

Tumor venéreo transmissível canino com resistência quimioterápica e metástase esplênica. Relato de caso

A. P. Duzanski^{1,2}, A. D. Ortiz,³ H. B. Fêo¹, M. W. Fonseca⁴, M. M. Flórez^{1, 5*},
L. T. Rodrigues⁶, F. Michelon⁶, N. S. Rocha^{1,2}

RESUMO

O Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC) é uma neoplasia de células redondas que tem a particularidade de se implantar em mucosas que tenham perdido a sua integridade. Nesse local o tumor prolifera e ocasionalmente origina metástase. Em geral, o tumor responde ao tratamento com sulfato de vincristina, porém a resistência quimioterápica associada ao fenótipo tumoral tem sido documentada. Objetivou-se relatar um caso de TVTC genital de fenótipo citológico misto com metástase esplênica e o insucesso da quimioterapia com sulfato de vincristina, em uma fêmea canina, da raça Australian Cattle Dog, de cinco anos de idade. Após diagnóstico citológico e histológico, o tumor primário foi ainda caracterizado em fase de progressão e mostrou baixa expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) ($4,4 \pm 2\%$ classe I e $11 \pm 4,1\%$ classe II). A cadela foi submetida à ovariosterectomia e esplenectomia terapêutica e não apresentou recidiva do tumor após 12 meses de acompanhamento clínico.

Palavras-chave: TVTC, Cão, Metástase, Quimioterapia.

Canine transmissible venereal tumor with chemotherapy resistance and splenic metastasis. Case report

ABSTRACT

The canine transmissible venereal tumor is a type of round cell cancer that have the particularity of implanting in mucous tissue, when they lose their integrity, at which point the tumour proliferates and may even develop metastases. The tumor typically responds well to vincristine sulfate chemotherapy, although there are cases of resistance to the drug correlated with the tumoral phenotype. We describe herein a genital mixed TVTC case

¹ Laboratory of Investigative and Comparative Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo State University (UNESP). Botucatu (Brazil).

² Medical School, Department of Pathology, São Paulo State University (UNESP). Botucatu, (Brazil).

³ Research Group in Veterinary Medicine and Husbandry–GIDIMEVETZ, Pedagogical and Technological University of Colombia, Tunja (Colombia).

⁴ Department of Veterinary Surgery and Anesthesiology, Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo State University (UNESP). Botucatu (Brazil).

⁵ Faculty of Veterinary Medicine, Universidad Nacional de Colombia / Veterinary Pathology Research Group, College of Agricultural Sciences, Universidad de Caldas. Manizales (Colombia).

⁶ Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo State University (UNESP). Botucatu (Brazil).

* Corresponding author: maomontoya53@yahoo.es, lmontoyaf@unal.edu.co

with metastases at spleen and failure at vincristine sulfate chemotherapeutic treatment in a five years old Australian Cattle Dog female. After the cytological, histological and cytogenetic diagnostic, the primary tumor was still characterized in progression phase and showed low major *histocompatibility complex* expression MHC ($4,4 \pm 2\%$ class I e $11 \pm 4,1\%$ class II). The dog underwent therapeutic splenectomy and ovariohysterectomy and did not present tumor recurrence within 12 months of clinical follow-up.

Key word: TVTC, Dog, Metastasis, Chemotherapy.

INTRODUÇÃO

Nowinsky, em 1876, e posteriormente Sticker, em 1906, mostraram que tumores venéreos de cães eram transmissíveis, através de procedimentos experimentais envolvendo transplantes tumorais (Ganguly *et al.* 2016). O Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC) integra um pequeno e fascinante grupo de cânceres transmissíveis conhecidos na natureza (Metzger *et al.* 2016). Propaga-se naturalmente entre os cães pela transferência alogênica de células tumorais durante o coito (Ganguly *et al.* 2016; Murgia *et al.* 2006; Strakova y Murchison 2014), podendo ainda ser encontrado em ocorrência extragenital devido aos hábitos sociais de interação canina, como cheirar, lambear, arranhar e morder (Rocha *et al.* 2014).

Acredita-se que o TVTC surgiu pela transformação de células somáticas em um único ancestral canino há aproximadamente 11.000 anos e, posteriormente, sofreu adaptações para se tornar transmissível e sobreviver como um aloenxerto entre as gerações (Strakova y Murchison 2015). Para isso, há a hipótese de que as células do tumor não expressam moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), como um mecanismo de escape da rejeição imunológica. É um tumor de células redondas, de origem mieloide (Ganguly *et al.* 2016), classificado conforme o tipo citomorfológico plasmocitóide, linfocitóide e misto (Amaral *et al.* 2004; Flórez *et al.* 2012)

que mostra variação no comportamento biológico e na resposta quimioterápica (Duzanski *et al.* 2017).

Apesar de dificilmente o tumor implicar na morte do cão, possui potencial maligno e complicações como metástases por vezes surgem comprometendo seriamente a saúde e a qualidade de vida do animal. Neste estudo, relata-se as manifestações clínicas de um caso de TVTC misto com metástase esplênica e a resistência tumoral ao tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina, considerados eventos incomuns. Buscou-se discutir os principais mecanismos associados ao comportamento biológico agressivo do tumor.

