v. 20, abstr. 2912, 2001.

YAP, F.W.; RASOTTO, R.; PRIESTNALL, S.L.; PARSONS, K.J.; STEWART, J. Intra- and inter-observer agreement in histological assessment of canine soft tissue sarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 4, p. 1553-1557, 2017.

YAQUB, S.; HENJUM, K.; MAHIC, M. *et al.* Regulatory T cells in colorectal câncer patients suppress anti- tumor imune activity in a COX-2 dependent manner. **Cancer Immunology Immunotherapy**, v. 57, p. 813-821, 2007.

ZOU, W. Immunosupressive networks in the tumor environment and their therapeutic relevance. **NatureRev Cancer**, v. 5, p. 263-274, 2005.

CAPÍTULO 2

TRABALHO CIENTÍFICO SERÁ SUBMETIDO À REVISTA
“Research in Veterinary Science”
Impact Factor: 2.534

The figures were inserted in the text to facilitate the panel visualization

**Proposal of a clinico-pathological staging and mitotic index for
cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas**

Andrea Regina Cardoso de Almeida Moreira¹, Mayara Simão Franzoni¹, Denner dos Anjos², Paulo César-Jark³, Juliano Nóbrega⁴, Renée Laufer-Amorim⁴, Osmar Pinto Neto⁵, Carlos Eduardo Fonseca-Alves^{1,6}

¹Department of Veterinary Clinic, School of Veterinary Medicine and Science, São Paulo State University – UNESP, Botucatu-SP, Brazil

²São Paulo State University – UNESP, Jaboticabal-SP, Brazil

³Oncocarevet, Ribeirão Preto, SP, Brazil

⁴Department of Veterinary Clinic, School of Veterinary Medicine and Science, São Paulo State University – UNESP, Botucatu-SP, Brazil

⁵Biomedical Engineering Department, Anhembi University, São Paulo, SP, Brazil. bArena235 Research Lab – São José dos Campos, SP, Brazil

⁶Institute of Health Sciences, Paulista University – UNIP, Bauru-SP, Brazil

* Correspondence:

Carlos E. Fonseca-Alves

carlos.e.alves@unesp.br

Funding

This research was funded by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), grant number #422139/2018-1

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Abstract

Soft tissue sarcomas (STSs) are a heterogeneous group of malignant mesenchymal neoplasm of similar histologic features and biological behavior. It is characterized by a low to moderate local recurrence rate and low metastasize rate that occurs hematogenously, affecting around 20% of patients. They can happen in any anatomical site of the body, most commonly involving the cutaneous and subcutaneous tissues. The advanced histologic characterization can lead to a better understanding of the behavior of each histologic type, and this way establishes individual prognostic. This study aims to assess canine patients with cutaneous and subcutaneous STM and to list clinical-pathologic characteristics with the survival of this animals.

Keywords: Mesenchymal neoplasm, statistical study, survival.

1. INTRODUCTION

Soft tissue sarcomas (STSs) are a heterogeneous group of malignant tumors that originated from mesenchymal cells of connective tissues and comprise a tumor group with similar features microscopically and clinically (DENNIS et al., 2011; FORREST et al., 2000). The STS occurs in any anatomical site, however they commonly involve the cutaneous and subcutaneous tissues, being between 8 to 20% of all tumours in this site (DOBSON et al., 2002; BRONDEN et al., 2010; DENNIS et al., 2011).

The STS may originate from different cells, including adipocytes, neuronal, muscle, fascial, blood vessel wall and fibroblast (FORREST et al., 2000). Middle-to-large age dogs are more commonly affected, without sexual and breed predilection. The metastatic occurs hematogenous, affecting around 20% of patients. Lymph nodes are generally not affected, and there is usually significant local infiltration (FORREST et al., 2000; LIPTAK and FORREST, 2013).

Usually, STS presents as solitary and pseudoencapsulated masses, with poorly defined margins (HARDY, 1976; SINIBALDI et al., 1976; McSPORRAN, 2009; LIPTAK and FORREST, 2013). The histologic evaluation of these tumors

group is challenging, due to similar cell patterns to a variety of other neoplasms as different histogenesis (WITHROW, 1991; POWERS et al., 1995).

