

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA HEMOPOIESE E DO PERFIL SEROPROTEICO DE CÃES PORTADORES DE TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL DE OCORRÊNCIA NATURAL E INDUZIDO ATRAVÉS DE TRANSPLANTES ALOGÊNICOS

Comparative evaluation of hemopoiesis and serum proteins from dogs with transmissible venereal tumor by natural occurrence and induced by allogenic transplant

*Karina Preising Aptekmann¹, Mirela Tinucci Costa², Rita de Cássia Fabeni³,
Rosângela Zacarias Machado⁴, Áureo Evangelista Santana²*

RESUMO

Foram propósitos deste trabalho avaliar comparativamente a hemopoiese e o perfil eletroforético das proteínas séricas totais de cães portadores de Tumor Venéreo Transmissível (TVT) de ocorrência natural e induzido através de transplantes alogênicos. Hemograma completo, punção de medula óssea, determinação das proteínas séricas totais, da albumina e o fracionamento eletroforético das proteínas séricas foram realizados em todos os cães. Os resultados evidenciaram que os animais portadores naturais apresentaram anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia; quatro desses mesmos cães apresentaram hipergamaglobulinemia. Em dois cães transplantados com células de TVT, nas diferentes fases de evolução do tumor, observou-se aumento dos parâmetros eritrocitários, concomitantemente com o aumento na relação albumina:globulina. Diante dos resultados obtidos neste trabalho não foi possível estabelecer uma relação direta entre a presença do TVT e a estimulação dos componentes eritrocitários nos cães. Contudo, alguns resultados sugerem que o TVT possa acarretar distúrbios hemodinâmicos nesses animais.

Palavras-chave: TVT, tumor, cães, eletroforetograma.

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the hemopoiesis and electrophoretic of total serum proteins in dogs with canine Transmissible Venereal Tumor (TVT) of natural occurrence and induced by allogenic transplant. Complete hemogram, bone marrow evaluation, total serum protein, albumin determination and electrophoretic fractionation of serum proteins were accomplished in all dogs. The results showed normocytic normochromic anemia and thrombocytopenia in dogs with TVT by natural occurrence; four of this ones also presented increase in α -globulin. In two dogs with TVT cells transplantation, in different phases of tumor evolution, increase in red blood cell count and albumin: globulin ratio was observed. The results obtained in this study don't indicate a relationship between the presence of TVT and the red blood cell count in dogs. However, some results suggest that TVT can involve hemodynamic disturbances.

Keywords: TVT, dogs, tumor, eletropherogram.

INTRODUÇÃO

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT)

¹ Médica Veterinária Residente do Hospital Veterinário da FMVZ – Unesp – Campus de Botucatu – SP

² Prof(a). Dr(a). do Depto. de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal – SP

³ M.V. Mestre em medicina Veterinária pela FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal – SP

⁴ Profa. Titular do Depto. Patologia Veterinária da FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal – SP

canino é uma neoplasia de ocorrência natural, transmitida por contato sexual ou por transplantação experimental a hospedeiros alogênicos (ALEXANDER et al., 1964; PALKER; YANG, 1981; MIZUNO et al., 1994). A transmissão natural do tumor ocorre pela implantação de células viáveis em tecido escarificado (ALEXANDER ET AL., 1964; PAREJO, 1970; THEILEN; MADEWELL, 1979; GROSS, 1983; COHEN, 1985) ou, experimentalmente por inoculações parenterais de células vivas de TVT (MOHANTY; RAJYA, 1977; COHEN, 1985; HARDING; YANG, 1985). Neste último caso, os tumores passam por uma fase de progressão, latência e regressão em um período de dois a seis meses (KOIKE et al., 1979).

Poucos pesquisadores fazem referências ao perfil hematológico dos cães com TVT. Um dos estudos descreve anemia, linfocitose e agranulocitose nos exames de cães transplantados com TVT (PAREJO, 1970). Discreta leucopenia foi reportada nas três fases de desenvolvimento do tumor transplantado, sendo que a população de células B e T permaneceram constantes (CHANDLER; YANG, 1981). Porcentagens significativamente maiores de linfócitos B foram encontradas em cães com TVT em estágio de progressão tumoral e naqueles onde a regressão se processava lentamente, do que em cães com tumores em regressão rápida ou em estado de latência (TRAIL; YANG, 1985). Policitemia com aumento dos precursores eritróides na medula óssea foram detectados em cães portadores de TVT de grandes dimensões, sugestiva de que o TVT possa induzir, de forma endócrina ou parácrina, a síntese de eritropoietina (EPO) (COHEN, 1985).

Mais recentemente, foi demonstrada correlação direta entre a área do TVT transplantado e as contagens de eritrócitos e destes com as de neutrófilos e com valores de proteína total e albumina, sugerindo existir uma relação direta entre a presença de TVT e policitemia secundária (TINUCCI-COSTA, 1999).

