

O TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO – ASPECTOS GERAIS E ABORDAGENS MOLECULARES (REVISÃO DE LITERATURA)

THE CANINE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR - GENERAL ASPECTS AND MOLECULAR APPROACH (REVIEW)

Francisco Glauco de Araújo SANTOS¹; Anilton Cesar VASCONCELOS²; Jairo Eduardo dos Santos NUNES³; Geovanni Dantas CASSALI⁴; Tatiane A. PAIXÃO⁵; Luciana MORO⁶

RESUMO: O tumor venéreo transmissível canino (TVTC) é uma neoplasia indiferenciada de células redondas cujo crescimento é rápido. Em animais adultos e saudáveis o tumor tende a regredir espontaneamente. Em animais jovens ou imunossuprimidos essa neoplasia pode metastatizar para outros órgãos. Uma característica marcante desse tumor é o fato dele ser de fácil transplantação e rápido crescimento propiciando a oportunidade de utilização de marcadores de proliferação celular e estudo da cinética tumoral. Sua regressão espontânea abre uma perspectiva para o estudo da morte celular por apoptose. Além disso, o TVTC, é um excelente modelo para o estudo da interação entre a imunidade do hospedeiro e o crescimento tumoral.

UNITERMOS: Tumor venéreo transmissível canino; Marcadores de proliferação celular; Apoptose.

LITERATURA

O tumor venéreo transmissível canino (TVTC)

O TVTC é uma neoplasia indiferenciada de células redondas e de ocorrência natural que afeta primariamente a mucosa genital de cães de ambos os sexos (BABO; BERNARDO, 1999; CHU et al., 2001; DAS; DAS, 2000). O TVTC apresenta distribuição mundial sendo mais comum em regiões tropicais e subtropicais (DAS; DAS, 2000; KENNEDY; MILLER, 1993). No Brasil, tem sido relatado nos Estados de São Paulo (DALECK et al., 1987), Minas Gerais (MUNDIM; FERREIRA; SANTOS, 1987; SANTOS et al. 1998; ZEZZANETO; FELIX; ALVES JÚNIOR, 1995) e Mato Grosso do Sul (BABO; BERNARDO, 1999).

A histogênese do TVTC é controversa. Acredita-se que o primeiro clone de células tenha se originado de mutações induzidas por vírus, substâncias químicas ou radiação em células linfocíticas. Este clone de células

tumorais teria então se disseminado pelos cães através de transplantação alogênica (NIELSEN; KENNEDY, 1990). As células do TVTC apresentam imunorreatividade à lisozima, à antitripsina alfa 1 e ao antígeno ACM1 (anticorpo monoclonal murino contra macrófagos de cão) corroborando a hipótese de que esta neoplasia tenha um imunofenótipo histiocítico (GONZALEZ et al., 2000; MARCHAL et al., 1997; MOZOS et al., 1996). Recentemente, detectaram-se amastigotas de *Leishmania* no citoplasma de células do TVTC primário extra-genital de ocorrência natural (ALBANESE et al., 2002). Esse achado reforça ainda mais a possível origem histiocítica do TVTC.

Transmissão

O TVTC é uma neoplasia alogênica transmitida através de células vivas, não requerendo a transformação das células do hospedeiro (DAS; DAS, 2000; NIELSEN; KENNEDY, 1990). O tumor pode ser transmitido pelo

¹ Doutor, Professor Adjunto da UFAC.

² PHD, Professor Adjunto ICB/UFMG.

³ Doutorando na Texas Agricultural and Mechanical University College Station, Texas, EUA.

⁴ Doutor, Professor Adjunto ICB/UFMG.

⁵ Mestranda na Escola de Veterinária da UFMG.

⁶ Doutora, Professora Adjunta ICB/UFMG.

Received: 06/04/05

Accept: 20/06/05

coito ou ser transplantado mecanicamente através de lambedura, mordedura e arranhões. Para que o tumor se desenvolva é necessário que a pele e a mucosa apresentem escoriações ou solução de continuidade. A deposição de células tumorais sobre a pele e mucosa íntegras não permite o crescimento do TVTC (COHEN, 1978; DAS; DAS, 2000).

Sinais Clínicos

Os sinais clínicos incluem: descarga vaginal ou prepucial intermitente ou persistente, tumefação genital, lambedura excessiva na área genital, odor ou aparecimento de massas neoplásicas visíveis. A descarga serossanguinolenta ou hemorrágica pode ser confundida inicialmente com estro, uretrite, cistite ou prostatite. O tumor apresenta coloração branco-acinzentada a avermelhada devido à intensa vascularização. Hemorragias são comuns em decorrência da natureza friável da massa tumoral (RICHARDSON, 1981; ROGERS, 1997; THEILEN; MADEWELL, 1979). O TVTC de ocorrência natural pode ser único ou múltiplo estando, quase sempre, localizado na genitália externa. O TVTC pode ter a forma de couve-flor ou ser pedunculado, nodulado, papilar ou multilobulado. Seu

tamanho varia entre 5 mm e 10 cm, podendo ser ainda maior. A superfície pode se apresentar ulcerada ou necrosada, inclusive com infecção bacteriana (CALVERT, 1983; CALVERT, 1984; KENNEDY; MILLER, 1993; NIELSEN; KENNEDY, 1990; ROGERS, 1997; VERMOOTEN, 1987).

Localização genital

No macho, o TVTC é encontrado principalmente na região posterior do pênis. Quando localizado na glândula, pode se exteriorizar pela abertura prepucial. O tumor pode acometer a porção posterior do prepúcio (Fig.1), dificultando sua visualização (RICHARDSON, 1981). Fimose e parafimose podem complicar esta neoplasia (THEILEN; MADEWELL, 1979).

Na fêmea, a lesão inicial situa-se freqüentemente na submucosa da região dorso-posterior da vagina, na junção com o vestíbulo, sob a forma papilar ou papular. O tumor pode envolver o orifício uretral. Se o TVTC estiver dentro da vagina pode se exteriorizar na vulva. Uma seqüela rara do TVTC localizado na vagina é a disúria (KENNEDY; MILLER, 1993; NIELSEN; KENNEDY, 1990; ROGERS, 1997; VERMOOTEN, 1987).



Figura 1. Aspecto macroscópico de tumor venéreo transmissível canino naturalmente adquirido, com localização genital, acometendo principalmente a porção posterior do prepúcio.