In Human Medicine, the soft tissue sarcomas from extremities and trunk are considered a group of tumors with similar behavior, clinical appearance and treatment options (CATES, 2018; ZOU et al., 2021). Therefore, these tumors are evaluated using a standardized system, including for tumor staging. In dogs, a similar system was applied to classify these group of sarcomas and a uniform grading system was proposed for this tumor group (DENNIS et al., 2011; TIERCE et al., 2021; VILLEDIEU et al., 2021). However, no previous staging system or mitotic index was proved to be associated with patients' overall survival.

Due to the lack of prognostic clinical information for canine STSs, this study aimed to assess the prognostic value of pathological and clinical features associated with the overall survival time.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Study design

This retrospective non-randomized multicentric study included 105 dogs affected by cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas (STSs). The cases of the present research came from São Paulo State University-UNESP, BICHO e RABICHO Veterinary Clinic, ONCONNECTIONVET, ELETRO-ONKOVET, and VET CANCER Care oncology services. The inclusion criteria for this study were patients with histopathological analysis confirming STSs diagnosis, patients that underwent a full search for metastasis, including thoracic x-ray, abdominal ultrasound and patients containing clinical information available. This study was approved by the Committee on Ethics in the Use of Animal (204/2018).

2.2 Clinical data

Clinical data were obtained from patient's medical records. The tumor stage was adapted from the human AJCC 8th Edition Staging System for Soft Tissue Sarcoma of the Extremity and Trunk (CATES, 2018). The adapted TNM system comprehended the tumor sizes, lymph node involvement, distant metastasis and histological grade. The proposed Veterinary TNM system is shown in Table

1, and the new staging system is shown in Table 2. The tumor grade was assessed according to Trojani et al. (1984) and Dennis et al. (2011).

Table 1. New TNM system for canine cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas adapted from the human classification.

Definition of Primary Tumor (T)	
T category	T criteria
Tx	Primary tumor can not be assessed
T0	No evidence of primary tumor
T1	Tumor 3 cm or less in greatest dimension
T2	Tumor more than 3 cm and ≤ 7 cm in greatest dimension
T3	Tumor more than 7 cm and ≤ 12 cm in greatest dimension
T4	Tumor more than 12 cm in greatest dimension
Definition of regional lymph node (N)	
N category	N criteria
N0	No regional lymph node metastasis
N1	Regional lymph node metastasis
Definition of distant metastasis (M)	
M category	M criteria
M0	No distant metastasis
M1	Distant Metastasis
Definition of Grade	
Gx	Grade can not be assessed
G1	Total differentiation with tissue resembling the normal counterpart, mitotic count ≤ 9 , no necrosis
G2	Total differentiation with tissue showing poor differentiation, mitotic between 10 and 19, necrosis $\leq 50\%$
G3	Undifferentiate sarcoma, mitotic count ≥ 20 , necrosis $\geq 50\%$

Table 2. New clinical staging system proposed for dogs affected by cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas.

Stage	T	N	M	Histological Grade
Stage I	Tx, T1 or T2	N0	M0	Gx or G1
Stage II	T2, T3 or T4	N0	M0	G2
Stage III	T3 or T4	N0	M0	G3
Stage IV	Any T	N1	M0	Any G
	Any T	N0	M1	Any G

The overall survival time was considered between the diagnosis confirmation until the last contact. When necessary, phone contact was made to confirm clinical information. Survival information was censored when dogs are still alive or died from other cause not related to the tumor. For tumor localization, the tumors were grouped in tumors located in the trunk or extremities, according to the previous criteria for human STS (CATES, 2018).

2.3 Morphological Analysis

The stained with hematoxylin and eosin were assessed and a new histological evaluation was performed to confirm the diagnosis by two independent pathologists with experience in STS diagnosis. Histological analysis was performed at a lower magnification (50x), followed by subsequent increase fields (100x, 200x and 400x). Finally, the histological evaluation, classification and grading were performed according to Dennis et al. (2011) and Trojani et al. (1984).

2.4 Statistical Analysis

We grouped samples according to the clinical-pathological criteria for statistical purpose and compared the different categorical variables with overall survival (OS). The considered categories were: histological differentiation, mitotic index, percent of necrosis, histologic grade, tumor diameter of, lymph node metastatic, distant metastasis, clinical stage and treatment. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism v.8.1.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) and SPSS program (IBM SPSS Statistics 20.0.0, IBM Corporation, 2011).

The associations between the different variables of the study were established through the chi-square test. Discrete and continuous quantitative

variables, like gender and tumor location, as well as regional lymph node affected and the variable survival in days, that was divided into 0-120 days, 120-363 days, and above 363 days.

