JÉSSICA FILIPA DO CARMO TEIXEIRA

Mastocitoma canino: quatro casos clínicos

Orientadora: Professora Doutora Maria João Soares

Coorientadora: Professora Ana Rita Serras

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa,

2021

JÉSSICA FILIPA DO CARMO TEIXEIRA

Mastocitoma canino: quatro casos clínicos

Dissertação defendida em provas públicas para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, com o Despacho de Nomeação de Júri Nº 296/2021, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Sofia Van Harten
Arguente: Professora Doutora Ana Faustino
Orientadora: Professora Doutora Maria João Soares

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa,
2021

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, a minha segunda casa durante cinco anos, onde aprendi a estudar e fiz bons amigos.

À Professora Doutora Maria João Soares, minha Orientadora, pela disponibilidade e por toda a ajuda durante a realização da minha dissertação.

À Professora Ana Rita Serras pela orientação durante o estágio curricular no Hospital Veterinário da FMV-ULHT e no planeamento da minha dissertação.

A toda a equipa do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT) por toda a ajuda durante o estágio e, em especial, à Dra. Joana Peixoto, por toda a ajuda durante o estágio e com a minha dissertação.

A toda a equipa do Hospital Veterinário do Atlântico, onde cresci como pessoa e como futura Médica Veterinária e onde aprendi o verdadeiro significado de “equipa”.

Aos meus pais, por todo o amor e apoio incondicionais que me proporcionaram não só durante o curso, mas durante toda a minha vida.

À minha avó materna que, mesmo já não estando presente, estará sempre comigo.

Aos meus avós paternos e a toda a minha família pelo apoio e motivação.

Ao meu namorado, por nunca me deixar duvidar das minhas capacidades.

Aos amigos, que fiz na universidade e levo para a vida, Inês, Cláudia e Pedro.

Resumo

O mastocitoma é a neoplasia cutânea mais comum em cães. O diagnóstico inicial é realizado por citologia e confirmado com histopatologia. É essencial realizar um estadiamento que inclua, no mínimo, análises sanguíneas, citologias dos linfonodos regionais e ecografia abdominal. Alguns fatores de prognóstico incluem a classificação histológica, metastização e marcadores de proliferação celular. O tratamento de primeira escolha é a cirurgia, mas existem tratamentos que podem ser utilizados em alternativa ou como adjuvantes, como a quimioterapia, a radioterapia e os inibidores de tirosina quinase.

Com o presente trabalho pretendeu-se realizar uma revisão da literatura atual, a descrição de quatro casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular e uma comparação entre ambos.

Para tal, foram selecionados quatro casos clínicos de mastocitoma canino, acompanhados durante o estágio curricular no Hospital Veterinário Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Nos casos descritos verificaram-se duas das raças e também a faixa etária descrita na literatura como predispostas. Em todos os casos foi realizado diagnóstico com citologia, confirmado por histopatologia e estadiamento adequado. Todos os animais foram sujeitos a cirurgia e três iniciaram tratamento adjuvante, tendo um sido interrompido. Um dos animais foi eutanasiado devido à progressão da doença.

Palavras-chave: cão, mastocitoma, neoplasia cutânea, oncologia, quimioterapia.

Abstract

Mast cell tumor is the most common skin neoplasm in dogs. Initial diagnosis is performed by cytology and confirmed by histopathology. It is essential to perform staging that includes, as a minimum, blood tests, regional lymph node cytology and abdominal ultrasound. Some prognostic factors include histological classification, presence of metastasis and cell proliferation markers. The first-line treatment is surgery, but there are treatments that can be used alternatively or as adjuvants, such as chemotherapy, radiotherapy and tyrosine kinase inhibitors.

With the present work, it was intended to make a current literature review, describe four clinical cases followed during the curricular internship and make a comparison between both.

To this end, four clinical cases of canine mast cell tumors were selected, followed up during the curricular internship at the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine in Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

In the cases described there were two breeds and also the age group described in the literature as predisposed. In all cases, diagnosis was performed with cytology, confirmed by histopathology and appropriate staging was done. All animals underwent surgery and three started adjuvant treatment, with one being discontinued. One of the animals was euthanized due to disease progression.

Keywords: chemotherapy, dog, mast cell tumor, oncology, skin neoplasm.