Localização extragenital

O TVTC extragenital pode envolver as cavidades bucal e nasal e a pele ou tecido subcutâneo da cabeça, pescoço, membros e tronco. TVTCs extragenitais cutâneos são bem circunscritos e medem entre 2 a 5 cm de diâmetro. TVTCs nos lábios são similares àqueles do aparelho genital (BABO; BERNARDO, 1999; DAS; DAS, 2000). Na cavidade bucal e tonsilas, assemelham-se aos genitais, porém tendem a ser mais difusos e menos pedunculados ou lobulados (THEILEN; MADEWELL, 1979). TVTCs de cavidade bucal ou de tecido subcutâneo raramente ulceram (ROGERS, 1997). A localização nasal está usualmente associada com espirros e epistaxe (CALVERT, 1984). O crescimento orbital do tumor pode levar à cegueira (DAS; DAS, 2000). Em consequência de TVTCs extragenitais podem ser observadas linfadenopatia regional ou distante, tumefação cutânea ou subcutânea, dificuldade de mastigação e deformação facial (ROGERS, 1997). Tumores extragenitais podem ocorrer isoladamente ou em concomitância com TVTC genital (DAS; DAS, 2000; RICHARDSON, 1981).

Metástases

As metástases são raras (< 5%) e acometem usualmente os linfonodos inguinais superficiais e lombares nos machos e o ilíaco interno nas fêmeas. São também encontradas nos rins, baço, olhos, cérebro, hipófise, pele, tecido subcutâneo, linfonodos mesentéricos e peritônio (CALVERT, 1984; DASS *et al.*, 1986; MUNDIM; FERREIRA; SANTOS, 1987; RICHARDSON, 1981). O envolvimento da câmara ocular anterior originado da íris e do corpo ciliar ocorre por metástase via hematogena (DAS; DAS, 2000; NIELSEN; KENNEDY, 1990; YANG, 1987).

Imunidade

O TVTC transplantado experimentalmente exibe um padrão de desenvolvimento assaz previsível que inclui: crescimento progressivo seguido de breve fase estática e regressão (CHANDLER; YANG, 1981). Embora o TVTC seja oriundo de células transplantadas, inicialmente o sistema imune do hospedeiro é incapaz de destruir os oncócitos, permitindo o crescimento do tumor (LIAO *et al.*, 2003). Na fase de crescimento do TVTC, o cão mostra sinais de supressão da resposta imune (HESS *et al.*, 1975). Liao *et al.* (2003) demonstraram que a inoculação de células de TVTC induz a redução de linfócitos B na

população de leucócitos circulantes. Segundo estes autores, as células do TVTC secretam uma (ou mais) proteína tóxica que induz especificamente a apoptose de linfócitos B. A secreção dessa substância pode explicar, em parte, como o TVTC prejudica a imunidade humoral na fase de crescimento progressivo. Além disso, os oncócitos se tornam capazes de escapar da vigilância imunológica (LIAO *et al.*, 2003). Cães com TVTC experimental (POWERS, 1966; VERMOOTEN, 1987) ou de ocorrência natural (CALVERT, 1983; HARMELIN; ZUCKERMAN; NYSKA, 1995; HIGGINS, 1966; YANG; CHANDLER; DUNNEANWAY, 1987) em regressão desenvolvem imunidade ativa, tornando-se refratários às transplantações subsequentes quando a vigilância imunológica é eficiente (ZEZZA NETO; FELIX; ALVES JÚNIOR, 1995). A regressão se deve à formação de IgG no soro dos cães, após um período de 40 dias, que coincide com o término do crescimento tumoral. A concentração de IgG aumenta durante o curso da neoplasia. Linfócitos periféricos de cães com tumor em regressão apresentam citotoxicidade para as células do TVTC. Linfócitos periféricos de cães normais ou daqueles nos quais o tumor está em fase de crescimento não apresentam essa ação (CHANDLER; YANG, 1981; COHEN, 1980).

Já se observou que a expressão de moléculas de MHC de classes I e II é usualmente baixa no TVTC em fase de crescimento, aumentando muito durante a regressão tumoral (HSIAO *et al.*, 2002). Hsiao *et al.* (2002) observaram que os linfócitos que infiltram o tumor produzem substâncias que promovem a expressão de moléculas de MHC pelos oncócitos.

Em cães adultos e saudáveis, os TVTCs regredem espontaneamente ao atingirem três a seis meses (HIGGINS, 1966) e um diâmetro variando entre dois a três centímetros (CALVERT, 1984). A regressão tumoral está associada a: edema, hemorragia, necrose (COHEN, 1978; NIELSEN; KENNEDY, 1990) e apoptose de oncócitos (SANTOS, 2002; SANTOS *et al.*, 2001) e à presença de um infiltrado linfoplasmocitário (COCKRILL; BEASLEY, 1975; COTTER *et al.*, 1990; NIELSEN; KENNEDY, 1990; PÉREZ; DAY; MOZOS, 1998; SANTOS, 2002). O número e o tipo das células no infiltrado inflamatório se correlacionam com a fase do crescimento do tumor. A área de focos inflamatórios em tumores em crescimento e em regressão também variam. Nos tumores em fase de regressão, a área do infiltrado inflamatório é significativamente maior do que na fase de crescimento (SANTOS, 2002).

Diagnóstico

O diagnóstico do TVTC é baseado na anamnese e nos exames macro e microscópico da lesão (BROWN; CALVERT, 1981). Histologicamente não se observa diferença qualitativa entre os tumores de localização genital e extra-genital (CALVERT, 1984; DALECK *et al.*, 1987; DASS *et al.*, 1986; HARMELIN; ZUCKERMAN; NYSKA, 1995; MUNDIM;

FERREIRA; SANTOS, 1987; ODUYE *et al.*, 1973; SANTOS, 1998; SANTOS *et al.*, 1998; VERMOOTEN, 1987; YANG; CHANDLER; DUNNE-ANWAY, 1987). Porém, de acordo com o estágio de evolução observam-se alterações histopatológicas qualitativas (SANTOS, 2002). Durante o estágio de crescimento (Fig. 2), o TVTC compõe-se de folhetos de células tumorais com estroma bem vascularizado, usualmente escasso, similarmente ao encontrado em histiocitoma e linfossarcoma.