Histórico do caso e achados

Uma fêmea canina da raça Australian Cattle Dog, não castrada, 14 kg e idade de cinco anos, foi encaminhada ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Botucatu, apresentando histórico de secreção vaginal *serosanguinolenta*, *lambedura vulvar*, inapetência e emagrecimento progressivo, com dois meses de evolução. O proprietário relatou que a cadela estava no cio e havia escapado para as ruas há alguns meses antes de apresentar os sinais. No exame físico foi observado temperatura retal de $39,3^{\circ}\text{C}$, leve desidratação e aumento de volume abdominal que na palpação revelou esplenomegalia. O hemograma não mostrou alterações além de uma discreta

linfopenia (900 linfócitos/ mm^3). Ao exame específico apresentou massa de natureza vegetante, multilobulada, friável, indolor e de coloração avermelhada no vestíbulo vaginal (Figura 1). No exame citológico aspirativo por agulha fina (CAAF) da massa genital foi observado celularidade acentuada composta por células redondas individualizadas, de tamanhos variáveis entre 13 a $24\ \mu\text{m}$, citoplasma com contornos bem delimitados e distintos, discretamente basofílico, contendo múltiplos vacúolos claros dispersos, núcleo redondo com cromatina grosseira e nucléolo evidente. Foram observadas alterações malignas como anisocitose, anisocariose, macrocariose, hipercromasia, células fantasma e em raquete, além de figuras de mitose (Figura 2). Fragmentos do tumor de aproximadamente $1,5\text{cm}^3$ também foram coletados por biópsia incisional para posterior análise histológica, imunoistoquímica e citogenética que vieram confirmar o diagnóstico de TVTC.

A cadela foi ainda submetida ao exame ultrassonográfico do abdome que mostrou uma alteração no parênquima esplênico, com presença de estrutura heterogênea predominantemente ecogênica com áreas cavitárias em permeio causando deslocando da cápsula e alteração do contorno normal do órgão e útero apresentando paredes irregulares e acentuadamente espessadas, sugerindo processo neoplásico com possível metástase no baço. No exame de Doppler colorido, tanto o baço como o útero apresentaram evidente vascularização (Figura 3). Inicialmente o tratamento instituído foi a quimioterapia com sulfato de vincristina na dose de $0,75\ \text{mg}/\text{m}^2$, uma vez por semana. Contudo, tanto o tumor genital como a neoformação esplênica não mostraram resposta à ação da vincristina após quatro sessões seguidas de trata-

mento, sendo recomendada a realização de ovariosterectomia e esplenectomia terapêutica. A análise histopatológica de amostras do baço excisionado confirmou a metástase do TVTC genital. Depois de 10 dias da cirurgia a cadela também recebeu doxorubicina intravenosa, na dose de $30\text{mg}/\text{m}^2$, a cada 21 dias, totalizando duas aplicações, como forma de prevenir o risco de recorrência pós-operatória. Por fim, a cadela recebeu monitoramento clínico durante 12 meses e não apresentou recidiva do tumor.

Análise histológica

Em relação à fase evolutiva do TVTC, Stockmann *et al.* (2011) descrevem que o tumor pode ser classificado em *fase de progressão* (alta celularidade imersa em delicado estroma), *fase de regressão inicial* (evidência moderada de tecido estromal substituindo o parênquima tumoral) e *fase de regressão final* (colapso do parênquima tumoral e intensa proliferação de tecido estromal). Neste estudo, a avaliação histológica do tumor genital mostrou um arranjo de células redondas sustentadas por um escasso tecido estromal, caracterizando a fase clínica de progressão do TVTC. Os oncócitos apresentaram núcleos redondos e hipercromáticos, nucléolo proeminente, citoplasma granular, levemente basofílico e vacuolizado. Infiltrado inflamatório e figuras mitóticas foram observados (Figura 4). Também no útero foi evidenciado proliferação neoplásica de células redondas, de aspecto nodular, mal delimitada, em lúmen de corno uterino que por vezes se estendia ao endométrio. As células estavam dispostas em mantos entremeadas a um estroma fibrocolagenoso, formando septos delicados. O citoplasma das células era basofílico e vacuolizado, e o núcleo redondo com cromatina granular.



FIGURA 1. TVTC em cão fêmea. Massa vegetante, multilobulada, necro-hemorrágica em mucosa vaginal.