Policitemia secundária também tem sido observada em pacientes portadores de diversos tipos de tumores (PETERSON; ZANJANI, 1981; WARDROP et al., 1982; GORSE, 1988). Relação direta entre a produção de EPO e a presença de tumores renais, em coelhos, foi evidenciada pelo aumento numérico de células progenitoras eritróides, com a relação mielóide/eritróide de 1:6 (WARDROP et al., 1982). Numerosos mecanismos podem estar envolvidos com a produção inapropriada de EPO em pacientes com câncer. Embora alguns tumores renais secretem EPO, tem-se observado aumento na produção deste hormônio em pacientes portadores de tumores não renais, o que sugere uma

produção ectópica de EPO. Desta maneira, a liberação inapropriada de EPO pode levar ao desenvolvimento de policitemia paraneoplásica (eritrocitose), ou estimular a produção de células da linhagem vermelha e, conseqüentemente, aumentar as contagens periféricas dessas células, a concentração de hemoglobina e do volume globular (COHEN, 1985).

Deste modo, este trabalho propõe a avaliação comparativa da hemopoiese e do perfil eletroforético das proteínas séricas totais de cães portadores de TVT de ocorrência natural e induzido através de transplantes alogênicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Cães portadores de TVT de ocorrência natural (n=6), adultos, machos e fêmeas, atendidos no Hospital Veterinário da FCAV - Jaboticabal - UNESP, compuseram um dos grupos experimentais. Dois desses mesmos cães serviram como doadores do tumor, a ser empregado nas transplantações alogênicas. O critério de escolha dos cães portadores naturais teve como base o diagnóstico citológico positivo, independente do tempo de evolução e presença de metástases.

Filhotes de cães (n=8) irmãos, filhos de mãe sem prévio contato com o TVT, nascidos e mantidos no Canil Experimental da mesma instituição, foram adequadamente vacinados e tratados com ração comercial para filhotes. Ao atingirem seis meses de idade, os filhotes receberam, individualmente, uma suspensão de células de TVT. Na fase pré-experimental, imediatamente antes das inoculações de células de TVT, os exames realizados serviram como controle.

O inóculo foi obtido cirurgicamente, sob anestesia, após a assepsia da massa tumoral com tampão fosfato sódio (PBS), pH 7,2, contendo penicilina (100UI/mL) e estreptomicina (100µg/mL). A seguir, a massa tumoral passou por desagregação mecânica para separação de células de TVT, filtração em coluna de náilon e lavagem no mesmo tampão. Ao final, o sedimento foi ressuspensão em PBS com adição de antibióticos e a viabilidade celular foi testada pela técnica de exclusão por azul de tripam (HARRISON; RAE, 1997).

Os filhotes de cães foram inoculados em três locais distintos; dois no flanco direito e um no flanco esquerdo com 1×10^8 células de TVT/inóculo, segundo preconizado pela literatura (YANG; JONES, 1973). Os animais foram inspecionados até que se notasse o surgimento do tumor no sítio das inoculações (Figura 1), para se caracterizar as fases de



Figura 1. Nódulo tumoral em fase de progressão presente no flanco esquerdo de um dos cães transplantados com células de TVT.

progressão, latência e regressão dos tumores transplantados.

Ao primeiro sinal do surgimento do tumor transplantado nos sítios de inoculação, este foi individualmente palpado e delimitado à caneta sobre uma fina folha de plástico incolor, posteriormente copiado em papel vegetal para medida da área do tumor (cm²), por meio de planimetria. Os tumores que mantiveram, em três medidas consecutivas, suas dimensões em evolução, estacionária ou em involução foram considerados tumores em progressão, latência e regressão, respectivamente. A leitura da área do tumor, por meio de planimetria, foi realizada junto ao Departamento de Engenharia Rural da FCAV - UNESP, Jaboticabal (SP), com auxílio de um Planímetro polar de compensação (Modelo Aott Keupten, Alemanha Ocidental). Este procedimento objetivou, unicamente, caracterizar as fases de progressão, latência e regressão do TVT transplantado para a coleta do material biológico proposto.

Todos os cães desse experimento foram submetidos à punção de medula óssea e à colheita de sangue para realização de hemograma e dosagens de proteína total (Kit Labtest, metodologia biureto), albumina (Kit Labtest, metodologia verde de bromocresol) e eletroforese das proteínas séricas (proteinograma).

Para a realização do hemograma utilizou-

se parte do sangue total colhido, homogeneizado com uma solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10%, segundo técnica descrita por JAIN (1993). O restante do sangue foi dessorado e empregado para a realização das dosagens bioquímicas e proteinograma, empregando-se as técnicas laboratoriais de rotina.

O fracionamento eletroforético dos soros dos cães desse experimento obedeceu ao procedimento que se segue. Após o preenchimento da cuba do aparelho de eletroforese com 190 mL de tampão Veronal / EDTA 0,05 M – pH 8,6, aplicou-se 0,6mL dos soros a serem testados, no filme de agarose. Em seguida, a extremidade do filme de agarose, onde foram aplicadas as amostras, foi voltada para o pólo negativo e o suporte foi colocado de modo a apoiar-se na cuba. A corrida eletroforética foi realizada à temperatura ambiente, sob amperagem constante (90 V), durante 35 minutos. A seguir, o filme foi mergulhado em 200 mL de corante (amido negro), onde permaneceu por cinco minutos, passando então por uma fase de descoloração em 200 mL de ácido acético a 5% durante cinco minutos. Em seguida, o filme foi colocado em estufa, a 60°C, até a completa secagem. Em seguida, o filme passou por nova fase de descoloração em banhos sucessivos com ácido acético a 5%, seguidos de nova secagem a 60°C. A leitura foi feita em densi-

tômetro específico (SHIMAZU CS-9301 PC). Para efeito de interpretação, comparou-se os resultados encontrados nos diferentes grupos experimentais com os valores de referência reportados na literatura (JAIN, 1993).