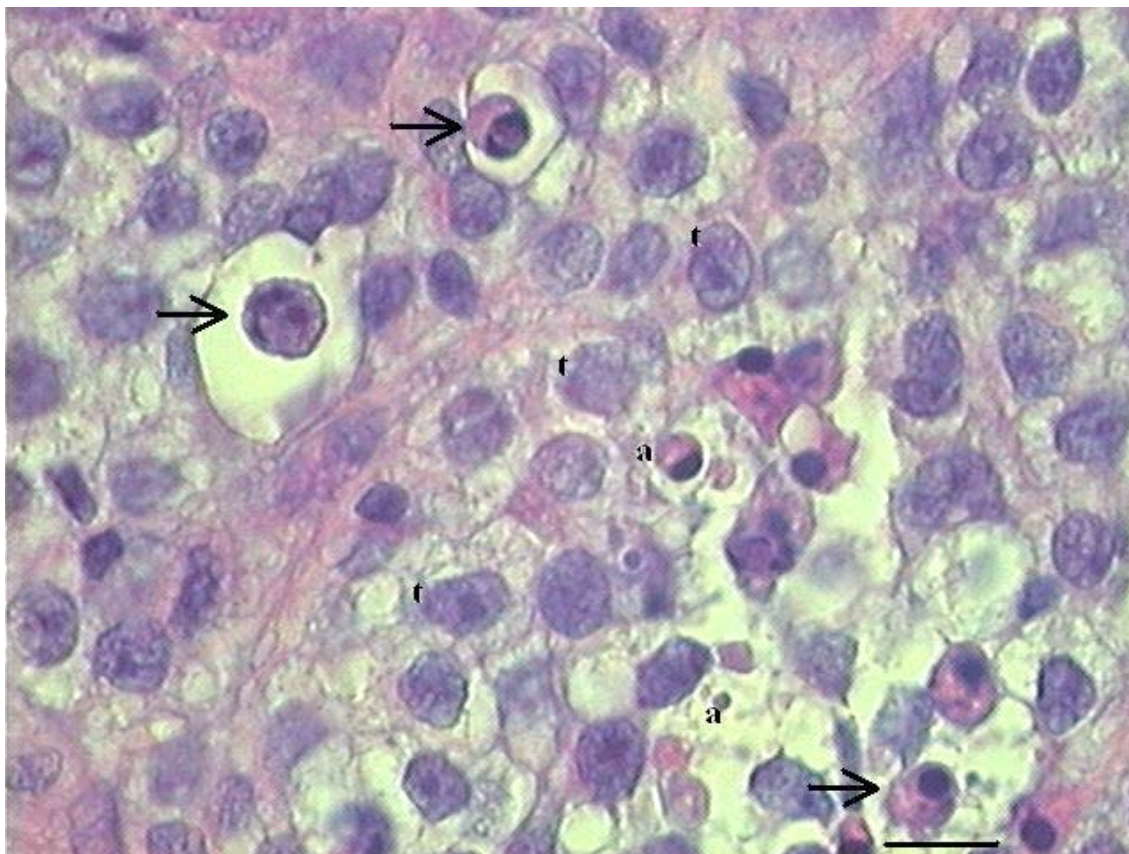


Figura 2. Micrografia de tumor venéreo transmissível canino em fase de crescimento corado em HE – Notar células tumorais (t) grandes e uniformes com núcleo único, grande e vesicular e nucléolo único e excêntrico; células apoptóticas (setas) e corpos apoptóticos (a) (HE, barra = 10 µm)

As células tumorais são grandes, poliédricas, redondas ou ovais e de dimensões uniformes. O núcleo é único e grande, vesicular (ocasionalmente grande e bizarro); o nucléolo é único e excêntrico. Morfometricamente, já se observou que os TVTCs extragenitais apresentam áreas nucleares e nucleolares maiores que as dos TVTCs genitais (SANTOS, 1998; SANTOS *et al.*, 1998). Numerosas figuras de mitose (seis a oito por campo) são freqüentes na fase de crescimento. O citoplasma é mal definido e se cora palidamente (Fig. 2). Fibras reticulares podem circunscrever pequenos

grupos de células em algumas áreas, mas não há evidências de que as células tumorais as produzam (NIELSEN; KENNEDY, 1990; VERMOOTEN, 1987). Tumores mais antigos, em fase de regressão, apresentam diminuição no número de células tumorais até seu eventual desaparecimento. Estes tumores são mais firmes e contêm mais tecido fibroso. A maioria dos tumores é circundada por uma cápsula de tecido conjuntivo (NIELSEN; KENNEDY, 1990; SANTOS, 2002).

A confirmação microscópica se faz através de exame citológico de esfregaços da descarga genital e/ou

“imprints” de fragmentos do tumor (CALVERT, 1984). Em “imprints” (Fig. 3) ou em esfregaços obtidos por aspiração com agulha fina de fragmentos do tumor, corados pelo Giemsa, observam-se células grandes, de esféricas a poliédricas ou ovais, de tamanho uniforme e com núcleo único. O núcleo apresenta um padrão delicado de cromatina; o nucléolo é grande, proeminente, central ou excêntrico. O citoplasma é abundante, de coloração azul clara ou incolor, contendo vacúolos claros múltiplos, pequenos e distintos, freqüentemente dispostos em cadeia (CALVERT, 1984; DAS; DAS, 2000; DUNCAN; PRASSE, 1979; RICHARDSON, 1981; ROGERS, 1997). Para Duarte (2002), os “imprints” representam uma ferramenta rápida, eficiente, de baixo custo e relativamente simples para o diagnóstico do TVTC. Isto

porque essa técnica é o suficiente para detectar os vacúolos claros intra-citoplasmáticos característicos desta neoplasia (DUNCAN; PRASSE, 1979). Este procedimento permite que o diagnóstico seja feito com sucesso até mesmo ao nível de clínicas e consultórios (DUARTE, 2002). Supõe-se que a natureza do conteúdo desses vacúolos seja água, uma vez que o estudo cito e histoquímico do TVTC não evidenciou material de natureza lipídica, glicídica ou protéica no seu interior (DUARTE, 2002). Nos “imprints”, ainda podem ser visualizados numerosos oncócitos em mitose, células inflamatórias (linfócitos, plasmócitos, macrófagos e neutrófilos) (CALVERT, 1984; DAS; DAS, 2000; DUNCAN; PRASSE, 1979; RICHARDSON, 1981; ROGERS, 1997), células apoptóticas e corpos apoptóticos (Fig. 3).