Lista de Abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico
AgNORS - Regiões organizadoras nucleolares
ALKP - Fosfatase alcalina
ARN - Ácido ribonucleico
ATP - Adenosina trifosfato
BID - Duas vezes ao dia (do latim, *Bis in die*)
FMV-ULHT – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
GPT - Alanina aminotransferase
IgE – Imunoglobulina E
IL's - Interleucinas
IM - Intramuscular
ITQ – Inibidor de tirosina quinase
IV - Intravenoso
PAAF - Punção aspirativa por agulha fina
PO - Via oral (do latim, *per os*)
SC – Subcutâneo
SCF - *Stem cell factor* (fator das células tronco)
SID - Uma vez ao dia (do latim, *semel in die*)
TID – Três vezes ao dia (do latim, *ter in die*)
TLR - Recetores *toll-like*

Índice

Agradecimentos 3

Resumo 4

Abstract 5

Lista de Abreviaturas 6

Índice 7

Índice de tabelas 10

Índice de figuras 11

Índice de gráficos 12

Capítulo I - Estágio curricular 13

1. Hospital Veterinário Escolar FMV-ULHT 13
2. Hospital Veterinário do Atlântico 15

Capítulo II - Revisão bibliográfica 19

1. Introdução 19
2. Mastócitos 19
3. Mastocitoma 20
   - 3.1. Etiologia 20
   - 3.2. Epidemiologia 21
     - 3.2.1. Incidência 21
     - 3.2.2. Localização 21
     - 3.2.3. Raça 22
     - 3.2.4. Idade 22
     - 3.2.5. Género 22
   - 3.3. Apresentação clínica 22
   - 3.4. Sinais clínicos e síndromes paraneoplásicas 23
   - 3.5. Diagnóstico 23

3.6. Estadiamento....25
3.7. Prognóstico....27
3.7.1. Grau histológico....27
3.7.2. Localização....29
3.7.3. Idade....30
3.7.4. Raça....30
3.7.5. Tamanho e velocidade de crescimento....30
3.7.6. Sinais sistémicos....30
3.7.7. Metastização....31
3.7.8. Recidiva....32
3.7.9. Marcadores de proliferação celular....32
3.7.9.1. Índice mitótico....32
3.7.9.2. Ki-67....32
3.7.9.3. Regiões Organizadoras Nucleares (AgNORs)....33
3.7.10. Padrão KIT e mutações no *c-kit*....33
3.8. Tratamento....33
3.8.1. Cirurgia....33
3.8.2. Corticoterapia....35
3.8.3. Quimioterapia....35
3.8.3.1. Vimblastina e prednisolona....36
3.8.3.2. Lomustina....36
3.8.3.3. Vimblastina, prednisolona e lomustina....37
3.8.3.4. Clorambucilo e prednisolona....37
3.8.4. Inibidores de tirosina quinase (ITQ)....37
3.8.4.1. Fosfato de toceranib....37
3.8.4.2. Mesilato de masitinib....38
3.8.5. Radioterapia....38
3.8.6. Outros tratamentos....39
Capítulo III - Materiais e métodos....40

Capítulo IV - Casos clínicos 41

1. Caso clínico 1 - Mastocitoma mucocutâneo 41
2. Caso clínico 2 – Mastocitoma cutâneo inguinal.....45
3. Caso clínico 3 – Mastocitoma cutâneo no membro posterior direito.....49
4. Caso clínico 4 – Mastocitoma escrotal.....51

Capítulo V - Discussão 56

Conclusão..... 64

Bibliografia 65

Anexos I

Anexo A – Exames complementares de diagnóstico do caso clínico 1 I

Anexo B – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 2 XII

Anexo C – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 3 XXIII

Anexo D – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 4 XXVII

Índice de tabelas

Tabela 1 - Estadiamento clínico para mastocitoma canino proposto pela Organização Mundial de Saúde. Adaptado de O'Keefe, 1990. 27

Tabela 2 - Escala de classificação histológica de mastocitoma canino. Adaptada de Patnaik *et al*., 1984. 28

Tabela 3 - Classificação histológica das metástases nodais. Adaptado de Weishaar *et al*, 2014. 31

Índice de figuras

Figura 1 - Nódulo e edema inguinal após possível recidiva. Imagem original, cedida pela Dra. Joana Peixoto. 55

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Casos acompanhados na especialidade de Oncologia Clínica. ... 14
Gráfico 2 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas no internamento. ... 14
Gráfico 3 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas nas consultas. ... 16
Gráfico 4 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas no internamento. ... 16
Gráfico 5 - Distribuição dos exames complementares de diagnóstico acompanhados. ... 17
Gráfico 6 - Distribuição das cirurgias acompanhadas. ... 17

Capítulo I - Estágio curricular

O estágio foi realizado no âmbito da Unidade Curricular "Estágio", sendo esta a última para conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT), frequentado entre Setembro de 2015 e Dezembro de 2021. Este foi dividido entre duas instituições, primeiro no Hospital Veterinário Escolar da FMV-ULHT e, em seguida, no Hospital Veterinário do Atlântico, perfazendo um total de 1056 horas de estágio em seis meses.