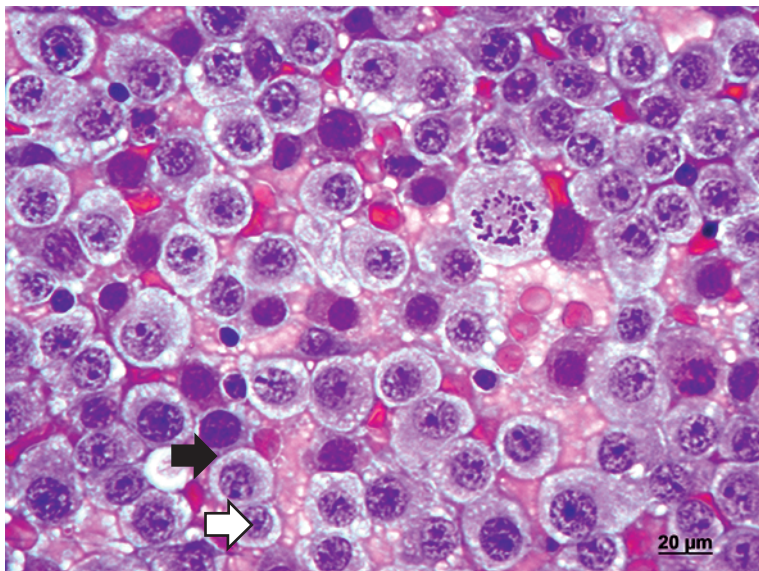


FIGURA 2. Citologia aspirativa por agulha fina no diagnóstico de TVTC. Fenótipo linfocitóide (seta preta). Oncócitos redondos, com núcleo tendendo a centralização. Fenótipo plasmocitóide (seta branca). Oncócitos ovalados, com núcleo excêntrico. Célula fantasma, células em raquete, padrão grosseiro da cromatina, ranhura nuclear e mitose indicando fortes critérios de malignidade celular. Coloração pelo papanicolau, 630x.

Quanto à análise do baço foi evidenciada proliferação neoplásica de células redondas, infiltrativa, substituindo e comprimindo o tecido esplênico que exibiu acentuada quantidade de vasos congestionados e perda de folículos linfóides. As células estavam permeadas por delicado

estroma fibrocolagenoso. O citoplasma era basofílico e por vezes vacuolizado, núcleo redondo com cromatina densa ou grosseira e nucléolo indistinto. Havia áreas de discreta hemorragia associada à neoplasia e discreto infiltrado inflamatório neutrofílico multifocal (Figura 5).

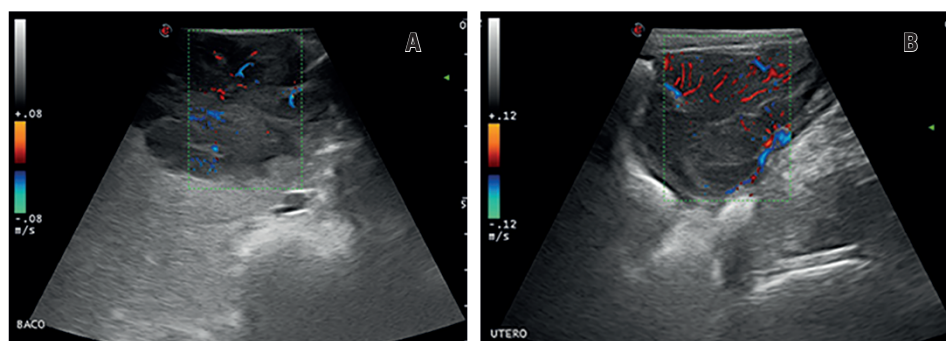


FIGURA 3. Imagem ultrassonográfica do abdômen canino. (A) Parênquima esplênico alterado, com presença de estrutura heterogênea predominantemente ecogênica com áreas cavitárias em permeio, causando deslocando cápsula e alteração do contorno normal do órgão. (B) Útero apresentando paredes irregulares e acentuadamente espessadas. Evidente vascularização ao exame de Doppler colorido sugerindo processo neoplásico.

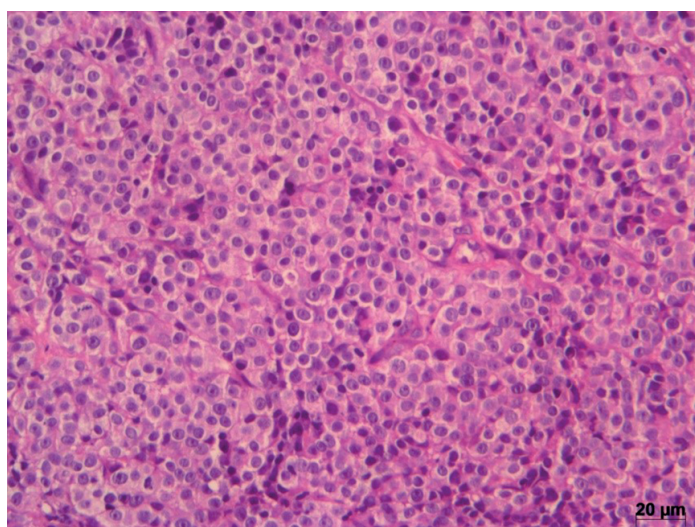


FIGURA 4. Fase de progressão doTVTC na análise histológica. Alta celularidade disposta em cordões imersos em delicado estroma. Coloração pelo H.E, 200x.