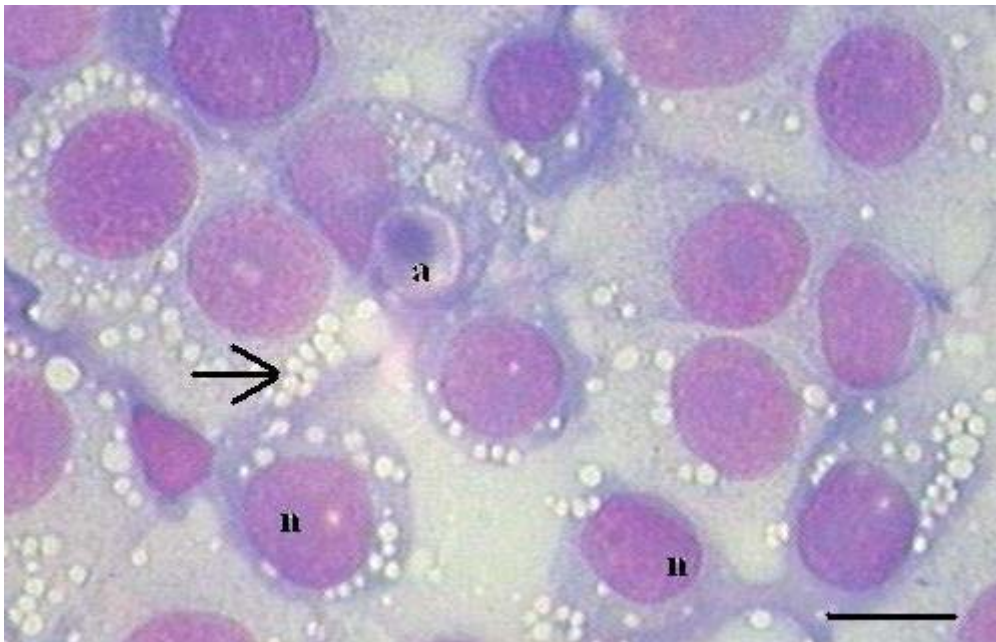


Figura 3. Micrografia de “Imprint” de TVTC corado pelo Giemsa. Células e núcleos arredondados ou ovalados, contendo nucléolos únicos e excêntricos (n). Citoplasma discretamente corado, finamente granular, contendo vacúolos claros e bem definidos (seta). Corpo apoptótico (a) fagocitado por oncócito (canibalismo celular) (Barra = 10 µm).

Diagnóstico Diferencial

O TVTC, quando de localização extragenital, deve ser diferenciado do: (1)- Histiocitoma, a neoplasia mais comum de pele em cães jovens, cujas células apresentam arranjo difuso (THEILEN; MADEWELL, 1979) e o número normal de cromossomos na cariotipagem; (2)- Linfossarcoma linfoblástico cutâneo, cujas células se dispõem em nódulos e são menores do que as do TVTC, com grumos de cromatina e carioteca mais claras,

nucléolos evidentes, pequenos e múltiplos (MOULTON; HARVEY, 1990). À imunohistoquímica, marcadores de superfície e intracitoplasmático para linfócitos podem diferenciá-lo do TVTC; (3)- Mastocitoma pouco diferenciado, um tumor que tem a pele da genitália externa como local de predileção, mas que se apresenta com granulações metacromáticas evidenciáveis pelas técnicas de Giemsa, azul de toluidina ou ácido periódico de Schiff - PAS (NIELSEN; KENNEDY, 1990). A transplantação experimental e as análises citológica (vacúolos claros

típicos) e cromossômica podem auxiliar nos casos de difícil diagnóstico (RICHARDSON, 1981). Em animais mais velhos devem ser excluídas neoplasias da bexiga urinária e uretra (THEILEN; MADEWELL, 1979).

Microscopia Eletrônica de Transmissão

A característica ultraestrutural é semelhante à dos tumores linforreticulares. Os núcleos são grandes, arredondados ou ovais, com membrana nuclear irregular e, algumas vezes, com invaginação (COCKRILL; BEASLEY, 1975). O nucleoplasma é usualmente homogêneo, exceto onde a cromatina grumosa recobre internamente a carioteca. O nucléolo é grande, geralmente único, típico e proeminente. O citoplasma é abundante com muitos ribossomos, sob a forma de polissomos ou aglomerados, os lisossomos são pequenos, o retículo endoplasmático e as mitocôndrias são grandes, sendo estas últimas arredondadas ou ovais, contendo poucas cristas. O aparelho de Golgi é pequeno, paranuclear e associado aos centríolos. Observam-se ainda grânulos elétron-densos e vacúolos (RICHARDSON, 1981). A membrana plasmática emite projeções que se interdigitam com as células adjacentes (COCKRILL; BEASLEY, 1975; NIELSEN; KENNEDY, 1990; RICHARDSON, 1981; SANTOS, 2002).

Cariótipo

Quanto ao cariótipo, o número diplóide no cão normal consiste de 78 cromossomos, sendo 76 autossomos acrocêntricos e um par sexual (X,Y) metacêntrico. No TVTC, este cariótipo está alterado, apresentando de 57 a 64 cromossomos no total (COHEN, 1978; PINHEIRO *et al.*, 1986). Destes, 16 ou 17 são metacêntricos e 42 ou 43 são acrocêntricos. Embora o número de cromossomos nas células do TVTC seja menor que o das células normais, a quantidade total de DNA e o número de braços dos cromossomos da célula tumoral aproximam-se daqueles valores encontrados nas células normais (BROWN; CALVERT, 1981; COHEN, 1978).

Marcadores de Proliferação Celular

O TVTC é um excelente modelo para a pesquisa da interação entre a imunidade do hospedeiro e o crescimento tumoral (LIAO *et al.*, 2003). Considerando o fato deste tumor ser de fácil transplantação e crescimento, o TVTC pode se tornar um forte candidato para a pesquisa da biologia da célula neoplásica. Embora

amplamente distribuído e relatado, pouco se sabe a respeito dos aspectos moleculares do TVTC. Desta forma, seria importante realizar uma avaliação dos marcadores de proliferação e de morte celular que permitam aprofundar os conhecimentos acerca do TVTC, além de abrir perspectivas na sua utilização como modelo experimental para o estudo de neoplasias.

Entre os marcadores de proliferação celular ora utilizados, podem ser ressaltados: [i] índice mitótico; [ii] técnica de AgNOR e [iii] anticorpo Ki-67.

Classicamente, utiliza-se a contagem de figuras de mitose e o cálculo do índice mitótico para a identificação de células em proliferação (KREIPE *et al.*, 1995). Como a contagem de figuras de mitose nem sempre oferece uma boa indicação da proliferação celular (ELSTON; ELLIS, 1991), alguns métodos alternativos têm sido propostos para a identificação de células em proliferação. Dentre esses métodos citam-se a técnica de AgNOR e o anticorpo Ki-67 (MIB 1). Ambos foram utilizados por Santos (2002) para avaliar a proliferação celular em TVTC transplantado experimentalmente.

As regiões organizadoras de nucléolos coradas pela prata (AgNORs), nas células eucarióticas, são definidas como proteínas ácidas não-histonas localizadas próximas a segmentos cromossômicos nos quais o ácido ribonucleico ribossômico (rRNA) é codificado (CROCKER; NAR, 1987; DERVAN *et al.*, 1989; HERNANDEZ-VERDUN; ROUSSEL, 1995; RÜSCHOFF *et al.*, 1989; UNDERWOOD; GIRI, 1988).