The results are reported through the expected and observed frequencies, by Pearson Chi-square analysis and by the corresponding p-value. Only results with a significance level $p > 0,05$ are reported.

3. RESULTS

A total of 105 patients met our inclusion criteria and were included in this study. The mean age of these patients was 9,97 ($\pm 3,01$) years. The mixed breed dogs were the most affected (53 out of 105) followed by, Poodle (6/105), Golden Retriever (5/105), Rottweiler (5/105), Boxer (4/105), Labrador Retriever (4/105), Pit Bull (4/105), Beagle (3/105), German Shepherd (3/105), Border Collie (2/105), Cocker Spaniel (3/135), Brazilian terrier (2/105), Lhasa apso (2/105), Schnauzer (2/105), Shih tzu (2/105), Blue Heeler (1/105), Sheep dog (1/135), Teckel (1/105), Weimaraner (1/105), Yorkshire (1/105).

The female dogs represented 68 out of 105 patients, and the remaining 37 were male dogs. Among the tumor localization 54 out of 105 were located in the trunk, and the remaining 51, situated in the limbs. The presence of metastasis at diagnosis occurred in 8 out of 105 cases (0,076%). The mean size of the tumors was 6,38 ($\pm 4,76$) cm, and the mean overall survival was 365,91 days (180), independent of the patient's treatment.

A significant association between sex and tumor location was found (Pearson Chi-square= 4,225; $p=0.04$). Females were more prone to present tumors in the trunk than in the extremities. While for males, the opposite occurred (Fig 1).

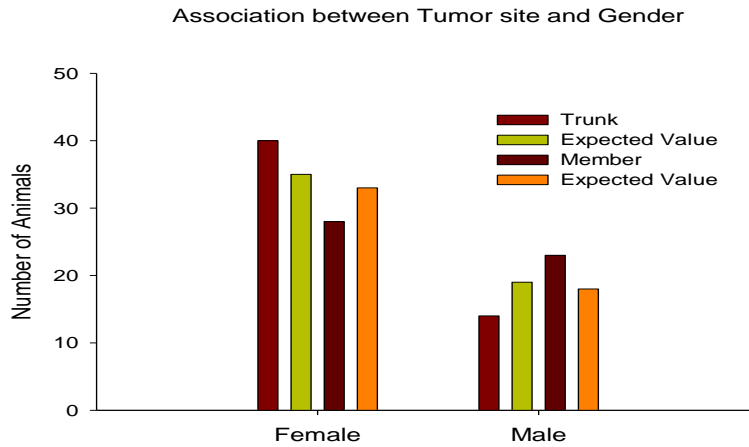


Fig 1. Tumor site is correlated with gender. Females had a higher prevalence of tumors located on the trunk (n=40 vs. n=28). Males had a higher prevalence of tumors located on the limbs (n=23 vs. n=14).

A significant association was found between regional lymph nodes and survival (Pearson Chi-square=6.141; P=0.046). Patients with lymph node metastasis were not expected to survive more than 120 days. On the other hand, patients without lymph node metastasis were expected to survive more than 363 days (Fig 2).

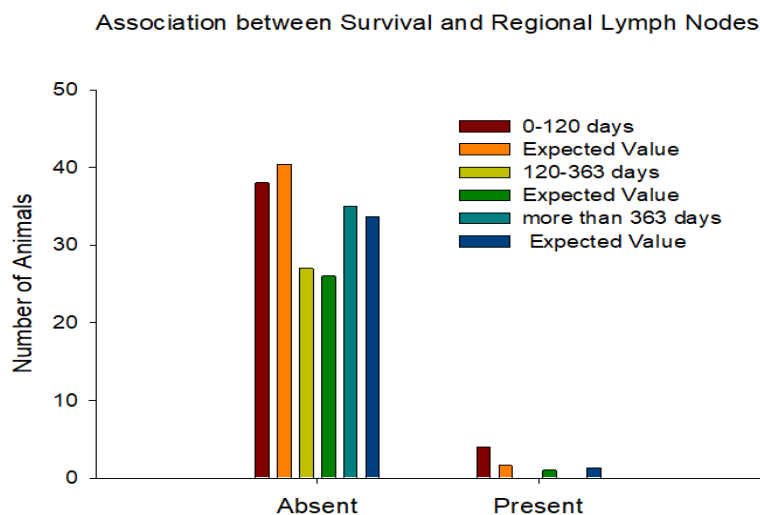


Fig 2. Survival is correlated with regional lymph nodes. The expected frequencies for the survival bands were 0-120, 120-363, and more than 363 days for free lymph node 40.4, 26, and 33.7, while the number of animals observed in each category were 38, 27, and 35. For the affected lymph node,

the expected frequencies were 1.6, 1, and 1.3, while the number of animals observed in each category was 4, 0, and 0.