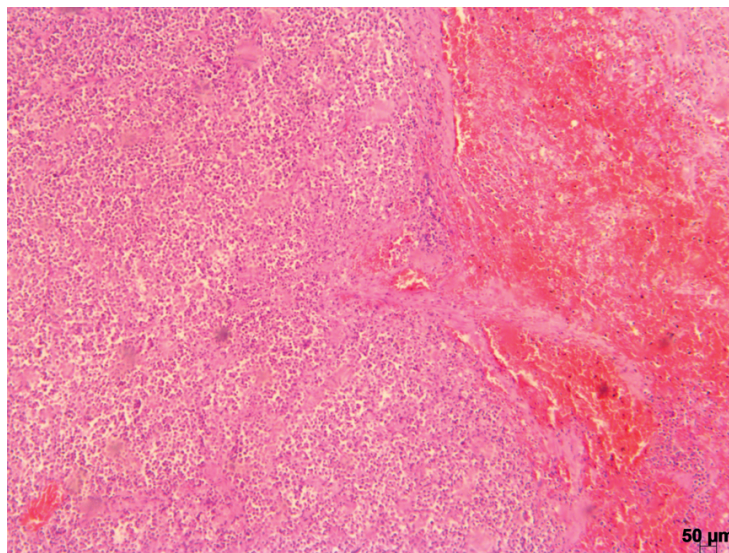


FIGURA 5. Metástase esplênica do TVTC ao exame histopatológico. Coloração pelo H.E, 50x.

Cultura primária de TVTC

Os isolamentos das culturas do TVTC seguiram conforme descrito em estudos prévios (Ballesteros *et al.* 2018; Flórez *et al.* 2016). As amostras tumorais foram mantidas em solução de tripsina (TrypLE Select – Invitrogen), a 37,5°C por 60 minutos no homogenizador magnético. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, o sedimento celular foi ressuspenso com 5 mL de meio de cultivo [solução DMEM alta glicose (Gibco), suplementada com 10% de soro fetal bovino (Gibco), 100U/mL de penicilina, 100mg/mL de estreptomicina (Gibco), e 3μg/mL de Anfotericina B (Gibco)], e acondicionado em frascos para cultura celular de 25 cm² (Sarstedt). Por fim, as amostras foram incubadas em estufa de CO₂ a 5%, umidade 95% e temperatura de 37,5°C. A viabilidade e concentração celular foram determinadas pelo teste de exclusão com azul de tripan, em câmara de Neubauer. Após *três passagens de cultura*,

as amostras foram submetidas à análise citogenética que revelou um número de 59 cromossomos nas células tumorais.

Imunoistoquímica

Cortes histológicos seriados de 3μm foram estendidos em lâminas (Slidtech Plus Novocastra® Newcastle UK). O material foi desparafinado em xilol e hidratado em álcool etílico em concentrações decrescentes. O bloqueio da peroxidase endógena foi alcançado em solução de peróxido de hidrogênio a 3% diluído em metanol; para a recuperação antigênica as lâminas imersas em tampão citrato 10mM, pH 6 foram levadas ao forno micro-ondas por 15 minutos; e para o bloqueio das reações inespecíficas foi utilizado leite em pó a 5%.

Em seguida as amostras histológicas foram incubadas com os anticorpos (anti-MHC I DG-H58A, monoclonal, 1:100 e anti-MHCII DG-TH14B, policlonal, 1:200) em câmara úmida overnight, a 4°C. O sistema Novolink™ (Leica Biosystems

Newcastle Ltd) foi utilizado para imunomarcagem de moléculas de MHC classe I, e o sistema Envision™ (Dako) para imunomarcagem de moléculas de MHC classe II. A revelação foi feita com solução cromógena Diaminobenzidina (DAB, 3.3'-Dako) e a contra-coloração com Hematoxilina de Meyer. Como controle positivo da reação imune foi utilizado amostra tecidual de linfonodo de cão saudável. Quanto ao controle negativo, o anticorpo foi substituído por solução tampão de Tris-HCl pH7,4.

As reações imunes foram avaliadas de forma semi-quantitativa, sendo contadas 100 células por lâmina. As imagens foram capturadas no microscópio óptico Carl zeiss, LAb A1, Germany, nas objetivas 10X e 40X, utilizando o software Axio-Vision 4.8. Em todos os casos a avaliação foi realizada de forma independente por dois patologistas e os dados apresentados com a média das observações, obtendo uma marcação para o MHC ($4,4 \pm 2\%$ classe I e $11 \pm 4,1\%$ classe II) conforme os descrito por Hsiao *et al.* (2008) (Figura 6).

DISCUSSÃO

O TVTC é comumente diagnosticado em cães sexualmente ativos com idade entre 2 e 8 anos, e sem raça definida (SRD). Acomete naturalmente ambos os sexos, prevalecendo em países tropicais e subtropicais, e em locais com grandes populações de cães nas ruas (Strakova y Murchison 2014). Há registros bem documentados do tumor em praticamente todo o mundo (Ganguly *et al.* 2016), representando os principais tumores que acometem os cães (Horta *et al.* 2012; Sousa *et al.* 2000). Amaral *et al.* (2004) observou que, entre o período de 1994 e 2003, o TVTC foi a segunda neoplasia mais diagnosticada em

cães na região de Botucatu, Brasil. A falta de rigor nas políticas públicas de controle epidemiológico de cães errantes, somada ao não impedimento dos cães aos hábitos de vida livre favorecem a transmissão e a disseminação do tumor. No caso aqui em discussão, segundo o relato do tutor, a cadela escapou para as ruas no período de cio antes de apresentar os sintomas da doença. A transmissão do TVTC ocorre por contato direto de um cão doente com outro sadio pelo coito, lambedura, farejo e mordedura (Rocha *et al.* 2014), sendo que a célula tumoral se propaga naturalmente entre os indivíduos como uma linhagem celular contagiosa (Strakova y Murchison 2015). O coito é o principal modo de transmissão e nesse caso, a genitália é o local mais comumente afetado (Ganguly *et al.* 2016; Strakova y Murchison 2014).