No cão, as AgNORs estão exclusivamente localizadas nas regiões teloméricas dos cromossomos 7, 8, 27 e algumas vezes no 38 (KOPP; MAYR; SCHLEGER, 1982). As regiões análogas no núcleo interfásico podem ser facilmente demonstradas usando o mesmo processo de coloração pela prata (RÜSCHOFF *et al.*, 1989).

À microscopia óptica, as AgNORs apresentam-se como pontos escuros bem definidos, medindo de 0,5 a 1,0 μm de diâmetro, em número e formas variáveis, primariamente no nucléolo, e também como “satélites” no núcleo. Nas células em interfase os pontos estão distribuídos exclusivamente através do nucléolo corado (AUBELE *et al.*, 1994; DE VICO; PAPPARELLA; DI GUARDO, 1994; TRERÈ, 1993). Cada grânulo de AgNOR pode ser considerado como uma unidade transcricionalmente ativa (PLOTON, 1994).

A avaliação das AgNORs pode ser feita através de contagem, mensuração de sua área e análise de sua distribuição no núcleo (RÜSCHOFF *et al.*, 1994). A morfometria computadorizada constitui uma ferramenta muito útil na avaliação das AgNORs no TVTC

(SANTOS, 1998; SANTOS *et al.*, 1998). Os TVTCs de ocorrência genital e extragenital (SANTOS, 1998; SANTOS *et al.*, 1998) e os transplantados (SANTOS, 2002) apresentam padrão qualitativo igual quanto à distribuição, organização e morfologia das AgNORs, tanto no núcleo, quanto no nucléolo (Fig. 4).

Porém, já se observou que a área total de AgNORs no núcleo e no nucléolo e a contagem na tela de AgNORs no núcleo são significativamente maiores para os TVTCs de localização extragenital quando

comparados com os de localização genital (SANTOS, 1998; SANTOS *et al.*, 1998). Já se demonstrou também que o número e a área total de AgNORs no núcleo foram maiores nos TVTCs transplantados em crescimento do que naqueles em fase de regressão (SANTOS, 2002).

(A). AgNORs isoladas e difusas.

(B). AgNORs preenchendo todo o nucléolo.

(C). AgNORs agrupadas em cordões.

(D). AgNORs dispostas em satélite.

(E). AgNORs agrupadas em colares.

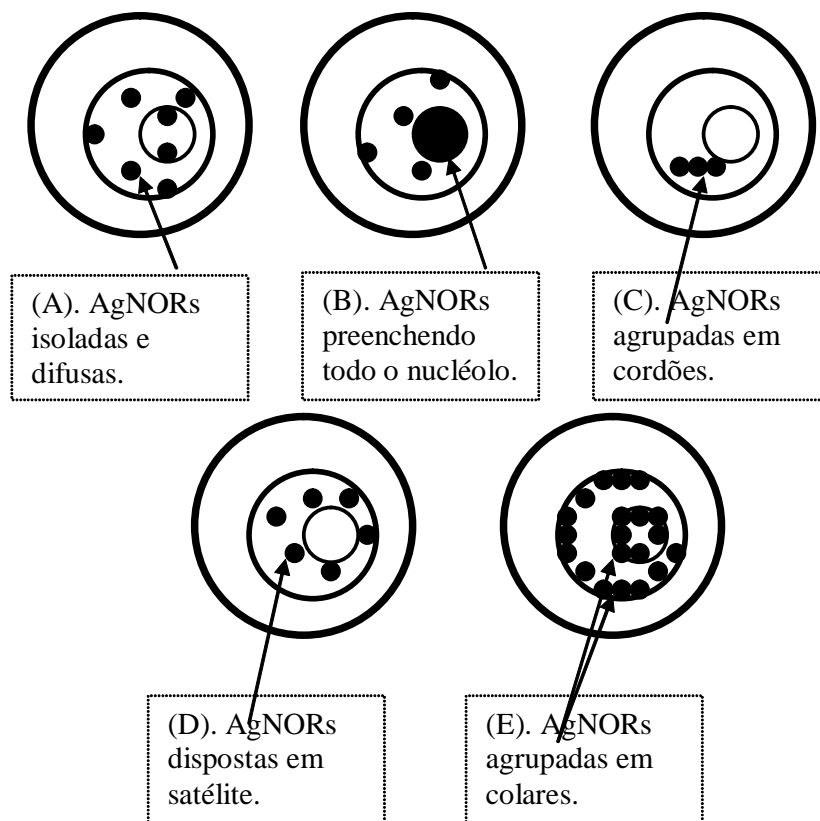


Figura 4. Esquema de distribuição das AgNORs no núcleo e nucléolo em tumor venéreo transmissível canino de ocorrência genital e extragenital.

O antígeno nuclear Ki-67 é um complexo bimolecular, produto de uma seqüência gênica que codifica uma proteína não-histona de 345-395 kDa (QUINN; WRIGHT, 1990). Parece que o Ki-67 faz parte da matriz do DNA, sendo responsável pela condensação dos cromossomos e fragmentação do envelope nuclear durante a divisão celular (LÖHR *et al.*, 1997).

O gene que codifica o Ki-67 é expresso durante todo o ciclo celular, exceto no início de G_1 e G_0 . A sua expressão aumenta na segunda metade da fase S, alcançando o máximo em G_2 e M (QUINN; WRIGHT, 1990).

O antígeno Ki-67 tem meia-vida curta, sendo degradado uma hora ou menos após a mitose. Isto garante que as células que já tenham saído do ciclo celular não apresentem o antígeno. A marcação do Ki-67 é uma estimativa bastante aproximada da fração de crescimento de uma população celular (ALVES; BACCHI; VASSALO, 1999).

A imunomarcação com MIB 1 (Ki-67) em TVTCs em crescimento e regressão mostra que a porcentagem de células marcadas decresce significativamente quando o tumor involui (SANTOS, 2002).

