

## **AVALIAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO NOS TUMORES MAMÁRIOS MALIGNOS FELINOS**

**EVELYN ANE OLIVEIRA<sup>1</sup>; NICOLE LUIZA GOERGEN PRETTO<sup>2</sup>; TAIANE SAMPAIO DA SILVA<sup>2</sup>; ANDRESSA DUTRA PIOVESAN ROSSATO<sup>2</sup>; MICHELE BERSELLI<sup>2</sup>; CRISTINA GEVEHR FERNANDES<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – Evelyn.anee@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – nyky113@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – taianee.sds@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – andressa-piovesan@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – michele.berselli@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – crisgevf@yahoo.com.br

### **1. INTRODUÇÃO**

Tumores da glândula mamária são o terceiro tipo mais frequente em felinos e sua etiologia é desconhecida, porém alguns fatores podem pré-dispor o animal a condição, a exposição hormonal, status reprodutivo e sexo são fatores que podem predispor o aparecimento das neoplasmas. (CARVALHO et al. 2016; MILLS et al. 2015) Nessa espécie o grau de malignidade de tumores malignos é bastante significativo sendo comumente de prognóstico reservado (MISDORP, 2002).

O estudo do infiltrado inflamatório em tumores mamários felinos é recente. Estudos já são realizados em humanos, bem como em ensaios utilizando roedores. Estudos já forma realizados em caninos (AFFONSO et al. 2015; ESTRELA-LIMA et al. 2013)

O prognóstico desses animais vai depender do tipo histológico do tumor, e do grau de malignidade do mesmo, diâmetro que este tumor apresenta, pois já se tem dados comprovando a relação de malignidade com o tamanho do tumor, e o tempo de sobrevida dos pacientes. (ANTUNES, 2014; MORRIS, 2013; MILLS et al. 2015).

O conhecimento da inflamação associada aos neoplasmas já vem de algum tempo atrás, estudos em humanos e roedores tem se buscado saber mais dessa relação e qual o papel da inflamação com relação ao desenvolvimento do câncer (CARVALHO et al. 2016). Diversas células da imunidade inata e adaptativa fazem parte da pluralidade de células encontradas no tecido tumoral, conjuntamente com as células do estroma (SAEKI et al, 2012). As células inflamatórias podem agir como promotores de crescimento devido liberação de mediadores que podem estimular a proliferação e migração de células endoteliais, que vão atuar promovendo angiogênese, e por consequência ajudam no crescimento desse tumor. (ESTRELA-LIMA et al. 2013; CARVALHO et al. 2016; KIM et al. 2013).

O objetivo do trabalho foi caracterizar o infiltrado inflamatório em tumores mamários malignos em felinos.

### **2. METODOLOGIA**

Foi realizado um levantamento dos casos de felinos que obtiveram diagnóstico de tumores mamários felinos dos arquivos do Serviço de Oncologia Veterinária e Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (SOVET/LRD-UFPEL) no período de 2014 a 2017. Dos protocolos foram extraídas informações quanto a: raça, sexo, idade e diagnóstico histopatológico.

A avaliação das células inflamatórias associadas ao tumor nos carcinomas mamários foi realizada levando em consideração três parâmetros distintos: distribuição das células inflamatórias, intensidade do infiltrado inflamatório total e intensidade do infiltrado inflamatório linfocitário. Os dados acerca dos parâmetros de inflamação foram obtidos com a avaliação de cinco campos mais representativos (“hot spots”) em aumento de 400x. A intensidade da reação inflamatória total foi categorizada em dois subgrupos: moderado (< 800 linfócitos) e intenso (> 800 linfócitos). A intensidade da reação inflamatória linfocitária também foi categorizada em dois subgrupos: moderado (< 800 linfócitos) e intenso (>800 linfócitos), com base na análise do infiltrado inflamatório (ESTRELA-LIMA et al. 2010, LOPES-NETO et al. 2017).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período do levantamento foram recebidos espécimes de 20 pacientes, resultando 27 diagnósticos, pois em alguns casos, o animal apresentou mais de um nódulo de diferentes tipos histológicos. Todos os animais eram fêmeas, de idade entre 6 a 21 anos, sendo 25% consideradas animais adultos, com idade entre 1 a 8 anos de idade, e 75% dos animais eram idosos de idade maior de 8 anos, majoritariamente sem raça definida (90%), sendo 10% da raça siamesa.