Experimentalmente o TVTC parece evoluir conforme o estágio imunológico. Apresenta uma fase de progressão, seguida de estabilização e por último uma fase de regressão, quando estabelecido em animais adultos e saudáveis (Chandler y Yang 1981; Chu *et al.* 2001). A iniciação e progressão do tumor parecem ocorrer principalmente pela evasão das células tumorais aos mecanismos de imunovigilância relacionados à via do MHC (Hsiao *et al.* 2002), além da conversão de seu microambiente para um estado de imunossupressão (Hsiao *et al.* 2004; Liao *et al.* 2003), enquanto a regressão tumoral é associada ao infiltrado linfocitário (Chandler y Yang 1981; Hsiao *et al.* 2004; Pérez *et al.* 1998), expressão de moléculas do MHC classe I e II (Hsiao *et al.* 2002; Hsiao *et al.* 2008) e apoptose das células tumorais (Santos *et al.* 2008).

Neste estudo a análise histológica do tumor mostrou alta celularidade imersa em delicado tecido estromal, caracterizando a fase de progressão (Figura 4). A qualidade

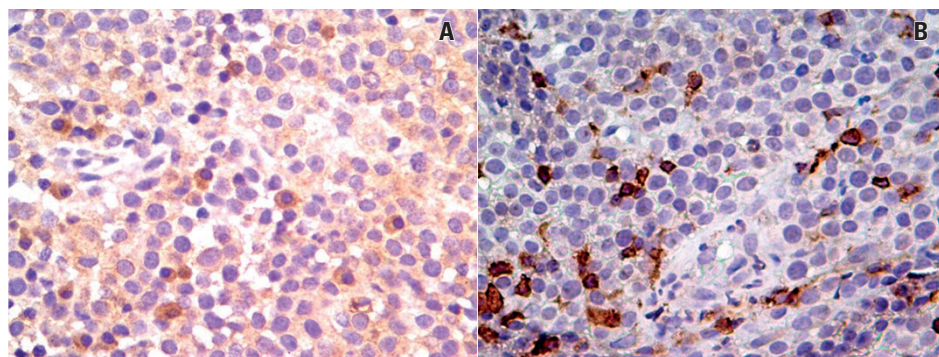


FIGURA 6. Análise imunoistoquímica mostrando baixa expressão de moléculas do MHC classe I e II na fase de progressão do TVTC. (A) MHC classe I. (B) MHC classe II. Contracoloração Hematoxilina de Meyer, 400x.

e a quantidade de estroma observado nos TVTCs naturais classificados histologicamente em fase de progressão foi diferente daqueles classificados em fase de regressão, que mostraram depósito expressivo de colágeno em substituição ao parênquima tumoral colapsado (Ballesterio *et al.* 2018; Duzanski 2017). Foi observado também uma baixa expressão de moléculas de MHC ($4,4 \pm 2\%$ classe I e $11 \pm 4,1\%$ classe II) na análise imunoistoquímica (Figura 6), corroborando com estudos experimentais que descrevem que aproximadamente 5% das células do TVTC expressam MHC I ou II durante a fase de progressão (Hsiao *et al.* 2002; Hsiao *et al.* 2008; Pérez *et al.* 1998).

O comportamento biológico do TVTC natural é incerto e diferente do tumor experimental. Embora uma fase de crescimento seguida de estabilização seja observada, a remissão espontânea em cães naturalmente acometidos pelo tumor não é documentada em estudos com acompanhamento clínico (Rogers 1997). Ainda, foi observada resistência quimioterápica no tumor classificado em fase de regressão (Ballesterio *et al.* 2018).

Portanto, há controvérsia acerca da regressão espontânea. A resposta imune local em TVTCs naturais e os eventos da interação entre células tumorais e hospedeiras foram pouco estudados. Ainda não está claro o papel central das células imunes na evolução clínica do tumor natural e também não há um consenso sobre os princípios que explicam por que os tumores naturais tem um comportamento biológico diferente do tumor induzido experimentalmente, apesar da contínua ação do sistema imune (Duzanski 2017). Evidências crescentes têm mostrado que a resposta imune gerada pelo hospedeiro pode moldar a imunogenicidade do tumor ao longo do tempo, dando origem a variantes resistentes à pressão exercida pela imunovigilância, num processo descrito como imunoeedição tumoral. Nesse processo as células tumorais continuam a se proliferar como células editadas, indetectáveis pela imunidade antitumoral, podendo levar a malignidade do tumor (Dunn *et al.* 2004; Sengupta *et al.* 2010).