Apoptose e Marcadores de Morte Celular

A apoptose é um tipo ativo de morte celular, geneticamente direcionado, requerendo síntese protéica (WYLLIE; KERR; CURRIE, 1980). A apoptose, quando balanceada com a proliferação celular, contribui com a homeostasia na regulação do tamanho dos tecidos (KERR, 1993; KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972). Esse tipo de morte celular conservado na evolução permite a eliminação de células indesejáveis sem prejuízo para o organismo. O crescimento tumoral “in vivo” depende da evasão dos mecanismos homeostáticos de controle que operam via indução de morte celular por apoptose (WRIGHT; ZHONG; LARRICK, 1994). Sua indução, seja através de mecanismos imunológicos, seja por outros mecanismos homeostáticos específicos, parece ser de extrema importância no processo de eliminação de células sofrendo transformação maligna. Danos irreparáveis do DNA (por mutação ou infecções virais) aparentemente iniciam o processo de apoptose (VASCONCELOS;

VASCONCELOS, 1995). Além da prevenção da oncogênese, a ocorrência de apoptose nas neoplasias já estabelecidas, pode ser considerada como fator prognóstico, uma vez que isto contrabalança o índice mitótico aumentado e comum nessas lesões. A intensidade da apoptose correlaciona-se com o estado de “isquemia” relativa do tumor, com a resposta imunológica celular e com a liberação de citocinas pelo infiltrado inflamatório no tumor (BURSCH *et al.*, 1990). A apoptose ocorre espontaneamente em neoplasias malignas não tratadas e participa em alguns tipos de regressão tumoral induzida terapeuticamente (KERR, 1993; WRIGHT; ZHONG; LARRICK, 1994).

Considerando a grande capacidade de involução espontânea do TVTC, torna-se importante estudar a participação da apoptose na regressão desse tumor.

É interessante salientar que a apoptose ainda não foi estudada adequadamente no que se refere ao TVTC (Fig. 5).

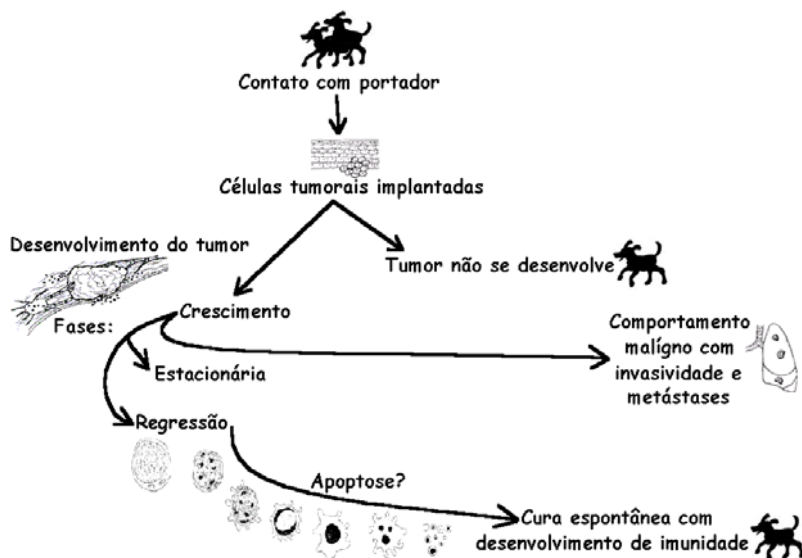


Figura 5. O TVTC pode evoluir e comportar-se de maneiras diferentes. Quais os fatores que estão envolvidos na evolução do TVTC? Qual a principal via apoptótica envolvida no processo de regressão?

Gonzalez *et al.* (2000) relataram que durante a regressão do TVTC induzida pela vincristina ocorre parada da proliferação celular e aumento de apoptose.

Santos *et al.* (2001) demonstraram a ocorrência desse tipo de morte celular no TVTC (Fig. 2 e 3). Adicionalmente, Santos (2002) observou que o índice apoptótico (IA) e o número de células em apoptose permitiram diferenciar as duas fases de evolução do TVTC experimentalmente transplantado. O IA foi maior nos tumores em regressão. O mesmo autor relatou que a

expressão de P53 foi maior em tumores em regressão. Assim, ao que tudo indica, o aumento da expressão de P53 está envolvida na apoptose induzida na fase de regressão do TVTC. Finalmente, Santos (2002) relatou que o infiltrado inflamatório e as áreas de fibrose foram maiores nos tumores em regressão. A presença de inflamação, aliada a uma possível hipóxia podem ser fatores que estimulam a apoptose nessa fase do desenvolvimento tumoral.

CONCLUSÃO

A despeito de sua natureza potencialmente maligna, o TVTC freqüentemente apresenta um comportamento benigno, chegando mesmo a regredir espontaneamente.

A regressão do TVTC está associada à necrose

e apoptose de oncócitos.

A apoptose é muito importante para a regressão do TVTC e tudo indica que a via seja dependente de p53.

A área do infiltrado inflamatório é maior nos TVTCs em fase de regressão que durante o crescimento. Isto indica que a indução de apoptose provavelmente envolve a ação de células inflamatórias em reação ao TVTC.

ABSTRACT: The canine transmissible venereal tumor is an undifferentiated round cell neoplasm with fast growth, which can metastasize to other organs in immunosuppressed dogs and newborn puppies, or undergo spontaneous regression in adult dogs. Its easiness of transplantation and fast growth propitiates an opportunity for the utilization of cell proliferation markers in the study of the proliferative activity and tumor growth. Its spontaneous regression gives a new perspective for the study the cell death by apoptosis. Additionally, canine transmissible venereal tumor is an excellent model to study the interaction between host immunity and tumor growth.

UNITERMS: Canine transmissible venereal tumor; Cell proliferation markers; Apoptosis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANESE, F.; POLI, A.; MILLANTA, F.; ABRAMO, F. Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with *Leishmania*-laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin? **Vet. Dermatol.**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 243-246, Oct. 2002.

ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALO, J. **Manual de imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999. 116 p.

AUBELE, M.; BIESTERFELD, S.; DERENZINI, M.; HUFNAGL, P.; MARTIM, H.; OFNER, D.; PLOTON, D.; RÜSHOFF, J. Guidelines of AgNOR quantitation. Committee on AgNOR quantitation within the European Society of Pathology. **Zentralbl. Pathol.**, Jena, v. 140, p. 107-108, Mar. 1994.

BABO, V.; BERNARDO, K. C. Tumor venéreo transmissível canino: 159 casos. **Hora Vet.**, Porto Alegre, v. 19, n. 110, p. 76-77, jul./ago. 1999.

BROWN, N. O.; CALVERT, C. Transmissible venereal tumor in the dog. **California Vet.**, Moraga, v. 35, n. 3, p. 6-10, Mar. 1981.

BURSCH, W.; PAFFE, S.; PUTZ, B.; BARTHEL, G.; SCHULTEHERMANN, R. Determination of the length of the histological stages of apoptosis in normal liver and in altered hepatic foci of rats. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 11, n. 5, p. 847-853, May. 1990.

CALVERT, C. A. Canine viral and transmissible neoplasias. In: GREENE, C. E. (Ed.). **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1984. p. 461-465.