The mean of the mitotic index (MI) was 5,7. When it was compared with survival, the statistical study showed a longer survival time for patients with MI less than the mean 5,7 compared with patients with MI high 5,7, showed that the MI is an important factor for the prognosis ($P=0.0006$) (Fig 3A). There was a prevalence of tumors classified in grade II ($N=43$) followed by tumors with grade I ($N=40$), grade III ($N=22$). Patients with grade III experienced a shorter survival time compared with patients with grade I and II ($P<0.0001$) (Fig 3B).

Regarding our proposed clinical-pathological stage the mean overall survival was 445,05 days for patients with stage I, 375,52 days, for stage II 224,21 days for stage III and 278,50 (\pm) days stage IV. The patients with tumor presenting stages III and IV experienced a shorter survival time compared to patients with stages I and II ($P<0.0001$) (Fig 3C).

A total of 105 tumors were measured, and average mean size was $T=6,4$ cm. Then, we associated the tumor size with patient's survival. However, no association was found ($P=0.7422$) (Fig 3D).

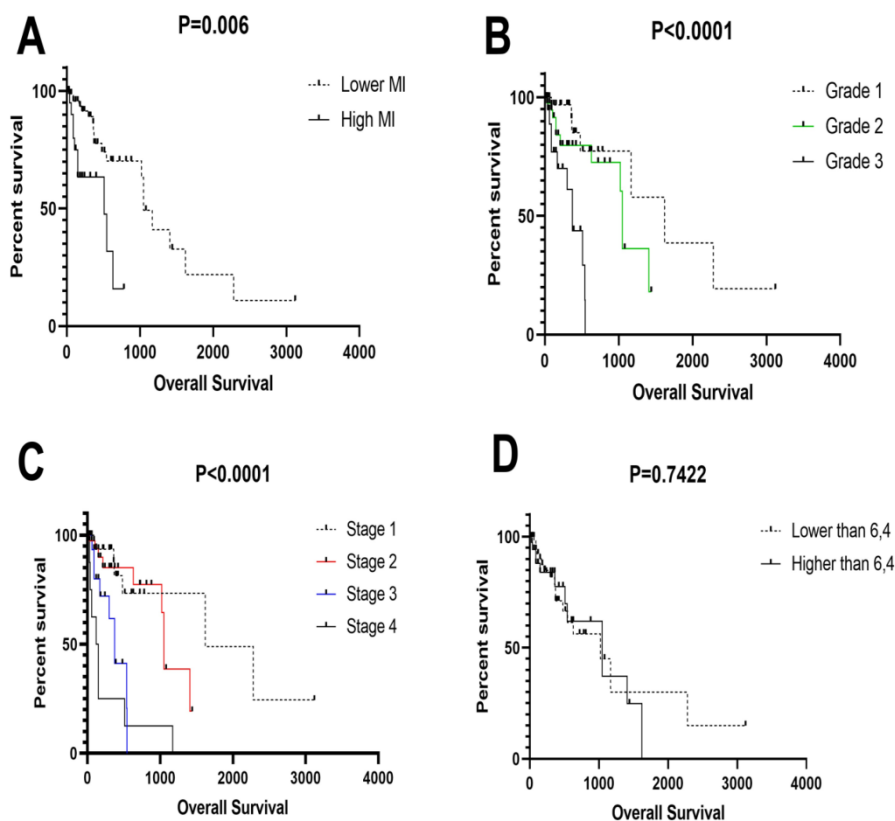


Fig 3. Overall survival in STS affected dogs according to the clinic-pathological criteria. (A) Mitotic index rate is correlated to overall survival, with patient's presenting mitotic count higher than 5.7 experiencing a shorter survival time ($P=0.006$). Histologic grade is correlated to overall survival, with patients with grade III experiencing a shorter survival time ($P<0,0001$). Our proposal clinic-pathological staging was associated with overall survival. Patients with stages III and IV experienced a shorter survival time (D). No correlation was found with tumor size and patient's survival ($P=0,7422$).