Quanto aos diagnósticos, 29,6% (8/27) eram carcinomas sólidos, 29,6% (8/27) eram carcinomas tubulares e 29,6% (8/27) eram carcinomas cribriformes respectivamente. O carcinoma papilar, carcinoma lobular in situ e carcinoma de células escamosas de mama (CCE) corresponderam cada um a 3,7% (1/27) dos casos.

A distribuição das células inflamatórias nos tumores mamários foi de focal a multifocal, e predominantemente peritumorais e intratumorais. Houve um predomínio de linfócitos em relação a outras células inflamatórias, como plasmócitos e macrófagos. A tabela 1 apresenta os dados referentes à avaliação do infiltrado inflamatório total e o infiltrado inflamatório linfocitário em relação ao tipo tumoral e a graduação histológica.

Tabela 1: avaliação da intensidade do infiltrado total e linfocitário dos tumores-mamários malignos em felinos:

		N	Infiltrado inflamatório N (%)		Infiltrado linfocitário N (%)	
			<800	>800	<800	>800
<b>Tipo Histológico</b>	<b>Parâmetros</b>					
	<i>Carcinoma sólido</i>	8	3 (37,5)	5 (62,5)	4 (50)	4 (50)
	<i>Carcinoma tubular</i>	8	5 (62,5)	3 (37,5)	6 (75)	2 (25)
	<i>Carcinoma cribriforme</i>	8	6 (75)	2 (25)	4 (50)	4 (50)
	<i>Carcinoma papilar</i>	1	1 (100)	-	1 (100)	-
	<i>Carcinoma Lobular</i>	1	1 (100)	-	1 (100)	-
	<i>Carcinoma Células Escamosas</i>	1	-	1 (100)	1 (100)	-
	<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>17</b>	<b>10</b>
<b>Grau Histológico</b>	<i>Grau I</i>	4	4 (100)	-	4 (100)	-
	<i>Grau II</i>	9	6 (66,6)	3 (33,3)	7 (77,7)	2 (22,2)
	<i>Grau III</i>	11	3 (27,3)	8 (72,7)	4 (36,4)	7 (63,6)
	<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>15</b>	<b>9</b>

Quando levado em consideração o tipo histológico e o grau, 50% (4/8) dos carcinomas cribriformes foram graus II e III respectivamente, e a intensidade do infiltrado inflamatório total e linfocitário foi predominantemente moderado em 75% (6/8) dos casos. Dos carcinomas tubulares, 37,5% (3/8) eram de grau II, 25% (2/8) de grau I e III respectivamente, e a intensidade do infiltrado inflamatório total quanto do linfocitário foi predominantemente moderado em 62,5% (5/8) dos casos. Dos carcinomas tubulares de grau III, todos tiveram infiltrado total e linfocitário intenso. Com relação aos carcinomas sólidos, 50% (4/8) eram de grau III, 25% (2/8) de grau II e 12,5% (1/8) de grau I, e a intensidade do infiltrado inflamatório total e linfocitário foi predominantemente intenso em 62,5% (5/8) dos casos. Todos os carcinomas sólidos de grau III tiveram intensidade do infiltrado inflamatório total e linfocitário intenso. Em três dos tumores, o grau histológico não foi informado.

O sistema imunológico do hospedeiro reconhece de diferentes formas a célula tumoral, utilizando-se da resposta inata e da resposta adquirida, estando presente no microambiente tumoral células inflamatórias como macrófagos, neutrófilos, mastócitos e entre outras que caracterizam a imunidade inata, e os linfócitos que correspondem a imunidade adquirida ou adaptativa, entre outras células como as do estroma (LUSTER, 2002; DE VISSER et al. 2006; SAEKI et al. 2012). Em nosso estudo verificamos a presença predominante de linfócitos, em menor número plasmócitos e macrófagos, e eventualmente outras células, tanto peritumoral como intratumorais.

Sabe-se que o infiltrado inflamatório pode promover a angiogênese, assim como a disseminação metastática por reaver o potencial migratório e invasivo das células neoplásicas a partir da remodelação tissular de proteases, citocinas e fator de crescimento. Em humanos já se sabe que o aumento de linfócitos T no estroma do tumor está relacionado ao desenvolvimento do mesmo, e em cães se relaciona a um pior prognóstico (ESTRELA-LIMA et al. 2013, CARVALHO et al. 2016, AFFONSO et al. 2015, SAEKI et al. 2012). Em nosso estudo, verificamos que a medida que aumentou o grau histológico nos neoplasmas a intensidade do infiltrado total e linfocitário também aumentou, independente do tipo histológico, conforme a tabela 1. Além disso, os carcinomas sólidos apresentaram grau histológico mais elevado em relação aos outros tipos histológicos e também tiveram intensidade de infiltrado total e linfocitário elevado.