Para avaliação da hemopoiese, amostras do material medular dos cães foram obtidas a partir de punção da medula óssea na região da crista ilíaca (GRINDEM, 1989). Para isso, o cão foi anestesiado, contido em decúbito lateral e, após tricotomia da região da crista ilíaca e antisepsia da pele, foi realizada a punção da medula óssea, com o auxílio de uma agulha Rosenthal, que foi introduzida no canal medular e o conteúdo aspirado, com auxílio de uma seringa plástica de 5,0 mL, estéril e descar-

tável, contendo EDTA como anticoagulante. Após a colheita do material, esfregaços individuais foram confeccionados, fixados ao ar e corados pelo corante de Rosenfeld (ROSENFELD, 1955) (Figura 2). As lâminas, assim confeccionadas, foram analisadas quanto à relação da série mielóide e eritróide e a celularidade.

A comparação dos resultados obtidos, entre vários parâmetros analisados, nos diferentes grupos experimentais, foi realizada pelo Teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância. Os testes foram realizados no software "Statistical Analysis System" (SAS) no Departamento de Ciências Exatas da FCAV - UNESP, Jaboticabal (SP).

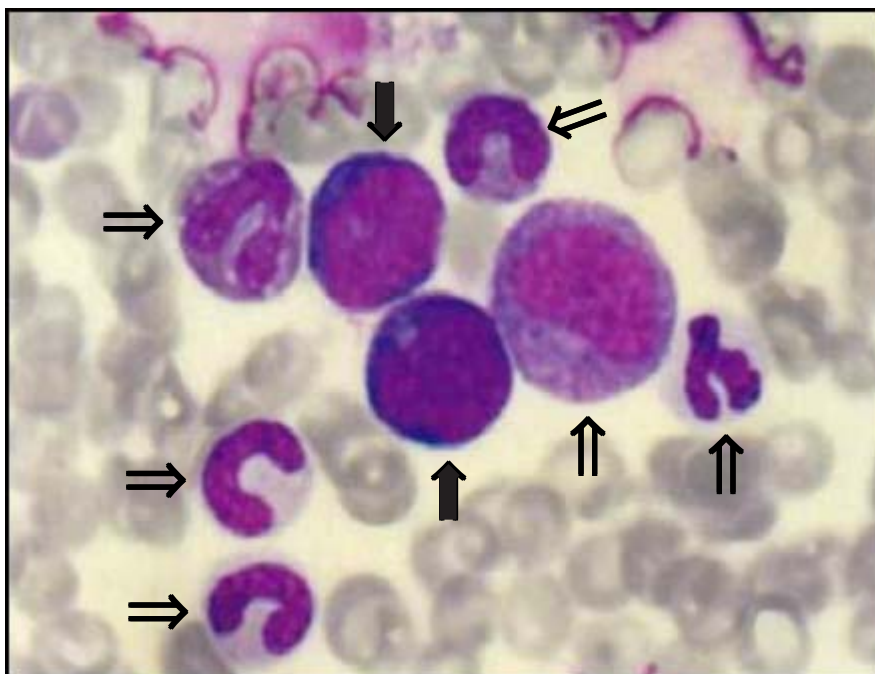


Figura 2. Material medular obtido de cães portadores de TVT, mostrando a presença de precursores eritróides (setas cheias) e mielóides (setas vazias) (Rosenfeld, obj. 100x).

RESULTADOS

Os exames histológicos dos fragmentos de TVTs de ocorrência natural e transplantados confirmaram a presença de células arredondadas; algumas de aspecto bizarro, arranjadas em cordões, com tamanhos variados e freqüentes figuras de mitose. O tecido neoplásico apresentou-se ricamente vascularizado, com grande número de hemácias e de células inflamatórias, em sua maioria, linfócitos, neutrófilos, macrófagos e eosinófilos infiltrados no

estroma tumoral, sustentado por tecido conjuntivo fibroso em quantidades variáveis (Figura 3).

Na fase pré-experimental e durante o experimento todos os cães transplantados com células de TVT mantiveram-se clinicamente normais. O período de desenvolvimento dos tumores transplantados, desde a fase de progressão até a fase de regressão, se processou em aproximadamente 79,2 dias, oscilando entre 14 e 134 dias, tal como reportado por outros pesquisadores (ALEXANDER et al., 1964; KOIKE et al., 1979; HARDING; YANG, 1985).