4. DISCUSSION

The purpose of this study was to identify predictive factors in STSs. Soft tissue sarcomas are mesenchymal tumors derived from soft connective tissues, comprise a heterogeneous group of neoplasm with different STS histological subtypes, and it can ideally be further categorized according to presumed phenotype or tissue of origin (DENNIS et al., 2011).

This study included 105 dogs with mean age of 9.97 ($\pm 3,01$) years, according to the literature that reports especially prevalence among middle age to old (HOHENHAUS et al., 2016). Regarding the gender, the female dogs were more prevalent, it was represented 68 out of 105 patients, and the remaining 37 were male dogs, having a racial predisposition. Interestingly, the expression of progesterone receptor was previously associated with peripheral nerve sheath and perivascular wall tumors (LOURES et al., 2020). Therefore, a hormone influence could be associated with the STS development.

No association was found between tumor localization (trunk or limbs) and clinic-pathological factors. These data are in accordance with the previous found in tumors located in trunk or limbs. Thus, independent of the location these tumors are grouped as a unique entity (CATES, 2018).

The most important prognostic factors according to the previous literature are the histologic grade and wide surgical margins, which predict nonrecurrence. High mitotic index is prognostic for reduced survival time (DENNIS et al., 2011). However, no previous unified mitotic index was proposed as an independent prognostic factor for STSs. Usually, mitotic index is counted

with tumor grade. Therefore, our study strongly suggests that mitotic index is an independent prognostic factor for canine cutaneous and subcutaneous STSs.

Similar to our results, a previous work has reported a higher frequency of grade I and II tumors, with only a small set of grade III tumors. Although, this grading system is determined histopathologically, it has been widely used for the classification of STSs, reinforcing that the histologic grade is the most crucial prognostic factor for STS (COINDRE, 2006; McSPORRAN, 2009). Other relevant data in this study is the lowest survival time was found for tumor grade III, compared to grade I and grade II.

The Cancer Staging Manual of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) has recently been revised and updated to eighth edition (TANAKA and OZAKI, 2019). The tumor stage is one of the most important prognostic factors for all subtypes of STSs, and we showed a lower survival time in patients with stage IV and III, compared with stages I and II. Regarding the frequency, in this study sample of stage I (36%) and II (38%) were more frequent than stages III (18%) and IV (7%), not showing a difference with what is proposed in literature. For canine STSs, no previous clinical stage was proposed. Although we have retrospectively enrolled patients in our study, we have a homogenous tumor group, that reinforces the strength of our staging. For human STSs, clinical stage is one of the most important prognostic factors. Thus, we strongly recommend the use of the clinic-pathological stage for canine STSs.

It is known that STSs have a low metastatic rate (reportedly up to 17% of cases), of the 105 patients included in this study, only 7 had metastasis and 2 had lymph node infiltration, there was also an important correlation between metastasis and survival rate, which significantly decreases when there was any diagnosed metastasis. Local recurrence of marginally excised subcutaneous soft tissue sarcomas is variable and difficult to predict. The STSs are commonly surrounded by a pseudocapsule that may contain or be confluent with tumor cells. The entire resection with complete margins predicts nonrecurrence; meantime further research is needed to determine more precise estimates for recurrence and survival rates. Other potential indicators of prognosis that presently require further investigation include histologic type, tumor dimension, location, invasiveness, stage, markers of cellular proliferation, and cytogenetic profiles (McSPORRAN, 2009; DENNIS et al., 2011).

It has been verified that larger tumors will be more difficult to remove than smaller ones, and the size of the tumor has a direct impact on the surgical procedure and the possibility of having residual disease. Several canine and human studies have suggested that tumors larger than 5cm have shorter disease-free-interval or survival times when compared to tumors smaller than this size (KUNTZ et al., 1997; BRAY et al., 2014). In the respective study, the mean tumor size was 6,4 cm, having a direct correlation with the survival time, which it was longer in dogs with T<6,4 cm.

5. CONCLUSION

Overall, our study suggested that the proposed clinic-pathological staging and the mitotic index presents a direct association with patient's overall survival. Therefore, we indicate the use of both parameters in clinical practice.

6. REFERENCES

Bray, J.P., Polton, G.A., McSporran, K.D., Bridges, J., Whitbread, T.M., 2014. Canine soft tissue sarcoma managed in first opinion practice: outcome in 350 cases. *Vet. Surg.* 43, 1-9.