CALVERT, C. A. Transmissible venereal tumor in the dog. In: KIRK, R. W. (Ed.). **Current veterinary therapy**. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1983. p. 413-415.

CHANDLER, J. P.; YANG, T. J. Canine transmissible venereal sarcoma: distribution of T and B lymphocytes in blood, draining lymph nodes and tumors at different stages of growth. **Br. J. Cancer**, Edinburgh, v. 44, n. 4, p. 514-521, Oct. 1981.

CHU, R. M.; SUN, T. J.; YANG, H. Y.; WANG, D. G.; LIAO, K. W.; CHUANG, T. F.; LIN, C. H.; LEE, W. C. Heat shock proteins in canine transmissible venereal tumor. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 82, n. 1-2, p. 9-21, Sept. 2001.

COCKRILL, J. M.; BEASLEY, J. N. Ultrastructural characteristics of canine transmissible venereal tumor at various stages of growth and regression. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 36, n. 5, p. 677-681, May. 1975.

COHEN, D. *In vitro* cell-mediated cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity to the transmissible venereal tumor of the dog. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, v. 64, n. 2, p. 317-321, 1980.

COHEN, D. The transmissible venereal tumor of the dog- a naturally occurring allograft? A Review. In: WEISS, D. W. (Ed.). **Immunological parameters of host-tumor relationships**. New York: Academic, 1978. v. 5, p. 14-19.

COTTER, T. G.; LENNON, S. V.; GLYNN, J. G.; MARTIN, S. J. Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells. **Anticancer Res.**, Attiki, v. 10, n. 5A, p. 1153-1160, Sept./Oct. 1990.

CROCKER, J.; NAR, P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. **J. Pathol.**, Chichester, v. 151, n. 2, p. 111-118, Feb. 1987.

DALECK, C. L. M.; DALECK, C. R.; PINHEIRO, L. E. L.; BECHARA, G. H.; FERREIRA, H. I. Avaliação de diferentes métodos diagnósticos do tumor venéreo transmissível (tvt) em cães. **Ars Vet.**, Jaboticabal, v. 3, n. 2, p. 187-194, dez. 1987.

DAS, U.; DAS, A. K. Review of canine transmissible venereal sarcoma. **Vet. Res. Communic.**, Dordrecht, v. 24, n. 8, p. 545-556, Dec. 2000.

DASS, L. L.; SAHAY, P. N.; KHAN, A. A.; JHA, G. J. Malignant transmissible venereal tumor. **Canine Pract.**, Santa Barbara, v. 13, n. 3, p. 15-18, May/June. 1986.

DERVAN, P. A.; GILMARTIN, L. G.; LOFTUS, B. M.; CARNEY, D. N. Argyrophilic nucleolar organizer region counts correlate with Ki-67 scores. **Am. J. Clin. Pathol.**, Chicago, v. 92, n. 4, p. 401-407, Oct. 1989.

DE VICO, G.; PAPPARELLA, S.; DI GUARDO, G. Number and size of silver-stained nucleoli (AgNOR clusters) in canine seminomas: correlation with histological features and tumour behaviour. **J. Comp. Pathol.**, London, v. 110, n. 3, p. 267-273, Apr. 1994.

DUARTE, L. N. **Abordagem morfológica e histoquímica do tumor venéreo transmissível canino**. 2002. 52 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. Cytology of canine cutaneous round cell tumors, mast cell tumours, histiocytoma, lymphosarcoma and transmissible venereal tumours. **Vet. Pathol.**, Washington, v. 16, n. 6, p. 673-679, Nov. 1979.

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 403-410, Nov. 1991.

GONZALEZ, C. M.; GRIFFEY, S. M.; NAYDAN, D. K.; FLORES, E.; CEPEDA, R.; CATTANEO, G.; MADEWELL, B. R. Canine transmissible venereal tumour: a morphological and immunohistochemical study of 11 tumours in growth phase and during regression after chemotherapy. **J. Comp. Pathol.**, London, v. 122, n. 4, p. 241-248, May. 2000.

HARMELIN, A.; ZUCKERMAN, A.; NYSKA, A. Correlation of AgNOR protein measurements with prognosis in canine transmissible venereal tumour. **J. Comp. Pathol.**, London, v. 112, n. 4, p. 429-433, May. 1995.

HERNANDEZ-VERDUN, D.; ROUSSEL, P. Cell biological basis of AgNOR staining. **Virchows Arch.**, Berlin, v. 427, n. 3, p. 326-327, Nov. 1995.

HESS, A.; CUNNINGHAM, B.; TAYLOR, B. B.; EPSTEIN, R. *In vitro* correlates of the *in vivo* course of the canine transmissible venereal tumor studied by mixed lymphocyte-tumor cultures. **Transplant Proc.**, New York, v. 36, n. 5, p. 677-81, Dec. 1975.

HIGGINS, D. A. Observations on the canine transmissible venereal tumour as seen in the Bahamas. **Vet. Rec.**, London, v. 79, n. 3, p. 67-71, July. 1966.

HSIAO, Y. W.; LIAO, K. W.; HUNG, S. W.; CHU, R. M. Effect of tumor infiltrating lymphocytes on expression of MHC in canine transmissible venereal tumor cells. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 87, n. 1-2, p. 19-27, Aug. 2002.

KENNEDY, P. C.; MILLER, R. B. The female genital system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (Ed.). **Pathology of domestic animals**. 4th ed. New York: Academic, 1993. v. 3, p. 451-453.

KERR, J. F. R. Definition of apoptosis and overview of its incidence In: LAVIN, M.; WATTERS, D. (Ed.). **Programmed cell death: the cellular and molecular biology of apoptosis**. Switzerland: Harwood Academic, 1993. p. 1-15.

KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **Br. J. Cancer**, Edinburgh, v. 26, n. 4, p. 239-257, 1972.

KOPP, E.; MAYR, B.; SCHLEGER, W. Nucleolar organizer regions on chromosomes of the domestic dog. **J. Hered.**, Cary, v. 73, n. 1, p. 73, 1982.

KREIPE, H.; ZEIDLER, R.; FISCHER, L.; FEIST, H. Immunocytochemical assessment of cell proliferation. **Virchows Arch.**, Berlin, v. 427, n. 3, p. 324-326, Nov. 1995.

LIAO, K. W.; HUNG, S. W.; HSAO, Y. W.; BENNET, M.; CHU, R. M. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule (s) specifically toxic for B cells. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 92, n. 3/4, p. 149-162, May. 2003.

LÖHR, C. V.; TEIFKE, J. P.; FAILING, K.; WEISS, E. Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. **Vet. Pathol.**, Washington, v. 34, n. 3, p. 212-221, May. 1997.