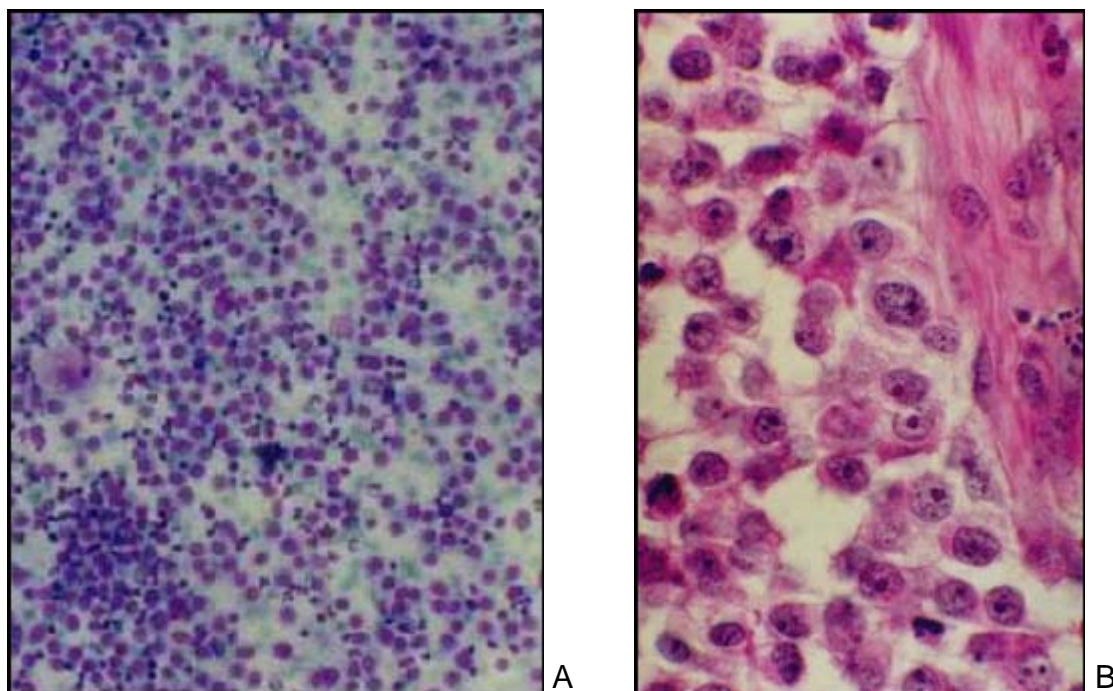


Figura 3. A) Preparação citológica do TVT, onde observa-se a presença de células arredondadas e uniformes, de aspecto monótono, com citoplasma acidófilo, núcleo volumoso com a cromatina em grânulos e nucléolo central e acidófilo (Rosenfeld, obj. 10x). B) Preparação histológica do TVT, onde observa-se as células características do tumor sustentadas por tecido conjuntivo fibroso, vascularizado, com células inflamatórias e hemácias que invadem o estroma tumoral (HE, obj. 40x).

Achados hematológicos

Na tabela 1 encontram-se os resultados das avaliações hematológicas dos cães portadores naturais de TVT e dos animais transplantados com células de TVT nas diferentes fases experimentais. A contagem média de hemácias, hematócrito e concentração de hemoglobina dos cães portadores naturais revelaram valores significativamente reduzidos em relação aos demais. Reduzidas também estavam as contagens médias de eosinófilos, linfócitos e plaquetas desses mesmos animais. De forma geral, os demais animais apresentaram eosinofilia absoluta ou tendência a eosinofilia. Os animais em fase pré-experimental foram os únicos que apresentaram monocitopenia. Trombocitopenia significativa foi apresentada pelos cães em fase de progressão tumoral e naqueles com o tumor natural. Os demais parâmetros analisados não diferiram estatisticamente entre si.

Achados no proteinograma

Os resultados referentes ao proteinograma estão demonstrados na tabela 2. As médias dos valores de proteína total apresentaram-se dentro dos limites normais para cães e não houve diferença

entre os grupos. Em contrapartida, as médias das concentrações de albumina apresentaram valores significativamente maiores que os valores normais, exceto nos cães portadores naturais do tumor. O inverso foi observado em relação às concentrações de globulina, provocando, conseqüentemente, um aumento na relação albumina:globulina (A:G) em todos os grupos, exceto nos portadores naturais. As a-globulinas mantiveram-se em níveis normais para cães, exceto nos portadores naturais, que apresentaram valores médios abaixo da normalidade, diferindo significativamente somente dos cães em fase de progressão do tumor. Em todos os grupos os valores médios de b_1 -globulina encontraram-se em níveis inferiores aos de normalidade, e apenas os animais que encontravam-se na fase de regressão tumoral não apresentaram diminuição dos valores médios de b_2 -globulina. Os portadores naturais e os cães em fase de progressão tumoral apresentaram valores normais da fração b-globulina, não diferindo significativamente entre si, contudo, diferiram significativamente dos demais grupos, exceto os na fase de progressão com os na de regressão tumoral. Houve diferença significativa na concentração de g_1 -globulina entre a fase pré-

Tabela 1. Médias e desvios padrões dos parâmetros eritroleucocitários, medulares e plaquetários de cães portadores de TVT de ocorrência natural, na fase pré-experimental, de progressão, latência e regressão do TVT transplantado.