Bronden, L.B., Eriksen, T., Kristensen, A.T., 2010. Mast cell tumors and other skin neoplasia in Danish dogs – data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Vet. Scand.* 52. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-6>

Cates, J.M.M., 2018. The AJCC 8th edition staging system for soft tissue sarcoma of the extremities or trunk: a cohort study of the SEER Database. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 16, 144-152.

Coindre, J-M., 2006. Grading of soft tissue sarcomas: review and update. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 130, 1448-1453.

Dennis, M.M., McSporran, K.D., Bacon, N.J., Schulman, F.Y., Foster, R.A., Powers, B.E., 2011. Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. *Vet. Pathol.* 48, 73-84.

Dobson, J.M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood, J.L., 2002. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J. Small Anim. Pract.* 43, 240-246.

Ehrhart, N., 2005. Soft tissue sarcomas in dogs: a review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 41, 241-246.

Forrest, L.J., Chun, R., Adams, W.M., Cooley, A.J., Vail, D.M., 2000. Postoperative radiotherapy for canine soft tissue sarcoma. *J. Vet. Int. Med.* 14, 578-582.

Hardy, W.D., 1976. The etiology of canine and feline tumors. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 12, 313-334.

Hohenhaus, A.E., Kelsey, J.L., Haddad, J., Barber, L., Palmisano, M., Farrelly, J., Soucy, A., 2016. Canine cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcoma: an evidence-based review of case management. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 52, 77-87.

Kuntz, C.A., Dernell, W.S., Powers, B.E., Devitt, C., Straw, R.C., Withrow, S.E., 1997. Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986-1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211, 1147-1151.

Liptak, J.M., Forrest, L.J., 2013. Soft tissue sarcomas, in: Withrow, S.J., Vail, D.M., Page, R.L. (Eds.), *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier Saunders, Saint Louis, pp. 356-380.

Loures, F.H., Conceição, L.G., Amorim, R.L., Nobrega, J., Neto, R.T., Costa, E.P., Silva, F.F., 2020. Progesterone and estrogen receptor expression by canine cutaneous soft tissue sarcomas. *Pesq. Vet. Bras.* 40, 284-288.

McSporran, K.D., 2009. Histologic grade predicts recurrence for marginally excised canine subcutaneous soft tissue sarcomas. *Vet. Pathol.* 46, 928-933.

Powers, B.E., Hoopes, P.J., Ehrhart, E.J., 1995. Tumor diagnosis, grading and staging. *Semin. Vet. Med. Surg.* 10, 158-167.

Sinibaldi, K., Rosen, H., Liu, S.K., 1976. Tumors associated with metallic implants in animals. *Clin. Orthop.* 118, 257-266.

Tanaka, K., Ozaki, T., 2019. New TNM classification (AJCC eighth edition) of bone and soft tissue sarcomas: JCOG bone and soft tumor study group. *Japan. J. Clin. Oncol.* 49, 103-107.

Tierce, R., Martin, T., Hughes, K.L., Harrison, L., Swancutt, K.L., Rao, S., Leary, D., LaRue, S.M., Boss, M.K., 2021. Response of canine soft tissue sarcoma to stereotactic body radiotherapy. *Radiat. Res.* Doi10.1667/RADE-20.00271.1

Trojani, M., Contesso, G., Coindre, J-M., Rouesse, J., Bui, N.B., de Mascarel, A., Goussot, J.F., David, M., Bonichon, F., Lagarde, C., 1984. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *Int. J. Cancer.* 33, 37-42.

Villedieu, E.J., Petite, A.F., Godolphin, J.D., Bacon, N.J., 2021. Prevalence of pulmonar nodules suggestive of metastasis at presentation in dogs with cutaneous or subcutaneous soft tissuesarcoma. *J.Am. Vet. Med. Assoc.*258, 179-185.

Withrow, S.J., 1991. The three rules of good oncology, Biopsy, biopsy, biopsy. *J.Am. Anim. Hosp. Assoc.* 27, 311-314.

Zou,D., Wang, Y., Wang, M., Zhao, B., HU, F., Li, Y., Zhang, B.,2021. Bioinformatics analysis reveals the competing endogenous RNA (ceRNA) coexpression network in the tumor microenvironment and prognostic biomarkers in soft tissue sarcomas. *Bioengineered.*12, 496-506.