O efeito do microambiente tumoral sobre as características funcionais das células imunes e as mudanças no perfil

biológico das células tumorais parecem influenciar o comportamento e o estágio do TVTC (Flórez *et al.* 2017). Foram descritos casos de metástases do TVTC em locais distantes como olhos, pele e tecido subcutâneo, tonsilas, cérebro, ossos, cavidades oral e nasal, glândula mamária, rins, baço, pâncreas, fígado, pulmão, ovários, testículos, embora sejam encontradas mais comumente nos linfonodos regionais e no períneo (Chikweto *et al.* 2013; Strakova y Murchison 2014). Uma vez que o MHC é fundamental na rejeição imunológica de cânceres transmissíveis (Murgia *et al.* 2006; Sengupta *et al.* 2010), a baixa expressão de moléculas do MHC I e II no tumor observada neste caso pode ter inibido o reconhecimento e a ação imune antitumoral, sendo determinante no momento da progressão do tumor e na formação de metástase para o baço. Além disso, fatores como microambiente tumoral e expressão gênica podem ter regulado o comportamento agressivo do TVTC (Ballesterio *et al.* 2018).

O TVTC é classificado como plasmocitóide, quando no mínimo 60% das células neoplásicas apresentam-se ovóides, com menor relação núcleo: citoplasma e núcleo excêntrico; linfocitóide, quando pelo menos 60% das células tumorais são arredondadas, mostram maior relação núcleo: citoplasma, núcleo redondo e central, assemelhando-se a linfócitos; ou misto, quando ambos os tipos celulares estão presentes (Amaral *et al.* 2004; Flórez *et al.* 2012). Neste estudo, a CAAF foi eficaz no diagnóstico do tumor e serviu para caracterizar o tipo citomorfológico neoplásico. O tumor genital mostrou celularidade mista entre os tipos celulares linfocitóide e plasmocitóide, sem que nenhum tipo citológico ultrapassasse 60% do total de oncócitos (Figura 2).

Estudos *in vitro* descrevem que tumores plasmocitóides possuem maior frequência de anormalidades nucleares e nucleolares, maiores índices mitóticos e de proliferação celular (marcador Ki-67), expressão de glicoproteína-P, além de menor quebra de DNA no teste do cometa. Acredita-se que este tipo é mais agressivo, e pode implicar maiores taxas de metástases e resistência à quimioterapia em comparação aos tumores linfocitóide e misto (Duzanski *et al.* 2017). De acordo com Simermann (2009), tumores plasmocitóide podem apresentar prolongamento no tempo de tratamento quimioterápico. Porém essa relação não tem sido sustentada por estudos clínicos que não encontraram nenhuma diferença entre os tipos citológicos do tumor e a resposta ao tratamento com sulfato de vincristina, assim como aos critérios de malignidade e metástases (Lima *et al.* 2013; Paranzini *et al.* 2015). Outros estudos mostraram ainda que tumores plasmocitóides apresentaram remissão completa com apenas três ou quatro sessões de quimioterapia com vincristina (Amaral *et al.* 2012; Duzanski 2017; Lima *et al.* 2013).

Neste estudo o TVTC de fenótipo celular misto não mostrou resposta à quimioterapia com vincristina na dose de 0,75 mg/m² após quatro sessões semanais seguidas de tratamento. Portanto, as observações dos estudos clínicos (Lima *et al.* 2013; Paranzini *et al.* 2015) somadas aos achados deste estudo levam a acreditar que fatores intrínsecos ao comportamento biológico do tumor, tais como quimioresistência e agressividade, não parecem estar associados unicamente ao tipo citológico do TVTC, sendo que são necessários estudos para melhor associar o subtipo tumoral ao seu comportamento biológico e estabelecer uma correlação positiva com o valor prognóstico. Apesar da população tumoral ser considerada sensível

a vincristina (Calvert *et al.* 1982; Hantrakul *et al.* 2014), há resistência em alguns casos, que parece ocorrer devido à superexpressão de glicoproteína-P pelas células tumorais, uma molécula que age no efluxo da droga (Floréz *et al.* 2017). Além disso, as células imunes que integram o microambiente tumoral têm sido estudadas e podem exercer influência na resposta clínica ao tratamento (Ballesterio *et al.* 2018). Outros mecanismos que se acredita estar relacionados ao comportamento maligno do tumor incluem mudanças em genes pró e anti-apoptótico da família BCL-2 e sistemas de reparo de DNA, associados à família TP53. Porém, este aspecto também foi pouco estudado no TVTC (Floréz *et al.* 2017).

A diferença de cariótipo entre as células normais do cão e as tumorais é bastante significativa. Enquanto no cão o cariótipo normal é de 78 cromossomos, dos quais 76 são acrocêntricos e um par sexual é metacêntrico (Ganguly *et al.* 2016), as células do TVTC exibem variação no número de cromossomos, entre 56 a 68 (Flórez *et al.* 2016), sendo que 15 ou 17 são metacêntricos e 42 ou 40 são acrocêntricos, e apesar disso a quantidade total de DNA permanece próxima do normal (Ganguly *et al.* 2016; Murgia *et al.* 2006; Strakova y Murchison 2015). Tais diferenças cromossômicas entre tumor e cão podem resultar de fusões equilibradas, que terminam em rearranjo de material genético (Murgia *et al.* 2006). Neste estudo, o genótipo tumoral não mostrou correlação com o genótipo do hospedeiro correspondente, sendo que caracterização citogenética do TVTC foi de 59 cromossomos. Isso demonstra que o TVTC é uma linhagem clonal de células cancerígenas transmitida em geração e não ocorre devido à transformação neoplásica das células somáticas do seu hospedeiro.