| PARÂMETROS | GRUPOS | | | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | Fase pré-experimental | Fase de progressão | Fase de latência | Fase de regressão | Cães portadores naturais |
| Hemácias (x10 ⁶ /μL) | 7,01 ± 0,60 ^{aa} | 6,53 ± 1,74 ^{aa} | 6,73 ± 0,96 ^{aa} | 7,93 ± 1,47 ^{aa} | 5,1 ± 0,51 ^{bb} |
| Hemoglobina (g/dL) | 15,58 ± 1,80 ^{aa} | 15,92 ± 2,02 ^{aa} | 15,41 ± 2,35 ^{aa} | 16,38 ± 1,77 ^{aa} | 11,05 ± 0,96 ^{bb} |
| Hematócrito (%) | 50,00 ± 2,92 ^{aa} | 48,33 ± 5,88 ^{aa} | 46,36 ± 6,56 ^{aa} | 49,47 ± 4,78 ^{aa} | 35,78 ± 3,32 ^{bb} |
| Leucócitos (x10 ³ /μL) | 12,76 ± 2,58 ^{aa} | 14,66 ± 4,57 ^{aa} | 13,46 ± 4,35 ^{aa} | 13,7 ± 4,59 ^{aa} | 12,4 ± 3,77 ^{aa} |
| Basófilos (/μL) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Eosinófilos (/μL) | 1588,5 ± 876,45 ^{aa} | 1152,4 ± 430,51 ^{ab} | 1198,3 ± 761,13 ^{ab} | 1062,6 ± 770,03 ^{ab} | 650,0 ± 555,39 ^{bb} |
| Neutrófilos bastonetes (/μL) | 159,75 ± 112,30 ^{aa} | 342,38 ± 287,43 ^{aa} | 85,00 ± 121,63 ^{aa} | 166,63 ± 133,07 ^{aa} | 279,67 ± 238,39 ^{aa} |
| Neutrófilos segmentados (/μL) | 7731 ± 1755,56 ^{aa} | 10098 ± 4388,64 ^{aa} | 9057 ± 3477,04 ^{aa} | 10207 ± 4338,85 ^{aa} | 7983 ± 967,69 ^{aa} |
| Linfócitos (/μL) | 3216,0 ± 945,73 ^{aa} | 2819,3 ± 911,29 ^{aa} | 2771,3 ± 582,19 ^{aa} | 2706,0 ± 655,81 ^{aa} | 215,4 ± 3436,82 ^{bb} |
| Monócitos (/μL) | 103,38 ± 92,27 ^{bb} | 250,75 ± 213,74 ^{ab} | 351,50 ± 212,67 ^{aa} | 211,00 ± 59,62 ^{ab} | 213,50 ± 103,71 ^{ab} |
| M:E | 0,66 ± 0,72 ^{aa} | 0,72 ± 0,99 ^{aa} | 0,64 ± 0,29 ^{aa} | 0,51 ± 0,70 ^{aa} | 0,82 ± 0,48 ^{aa} |
| Plaquetas (/μL) | 250875 ± 27776,85 ^{aa} | 187375 ± 80393,56 ^{ab} | 266750 ± 70378,06 ^{aa} | 217000 ± 120259,2 ^{aa} | 96667 ± 25641,11 ^{bb} |

Médias com a mesma letra, na horizontal, não diferem pelo Teste de Tukey (p<0,05).

experimental e a de regressão e de portadores naturais do tumor, sendo que a fase pré-experimental apresentava valores médios diminuídos. As médias de concentrações de g₂-globulinas apresentaram-se aumentadas apenas nos portadores naturais de TVT, diferindo significativamente dos demais grupos. Não foi detectada a fração g-globulina nos animais deste experimento. Não houve diferença significativa entre os demais parâmetros analisados.

Avaliação da medula óssea

Não houve diferença significativa na relação M:E em todos os grupos experimentais. Os resultados estão demonstrados na tabela 1.

DISCUSSÃO

A anemia detectada nos cães portadores naturais de TVT foi um achado marcante e poderia ser atribuído à contínua secreção serosanguinolenta do tumor. O TVT é um tumor bastante irrigado, ulcerado e friável, na grande maioria das vezes, sendo esta secreção um achado clínico comum. Características intrínsecas do TVT associadas ao quadro populacional canino mais predisposto, como nutrição deficiente, verminose concomitante, ectoparasitas e livre acesso à rua, foram associados por outros pesquisadores a anemia detectada em cães portadores naturais de TVT (TINUCCI-COSTA, 1994).

Tabela 2. Médias e desvios padrões dos parâmetros do proteinograma de cães portadores de TVT de ocorrência natural, nas fases pré-experimental, de progressão, latência e regressão do TVT transplantado.