MARCHAL, T.; CHABANNE, L.; KAPLANSKI, C.; RIGAL, D.; MAGNOL, J. P. Immunophenotype of the canine transmissible venereal tumour. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 57, n. 1-2, p. 1-11, June. 1997.

MOULTON, J. E.; HARVEY, J. W. Tumors of the lymphoid and hematopoietic tissues. In: MOULTON, J. E. (Ed.). **Tumors in domestic animals**. 3rd ed. Los Angeles: University of California, 1990. p. 231-296.

MOZOS, E.; MÉNDEZ, A.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; MARTIM DE LAS MULAS, J.; PEREZ, J. Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. **Vet. Pathol.**, Washington, v. 33, n. 3, p. 257-263, May. 1996.

MUNDIM, A. V.; FERREIRA, P. A. S.; SANTOS, M. J. Tratamento de tumor de Sticker cutâneo em cães pela vincristina. **R. Cent. Ci. Bioméd. Univ. Fed. Uberlândia**, Uberlândia, v. 3, n. 1, p. 63-65, dez. 1987.

NIELSEN, S. W.; KENNEDY, P. C. Tumors of the genital system. In: MOULTON, J. E. (Ed.). **Tumors in domestic animals**. 3rd ed. Berkeley: University of California, 1990. p. 498-502.

ODUYE, O. O.; IKEDE, B. O.; ESURUOSO, G. O.; AKPOKODJ, J. U. Metastatic transmissible venereal tumour in dogs. **J. Small Anim. Pract.**, London, v. 14, n. 10, p. 625-637, 1973.

PÉREZ, J.; DAY, M. J.; MOZOS, E. Immunohistochemical study of the local inflammatory infiltrate in spontaneous canine transmissible venereal tumour at different stages of growth. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 133-147, July. 1998.

PINHEIRO, L. E. L.; LAUS, J. L.; ALMEIDA JÚNIOR, I. L.; DALECK, C. R. Demonstração direta dos cromossomos do tumor venéreo canino utilizando a vincristina. **Ars Vet.**, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 41-44, jun. 1986.

PLOTON, D. Structure and molecular organization of the nucleolus. **Zentralbl. Pathol.**, Jena, v. 140, n. 1, p. 3-6, Mar. 1994.

POWERS, R. D. Serum factors associated with the regression of the canine transmissible venereal sarcoma. **Am. J. Pathol.**, Bethesda, v. 48, n. 6, p. A7, 1966.

QUINN, C. M.; WRIGHT, N. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumours: evaluation of methods and applications as prognostic variables. **J. Pathol.**, Chichester, v. 160, n. 2, p. 93-102, Feb. 1990.

RICHARDSON, R. C. Canine transmissible venereal tumor. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.**, Yardley, v. 3, n. 11, p. 951-956, Nov. 1981.

ROGERS, K. S. Transmissible venereal tumor. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.**, Yardley, v. 19, n. 9, p. 1036-1044, Sept. 1997.

RÜSCHOFF, J.; FAUSER, G.; KNÜCHEL, R.; HOFSTÄDTER, F. AgNOR quantification with special reference to staining patterns. **Zentralbl. Pathol.**, Jena, v. 140, n. 1, p. 23-30, Mar. 1994.

RÜSCHOFF, J.; PLATE, K.; BITTINGER, A.; THOMAS, C. Nucleolar organizer regions (NORs): basic concepts and practical application in tumor pathology. **Pathol. Res. Pract.**, Jena, v. 185, n. 6, p. 878, Dec. 1989.

SANTOS, F. G. A. **Morfologia, morfometria e imuno-histoquímica das fases de crescimento e regressão espontânea do tumor venéreo transmissível canino**. 2002. 81 f. Tese (Doutorado em Patologia e Ciências Clínicas) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

SANTOS, F. G. A. **Regiões organizadoras de nucléolos coradas pela prata (AgNORs) em tumor venéreo transmissível canino genital e extra-genital: caracterização e quantificação**. 1998. 71 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

SANTOS, F. G. A.; GUEDES, R. M. C.; CASSALI, G. D.; MEJÍA, G. E. G.; VASCONCELOS, A. C. Caracterização e quantificação de regiões organizadoras de nucléolos coradas pela prata (AgNORs) em tumor venéreo transmissível canino, genital e extragenital. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 50, n. 6, p. 665-672, dez. 1998.

SANTOS, F. G. A.; VASCONCELOS, A. C.; MORO, L.; NUNES, J. E. S.; PAIXÃO, T. A. Apoptose no tumor venéreo transmissível canino: características morfológicas e evidência bioquímica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 557-562, out. 2001.

THEILEN, G. H.; MADEWELL, B. R. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: _____. **Veterinary cancer medicine**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1979. 416 p.

TRERÈ, D. AgNOR quantification in tumour pathology: what is actually evaluated. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 46, n. 2, p. 189, Feb. 1993.

UNDERWOOD, J. C. E.; GIRI, D. D. Nucleolar organizer regions as diagnostic discriminants for malignancy. **J. Pathol.**, Chichester, v. 155, n. 2, p. 95-96, June. 1988.

VASCONCELOS, A. C.; VASCONCELOS, M. M. A. Apoptose ou morte celular programada - um novo conceito em patologia? **R. Méd. Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 5, n. 2, p. 103-108, abr./jun.1995.

VERMOOTEN, M. I. Canine transmissible venereal tumor (TVT): a review. **J. S. Afr. Vet. Assoc.**, Pretoria, v. 58, n. 3, p. 147-150, Sept. 1987.

WRIGHT, S. C.; ZHONG, J.; LARRICK, J. W. Inhibition of apoptosis as a mechanism of tumor promotion. **FASEB J.**, Bethesda, v. 8, n. 9, p. 654-660, June. 1994.

WYLLIE, A. H.; KERR, J. F. R.; CURRIE, A. R. Cell death: the significance of apoptosis. **Int. Rev. Cytol.**, San Diego, v. 68, p. 251-305, 1980.

YANG, T. J. Metastatic transmissible venereal sarcoma in a dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg, v. 190, n. 5, p. 555-556, Mar. 1987.

YANG, T. J.; CHANDLER, J. P.; DUNNE-ANWAY, S. Growth stage dependent expression of MHC antigens on the canine transmissible venereal sarcoma. **Br. J. Cancer**, Edinburgh, v. 55, n. 2, p. 131-134, Feb. 1987.

ZEZZA NETO, L.; FELIX, M.; ALVES JÚNIOR, M. TVT (Transmissible Venereal Tumor) a non-appropriated linfosarcoma Sticker's nomenclature. **Unimar Ciências**, Marília, v. 4, n. 2, p. 115-120, 1995.