Sabe-se que os linfócitos têm papel importante tanto na progressão e regressão dos tumores. Alguns autores já evidenciaram que linfócitos que apresentam características para marcadores CD4+ podem ajudar na regressão do tumor, e os que apresentam características para marcadores CD8+ podem auxiliar na progressão do mesmo. No entanto, ainda há muita discussão em relação a real função dos linfócitos T e B com relação ao tumor, principalmente quando em contato com diferentes citocinas encontradas no ambiente tumoral (FRIDMAN et al., 2012; KIM et al. 2013, TROMPIERI-SILVEIRA, 2009).

Os tumores mamários em felinos ainda são pouco estudado em relação aos tumores mamários em cães, reforçando a importância de estudos nessa espécie. Ainda não foram realizados estudos consistentes sobre a caracterização do infiltrado inflamatório nos tumores mamários felinos. O prognóstico se baseia normalmente por diversos parâmetros, tanto do hospedeiro quanto do tumor, assim como o grau do tumor, a fase, tipo histológico, conjuntamente com diversos aspectos da resposta imune do hospedeiro (ESTRELA-LIMA et al. 2013).

#### 4. CONCLUSÕES

Através do presente estudo concluiu-se que o infiltrado inflamatório total e linfocitário é um potencial fator prognóstico nos tumores mamários malignos de felinos, e os linfócitos foram a população predominante. Além disso, um maior número de células inflamatórias parece estar correlacionado com neoplasmas de alto grau em felinos, e como tal, sua importância deve ser explorada em associação com fatores prognósticos conhecidos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFONSO, V. R. et al. Peritumoral infiltrate in the prognosis of epidermoid carcinoma of the oral cavity. **Braz J Otorhinolaryngol**. 81:416-21, 2015.
- ANTUNES, S. C. S. **Feline Mammary Tumors: A Literature Review**. 28f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra, 2014.
- CARVALHO, M. I. et al. A Comparative Approach of Tumor-Associated Inflammation in Mammary Cancer between Humans and Dogs - **BioMed Research International** Volume. 4917387, 2016.
- DE VISSER K. E et al. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. **Nat Rev Cancer**. Jan; 6(1):24-37, 2006.
- ESTRELA-LIMA, A. et al. Plasma biomarkers profile of female dogs with mammary carcinoma and its association with clinical and pathological features. **Veterinary and Comparative Oncology**, 14(1), 88–100, 2013.
- FRIDMAN, W. H. et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 4, p. 298–306, 2012.
- KIM, J. H, et al; Correlation of tumor-infiltrating lymphocytes to histopathological features and molecular phenotypes in canine mammary carcinoma: A morphologic and immunohistochemical morphometric study **The Canadian Journal of Veterinary Research**. 77: 42-149, 2013.
- LOPES-NETO B. E. et al. CD4+, CD8+, FoxP3+ and HSP60+ Expressions in Cellular Infiltrate of Canine Mammary Carcinoma in Mixed Tumor. **Acta Scientiae Veterinariae**. 45: 1501, 2017.
- LUSTER A.D. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. **Curr Opin Immunol**. Feb;14(1):129-35, 2002.
- MILLS S. et al. Prognostic Value of Histologic Grading for Feline Mammary Carcinoma: A Retrospective Survival Analysis **Patologia veterinária**, Vol. 52 (2) 238-249, 2015
- MISDORP W. **Tumors of the mammary gland**. In: **Tumors in domestic animals**, 4th edition, DJ Meuten (Ed), Iowa State Press, Iowa, USA. p.575-606, 2002.
- MORRIS, J. Mammary tumours in the cat: size matters, so early intervention saves lives. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 15, 391-40, 2013.
- SAEKI, K. et al. Significance of tumor-infiltrating immune cells in spontaneous canine mammary gland tumor: 140 cases. **Vet. Med. Sci**. 74 (2): 227 – 330, 2012.
- TROMPIERI-SILVEIRA, A. C. et al. Immunohistochemical expression of B and T lymphocytes and TGF- $\beta$  in experimentally transplanted canine venereal tumor. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.1148-1154, jul. 2009.