| PARÂMETROS | GRUPOS | | | | |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Fase pré-experimental | Fase de progressão | Fase de latência | Fase de regressão | Cães portadores naturais |
| Proteína total (g/dL) | 5,94 ± 0,30 ^{aa} | 6,45 ± 0,47 ^{aa} | 5,87 ± 0,33 ^{aa} | 6,49 ± 0,71 ^{aa} | 6,42 ± 1,17 ^{aa} |
| Albumina (g/dL) | 4,13 ± 0,33 ^{aa} | 4,0 ± 0,47 ^{aa} | 3,84 ± 0,58 ^{aa} | 3,95 ± 0,61 ^{aa} | 3,14 ± 0,40 ^{bb} |
| Globulina (g/dL) | 1,80 ± 0,36 ^{aa} | 2,40 ± 0,41 ^{aa} | 2,02 ± 0,46 ^{aa} | 2,53 ± 0,61 ^{ab} | 3,28 ± 1,20 ^{aa} |
| A:G | 2,39 ± 0,64 ^{aa} | 1,74 ± 0,41 ^{ab} | 2,03 ± 0,67 ^{ab} | 1,65 ± 0,49 ^{bc} | 1,07 ± 0,40 ^{cc} |
| Globulina α1 (g/dL) | 0,56 ± 0,68 ^{aa} | 0,18 ± 0,04 ^{aa} | 0,16 ± 0,07 ^{aa} | 0,25 ± 0,12 ^{aa} | 0,11 ± 0,07 ^{aa} |
| Globulina α2 (g/dL) | 0,16 ± 0,09 ^{aa} | 0,28 ± 0,13 ^{aa} | 0,22 ± 0,02 ^{aa} | 0,17 ± 0,08 ^{aa} | 0,25 ± 0,02 ^{aa} |
| α-globulinas (g/dL) | 0,51 ^{ab} | 0,61 ± 0,02 ^{aa} | 0,51 ± 0,16 ^{ab} | 0,53 ± 0,10 ^{ab} | 0,27 ± 0,04 ^{bb} |
| Globulina β1 (g/dL) | 0,16 ± 0,08 ^{aa} | 0,28 ± 0,25 ^{aa} | 0,31 ± 0,21 ^{aa} | 0,42 ± 0,07 ^{aa} | 0,48 ± 0,34 ^{aa} |
| Globulina β2 (g/dL) | 0,59 ± 0,07 ^{aa} | 0,41 ± 0,15 ^{aa} | 0,38 ± 0,31 ^{aa} | 0,63 ± 0,38 ^{aa} | 0,28 ± 0,14 ^{aa} |
| β-globulinas (g/dL) | 0,48 ± 0,02 ^{cc} | 0,81 ± 0,01 ^{ab} | 0,53 ± 0,14 ^{cc} | 0,54 ± 0,09 ^{bc} | 1,01 ^{aa} |
| Globulina γ1 (g/dL) | 0,42 ± 0,10 ^{bb} | 0,63 ± 0,16 ^{ab} | 0,55 ± 0,13 ^{ab} | 0,65 ± 0,18 ^{aa} | 0,68 ± 0,27 ^{aa} |
| Globulina γ2 (g/dL) | 0,51 ± 0,11 ^{bb} | 0,51 ± 0,07 ^{bb} | 0,48 ± 0,13 ^{bb} | 0,58 ± 0,09 ^{bb} | 1,74 ± 1,22 ^{aa} |

Médias com a mesma letra, na horizontal, não diferem pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Contudo, outros autores referem-se a anemia como um achado freqüente em pacientes portadores de neoplasias (OLGIVIE, 1996; CORAZZA et al., 1998; GLASPY, 2001), fato discordante neste trabalho, quando se observa os parâmetros eritrocitários dos cães inoculados com TVT. Nestes cães não se detectou anemia em nenhuma das fases de desenvolvimento do TVT transplantado. Este fato poderia ser atribuído a uma série de fatores, entre os quais, a adequada alimentação dos animais desde o nascimento até ao final da regressão do TVT. Outro fato é que esses animais foram vermifugados, não tinham acesso à rua e a outros cães que pudessem veicular parasitas e outras doenças. Além disso, os tumores estavam confinados ao subcutâneo, o que

impediria a contaminação e a drenagem de secreção serosanguinolenta para o meio ambiente. Esses fatores poderiam justificar, ao menos em parte, o quadro eritrocitário desses cães.

Interessante salientar que, tal como na literatura (COHEN, 1985; TINUCCI-COSTA, 1999), neste trabalho também observou-se aumento das contagens eritrocitárias em alguns cães transplantados com TVT, contudo isso não pôde ser relacionado ao volume do tumor, nem tão pouco relacioná-lo ao aumento da concentração de proteína e albumina de forma consistente. Tais achados carecem de estudos adicionais que elucidem os mecanismos pelos quais o TVT causa aumento das contagens eritrocitárias em cães.

Ocorrência isolada de anemia normocítica normocrômica em um único cão com TVT em fase de latência, sem correspondente relevância clínica, foi atribuída a artefato na colheita e/ou processamento do material. Tal suposição baseia-se nos achados do exame anterior e subsequente que se apresentavam dentro da normalidade.

Dois dos cães transplantados com TVT, em todas as fases de desenvolvimento do tumor, apresentaram contagens de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito elevados. Isto pode sugerir que o TVT desencadeia distúrbios hemodinâmicos em alguns cães, levando a um quadro de hemoconcentração. Para Cohen (1985), a eritrocitose detectada em cães com TVT volumoso seria decorrente da produção ectópica de EPO, o que aparentemente não ocorreu neste estudo, pois o aumento das contagens de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do hematócrito foram acompanhadas por aumento acentuado da albumina sérica, sem correspondente aumento da relação M:E na medula óssea, o que sugere hemoconcentração. Estudos adicionais poderiam esclarecer os mecanismos que causam aumento das contagens de eritrócitos nos cães transplantados com TVT.