CONCLUSÃO

Neste estudo relatou-se um caso de tumor venéreo transmissível genital de fenótipo citológico misto com metástase para o baço e a resistência tumoral à quimioterapia com sulfato de vincristina. A associação dos dados clínicos, cito-histológico e imunoistoquímica possibilitou diagnosticar o TVTC metastático e em fase clínica de progressão. A baixa expressão de moléculas do MHC I e II no tumor pode ter colaborado no momento da progressão neoplásica por inibir mecanismos relacionados à rejeição imunológica. A cadela foi submetida à ovariopneumectomia e esplenectomia terapêutica e não apresentou recidiva do tumor após 12 meses de acompanhamento clínico.

Declaração de conflito de interesse

Os autores declararam nenhum potencial conflito de interesse com relação ao estudo, autoria ou publicação deste artigo.

REFERÊNCIAS

- Amaral AS, Gaspar LF, Bassini-Silva S, Rocha NS. 2004. Cytological diagnostic of transmissible venereal tumor in the Botucatu region, Brazil (descriptive study: 1994-2003). Rev. Port Ciênc Vet. 99(551): 167-71.
- Amaral AVC, Oliveira RFO, Silva APSM, Baylão ML, Luz LC, Sant'Ana FLF. 2012. Tumor venéreo transmissível intra-ocular em cão: relato de caso. Vet. e zootec. 19(1): 79-85.
- Ballesterio FH, Montoya FL, Yamatogi RS, Duzanski AP, Araújo JP, Oliveira RA, Rocha NS. 2018. Does the tumour microenvironment alter tumorigenesis and clinical response in transmissible venereal tumour in dogs. Vet Comp Oncol. 16(3): 370-378. Doi: 10.1111/vco.12388.
- Calvert CA, Leifer CE, MacEwen EG. 1982. Vincristine for treatment of transmissible venereal tumor in the dog. J Am Vet Med Assoc. 181(2): 163-4.
- Chandler JP, Yang TJ. 1981. Canine transmissible venereal sarcoma: distribution of T and B lymphocytes

- in blood, draining lymph nodes and tumors at different stages of growth. *Bra J Cancer*. 44(4): 514-21. Doi: 10.1038/bjc.1981.220.
- Chikweto A, Kumthekar S, Larkin H, Keshaw CDP, Sharma TRN, Bhaiyat MI. 2013. Genital and Extragenital Canine Transmissible Venereal Tumor in Dogs in Grenada, West Indies. *OJVM*. 3(2): 111-114. Doi: 10.4236/ojvm.2013.32018.
- Chu RM, Lin CY, Liu CC, Yang SY, Hsiao YW, Hung SW, Pao HN, Liao KW. 2001. Proliferation characteristics of canine transmissible venereal tumor. *Anticancer Res*. 21: 4017-4024.
- Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. 2004. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 21(2): 137-148. Doi: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
- Duzanski AP. 2017. Interação entre hospedeiro e tumor venéreo transmissível canino: diversidade de células mononucleares e do complexo principal de histocompatibilidade [dissertação]. [Botucatu (SP)]: Universidade Estadual Paulista.
- Duzanski AP, Fêo HB, Montoya LM, Seullner CV, Rocha NS. 2017. Canine Transmissible Venereal Tumor: Is its biological behavior changing? *Anat Rec (Hoboken)*. 300(6): 1009-1010. Doi: 10.1002/ar.23527.
- Flórez MM, Pedraza F, Grandi F, Rocha NS. 2012. Cytologic subtypes of canine transmissible venereal tumor. *Vet Clin Pathol*. 41(1): 4-5. Doi: 10.1111/j.1939-165X.2012.00401.x.
- Flórez LMM, Ballesterio HF, Duzanski AP, Paulo RO, Bersano PRO, Lima JF, Cruz FL, Mota LS, Rocha NS. 2016. Immunocytochemical characterization of primary cell culture in canine transmissible venereal tumor. *Pesq. Vet. Bras*. 36(9): 844-850. Doi: 10.1590/s0100-736x2016000900009.
- Flórez LMM, Fêo HB, Silva GN, Yamatogi RS, Aguiar AJ, Araújo JP, Rocha NS. 2017. Cell cycle kinetics, apoptosis rates and gene expressions of MDR-1, TP53, BCL-2 and BAX in transmissible venereal tumour cells and their association with therapy response. *Vet Comp Oncol*. 15(3): 793-807. Doi: 10.1111/vco.12220.
- Ganguly B, Das U, Das K. 2016. Canine transmissible venereal tumour: a review. *Vet Comp Onc*. 14(1): 1-12. Doi: 10.1111/vco.12060.
- Hantrakul S, Klangkaew N, Kunakornsawat S, Tansatit T, Poapolathep A, Kumagai S, Poapolathep S. 2014. Clinical pharmacokinetics and effects of vincristine sulfate in dogs with transmissible venereal tumor (TVT). *J Vet Med Sci*. 76(12): 1549-1553. Doi: 10.1292/jvms.14-0180.
- Horta RS, Viana AAS, Queiroz AT, Lavalle GE, Araujo MR, Araujo RB. 2012. Diagnostico diferencial entre sarcoma histiocítico e tumor venéreo transmissível com disseminação extragenital-relato de caso. *Clínica vet*. 98: 96-102.
- Hsiao YW, Liao KW, Hung SW, Chu RM. 2002. Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. *Vet Immunol Immunopathol*. 87(1-2): 19-27. Doi: 10.1016/s0165-2427(02)00026-0.
- Hsiao YW, Liao KW, Hung SW, Chu RM. 2004. Tumor-infiltrating lymphocyte secretion of IL-6 antagonizes tumor-derived TGF- β 1 and restores the lymphokine-activated killing activity. *J Immunol*. 172(3): 1508-1514. Doi: 10.4049/jimmunol.172.3.1508.
- Hsiao YW, Liao KW, Chung TF, Liu CH, Hsu CD, Chu RM. 2008. Interactions of host IL-6 and IFN- γ and cancer-derived TGF- β 1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression. *Cancer Immunol Immunother*. 57(7): 1091-1104. Doi: 10.1007/s00262-007-0446-5.
- Liao K, Hung S, Hsiao Y, Bennett M, Chu R. 2003. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet Immunol Immunopathol*. 92(3-4): 149-162. Doi: 10.1016/s0165-2427(03)00032-1.
- Lima CRO, Rabelo RE, Vulcani VAS, Furtado AP, Helrigel PA, Brito LAB, Moura VMBD. 2013. Morphological patterns and malignancy criteria of transmissible venereal tumor in cytopathological and histopathological exams. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 50(3): 238-246.
- Metzger MJ, Villalba A, Carballal MJ, Iglesias D, Sherry J, Reinisch C, Muttray AF, Baldwin SA, Goff SP. 2016. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species. *Nature*. 534(7609): 705-709. Doi: 10.1038/nature18599.
- Murgia C, Pritchard JK, Kim SY, Fassati A, Weiss RA. 2006. Clonal origin and evolution of a