Quanto ao quadro leucocitário global, as médias das contagens encontraram-se dentro dos limites de normalidade para todos os grupos experimentais. Linfopenia e trombocitopenia estavam presentes nos portadores naturais; neutrofilia com desvio à esquerda e trombocitopenia nos cães com TVT em fase pré-experimental. As alterações encontradas no quadro diferencial de leucócitos nos cães transplantados com TVT foi atribuída ao processo inflamatório desencadeado pela inoculação e desenvolvimento do tumor transplantado. A resposta do hospedeiro a introdução de antígenos exógenos, dado pela inoculação de células tumorais, funcionando como um estímulo quimiotático para células inflamatórias/imunes no local, com reflexo no sangue periférico (ABBAS et al., 1994). Outros autores se referem a alterações no perfil leucocitário de animais portadores de neoplasias (HALL, 1985; NELSON; COUTO, 2001). A eosinofilia foi um achado comum a todos os grupos experimentais, incluído os cães na fase pré-experimental, tornando impossível estabelecer-se uma correlação com o tumor.

A trombocitopenia foi um achado marcante nos animais com TVT de ocorrência natural e também identificada nos cães em fase de progressão tumoral, significativas em relação aos demais grupos. Tal ocorrência poderia ser devido à contínua perda de líquido serosangüinolento através do tumor, ou

mesmo por mecanismos relacionados ao consumo ou seqüestro de plaquetas, muitas vezes identificados nos pacientes portadores de neoplasias. Karpatkin; Pearlstein (1981) relataram que várias linhagens de células tumorais induzem a trombocitopenia "in vivo", sugerindo que as plaquetas facilitem a formação de metástases. Redução no número de plaquetas ocorre em mais de 36% dos cães portadores de tumor, devido principalmente ao consumo destas ou seqüestro no interior dos capilares (OLGIVIE, 1996).

Quanto aos achados seroproteicos, observou-se hiperalbuminemia e hipoglobulinemia em praticamente todos os grupos experimentais, exceto nos portadores naturais. Nestes últimos a globulina sérica encontrava-se nos limites de normalidade. Hiperalbuminemia e hipoglobulinemia também estiveram presentes nos cães em fase pré-experimental, o que impede que se possa estabelecer uma correlação entre esses achados e a presença de TVT. Hiperalbuminemia, com diminuição da fração a-globulina, apresentados por alguns cães, é concordante com Jain (1993). Este autor relata que aumentos na fração albumina normalmente são acompanhados por uma diminuição da fração a-globulina, sem, contudo, elucidar os mecanismos responsáveis por tal ocorrência.

Exceto os cães em fase de progressão tumoral e os portadores naturais, que apresentaram a fração b-globulina dentro dos limites normais, os demais grupos, contrariamente, apresentaram a b-globulina e as subfrações (b_1 e b_2) reduzidas. Similarmente, a fração g_1 -globulina estava normal nos grupos com o TVT em regressão e nos portadores naturais, e a g_2 -globulina em todos, exceto nos portadores naturais, nos quais estava aumentada.