- transmissible cancer. *Cell*. 126(3): 477-87. Doi: 10.1016/j.cell.2006.05.051.
- Paranzini CS, Sant'anna MC, Di Santis GW, Martins MIM. 2015. Prevalence of different cytomorphological types of transmissible venereal tumours and the association with prognosis in dogs treated with vincristine sulphate—Retrospective study. *Semina: Ciênc Agr*. 36(6): 3795-3800. Doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n6p3795.
- Pérez J, Day MJ, Mozos E. 1998. Immunohistochemical study of the local inflammatory infiltrate in spontaneous canine transmissible venereal tumour at different stages of growth. *Vet Immunol Immunopathol*. 64(2): 133-147. Doi: 10.1016/s0165-2427(98)00131-7.
- Rocha NS, Tremori TM, Carneiro JAM. 2014. Fine Needle Aspiration Cytology in the Diagnosis of Canine Cutaneous Transmissible Venereal Tumor—Case Report. *OJVM*. 4: 204-209. Doi: 10.4236/ojvm.2014.49024.
- Rogers KS. 1997. Transmissible venereal tumor. *Comp Cont Educ Pratic Vet*. 19(9): 1036-1045.
- Santos FGA, Vasconcelos AC, Nunes JES, Casali GD, Paixão TA, Martins AS, Moro L. 2008. Apoptosis in the transplanted canine transmissible venereal tumor during growth and regression phases. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 60(3): 607-612. Doi: 10.1590/S0102-09352008000300013.
- Sengupta N, MacFie TS, MacDonald T^T, Pennington D, Silver AR. 2010. Cancer immunediting and “spontaneous” tumor regression. *Pathol Res Pract*. 206(1): 1-8. Doi: 10.1016/j.prp.2009.10.001.
- Simermann NFS. 2011. Sulfato de vincristina no tratamento do tumor venéreo transmissível frente à caracterização citomorfológica. [Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária]. [Goiânia, Brasil]: Universidade Federal de Goiás.
- Sousa J, Saito V, Nardi AB, Rodaski S, Guérios SD, Bacila M. 2000. Características e incidência do tumor venéreo transmissível (TVT) em cães e eficiência da quimioterapia e outros tratamentos. *Arch Vet Sci*. 5: 41-48. Doi: 10.5380/avs.v5i1.3884.
- Stockmann D, Ferrari HF, Andrade AL, Lopes RA, Cardoso TC, Luvizotto MCR. 2011. Canine transmissible venereal tumours: aspects related to programmed cell death. *BJVP*. 4: 67-75.
- Strakova A, Murchison EP. 2014. The changing global distribution and prevalence of canine transmissible venereal tumour. *BMC Vet Res*. 10: 168. Doi: 10.1186/s12917-014-0168-9.
- Strakova A, Murchison EP. 2015. The cancer which survived: insights from the genome of an 11000 year-old cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 30: 49-55. Doi: 10.1016/j.gde.2015.03.005.

Article citation

Duzanski AP, Ortiz AD, Fêo HB, Fonseca MW, Flórez MM, Rodrigues LT, Michelon F, Rocha NS. 2019. Tumor venéreo transmissível canino com resistência quimioterápica e metástase esplênica. Relato de caso. [Canine transmissible venereal tumor with chemotherapy resistance and splenic metastasis. Case report]. *Ver Med Vet Zoot*. 66(3): 260-271 Doi: 10.15446/rfmvz.v66n3.84262.