Trumel et al. (1996) comentaram que pode ocorrer aumento da fração b-globulina em algumas neoplasias de origem reticuloendotelial. Sendo a mesma observação referida por Kaneko (1989), quando há aumento de g_2 -globulina. Outros pesquisadores também fazem referência ao aumento das g-globulinas em pacientes portadores de tumores (BESCHONER et al., 1979; TRAIL; YANG, 1985), entretanto, neste experimento, somente os portadores naturais de TVT é que exibiram a g_2 -globulina aumentada significativamente. Dessa forma, pode-se sugerir que somente os tumores com evolução crônica apresentam um reflexo na produção de g_2 -globulinas, pois nenhuma alteração foi encontrada nas diferentes fases de evolução do tumor nos cães transplantados com TVT.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste trabalho e, provavelmente, ao pequeno número de animais utilizados, não é possível detectar relação direta entre as alterações eritroleucocitárias, medulares e plaquetárias nos cães transplantados ou portadores naturais de tumor venéreo transmissível. Os achados, tanto nos cães transplantados como nos portadores naturais, não são conclusivos, pois muitos deles observados nos animais com tumores transplantados estão presentes também na fase pré-experimental, e os detectados nos com TVT de ocorrência natural parecem estar mais relacionados ao manejo deficitário a que estes cães são submetidos do que propriamente a presença do tumor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. **Cellular and Molecular Immunology**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1994. 417p.
- ALEXANDER, J.W., BRAUNTEIN, H., ALTEMEIER, W. Transplantation studies of the venereal sarcoma of dogs. **J. Surg. Res.**, New York, v.4, n.4, p.151-159, 1964.
- BESCHONER, W.E., HESS, A.D., NERENBERG, S.T. et al. Isolation and characterization of canine venereal tumour-associated inhibitory and blocking factors. **Cancer Res.**, Baltimore, v.39, n.10, p.3920-3927, 1979.
- CHANDLER, J.P., YANG, T.J. Canine transmissible venereal sarcoma distribution of the T and B lymphocytes in blood, draining lymph nodes and tumor at different stages of growth. **Br. J. Cancer**, Edinburgh, v.44, n.4, p.514-521, 1981.
- COHEN, D. The canine transmissible venereal tumor: a unique result of tumor progression. **Adv. Cancer Res.**, New York, v.43, p.75-112, 1985.
- CORAZZA, F., BEGUIN, Y., BERGMANN, P. et al. Anemia in children with cancer is associated with decreased erythropoietic activity and not with inadequate erythropoietin production. **Blood**, Edinburgh, v.92, n.5, p.1793-1798, 1998.
- GLASPY, J. Anemia and fatigue in cancer patients. **Cancer Supplement**, v.92, n.6, p.1719-1724, 2001.
- GORSE, M.J. Polycythaemia associated with renal fibrosarcoma in a dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg v.192, n.6, p.793-794, 1988.
- GRINDEM, C.R. Bone marrow biopsy and evaluation. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, Philadelphia, v.19, n.4, p.669-696, 1989.
- GROSS, L. The contagious venereal dog sarcoma. In: _____. **Oncogenic viruses**. New York: Pergamon Press, 1983. p.117-122.
- HALL, R.L. Respostas e alterações leucocitárias. In: FENNER, W.R. **Manual de prática clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. p.258-259.
- HARDING, M.W., YANG, T.J. Regulation of leukocytes glass adherence and tube leukocyte adherence inhibition (LAI) reactivity by serum factors in dogs with progressing or spontaneously regressing canine transmissible venereal sarcoma (CTVS). **Cancer Immunol. Immunother.** Heidelberg, v.19, n.3, p.168-176, 1985.
- HARRISON, M.A., RAE, I.F. **General techniques of cell culture**. 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. 162p.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 1.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4ed. California: Academic Press Inc., 1989. p.142-164.
- KARPATKIN, S., PEARLSTEIN, E. Role of platelets in tumor cell metastases. **Annals of Internal Medicine**, v.95, n.5, p.636-641, 1981.
- KOIKE, T., OTOMO, K., KUDO, D. Clinical examination of canine transmissible venereal sarcoma: relationship between hematological and histological findings. **J. Jpn. Vet. Med. Assoc.**, v.32, n.3, p.137-140, 1979.
- MIZUNO, S., FUGINAGA, T., HAGIO, M. Role of lymphocytes in spontaneous regression of experimentally transplanted canine transmissible venereal sarcoma. **J. Vet. Med. Sci.**, Tokyo, v.56, n.1, p.15-20, 1994.
- MOHANTY, G.C., RAJYA, B.S. Growth and morphological characteristics of canine venereal

tumor cells *in vitro*. **Vet. Pathol.**, Washington, v.14, n.4, p.420-425, 1977.

NELSON, R.W., COUTO, C.G. Leucopenia e leucocitose. In: _____. **Medicina interna de pequenos animais**. 2ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.924-930.

OLGIVIE, G.K Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW, S. J. **Small animal clinical oncology**. 2 ed., Philadelphia: Saunders, 1996. p.32-42.

PALKER, T.J., YANG, T.J. Identification and phisicochemical characterization of a tumor-associated antigen from canine transmissible venereal sarcoma. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.66, n.4, p.779-787, 1981.

PAREJO, J.S. Estudio experimental de la contagiosidad del linfosarcoma de Sticker. **Arch. Zootec.**, v.19, n.74, p.167-212, 1970.

PETERSON, M.E., ZANJANI, E.D. Inappropriate erythropoietin production from a renal carcinoma in a dog with polycythemia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.179, n.9, p.995-996, 1981.

ROSENFELD, G. Etilenodiaminatetracítica dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. **Vet. Clin.**, São Paulo, v.31, p.65-71, 1955.

THEILEN, G.H., MADEWELL, B.R. Tumors of the skin. In: **Veterinary cancer medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1979. p.171-174.

TINUCCI-COSTA, M. **Utilização do fator de**

transferência dialisável (TFd) e RNA imune na imunoterapia de cães portadores naturais do tumor venéreo transmissível canino (TVT). Jaboticabal, 1994. 130p. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

TINUCCI-COSTA, M. **Tumor venéreo transmissível canino: estudos imuno-histoquímicos e de transplantados xenogênicos e alogênicos**. Ribeirão Preto, 1999. 149p. Tese (Doutorado em Patologia Veterinária) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

TRAIL, P.A., YANG, T.J. Canine transmissible venereal sarcoma: quantitation of T-lymphocyte subpopulations during progressive growth and spontaneous tumor regression. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.74, n.2, p.461-467, 1985.

TRUMEL, C., SCHELCHER, F., BRAUN, J.P. et al. L'électrophorèse des protéines sériques: principes d'interprétation chez le chien, le chat, el le cheval. **Revue Méd. Vét.**, v.147, n.2, p.123-130, 1996.

WARDROP, K.J., NAKAMURA, J., GIDDENS JUNIOR, W.E. Nephroblastoma with secondary polycythemia in a New Zeland white rabbit. **Lab. Anim. Sci.**, v.32, n.3, p.280-282, 1982.

YANG, T.J., JONES, J.B. Canine transmissible venereal sarcoma: transplantation studies in neonatal and adult dogs. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.51, n.6, p.1915-1918, 1973.