1. Hospital Veterinário Escolar FMV-ULHT

A primeira parte do estágio decorreu entre 1 de novembro de 2020 e 31 de dezembro de 2020, no Hospital Veterinário Escolar da FMV-ULHT. O horário realizado era diurno em quatro dias por semana, entre as 8 e as 20 horas e um turno noturno semanal no internamento geral.

Este estágio foi principalmente focado na especialidade de Oncologia Clínica e permitiu acompanhar, em ambiente hospitalar, consultas, exames complementares de diagnóstico, cirurgias, tratamentos e internamentos relacionados com esta especialidade. A maior parte das horas deste estágio foram passadas em consultas e reavaliações, onde foi possível praticar a recolha da resenha, anamnese e motivo da consulta, realizar o exame físico e o exame oncológico de acordo com a neoplasia em causa, bem como a recolha de amostras para exames complementares. Em segundo lugar, foi possível acompanhar exames complementares de diagnóstico e estadiamento, como realização de punções aspirativas com agulha fina (PAAFs) e, por vezes, posterior observação de citologias no laboratório e acompanhamentos de exames imagiológicos. Foram também acompanhadas as sessões de quimioterapia e algumas cirurgias oncológicas. Durante este estágio foram acompanhados diversos casos dentro da especialidade de oncologia, entre eles os quatro casos descritos na presente dissertação. Foram acompanhados, no total, 57 casos, discriminados no Gráfico 1, cuja população foi composta por 31 cães (13 machos e 18 fêmeas) e 26 gatos (12 machos e 14 fêmeas) e onde se pode verificar que a neoplasia mais frequente foi o mastocitoma, seguido do linfoma e do carcinoma das células escamosas.

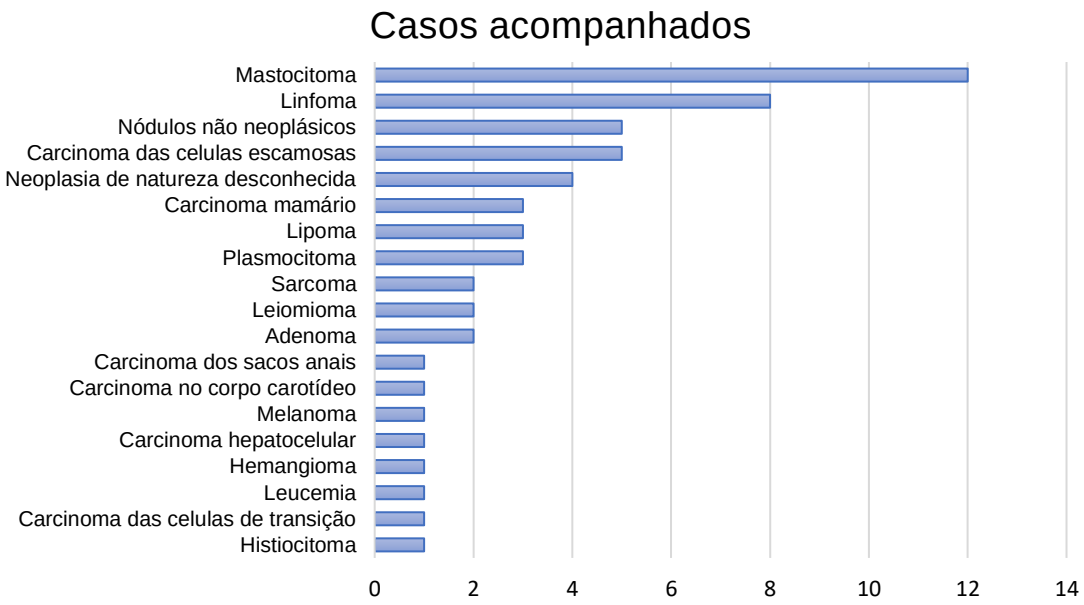


Gráfico 1 - Casos acompanhados na especialidade de Oncologia Clínica.

Além do acompanhamento na área de oncologia clínica, foi também possível, durante o turno noturno, acompanhar e auxiliar em urgências de diversas áreas de ação clínica, tal como é demonstrado no Gráfico 2, bem como na monitorização e administração de medicação aos animais internados na Unidade de Cuidados Intensivos, no Internamento Geral e na Unidade de Doenças Infecciosas. Nestes turnos foi possível acompanhar 52 casos compostos por 31 cães (18 machos e 13 fêmeas) e 21 gatos (8 machos e 13 fêmeas).

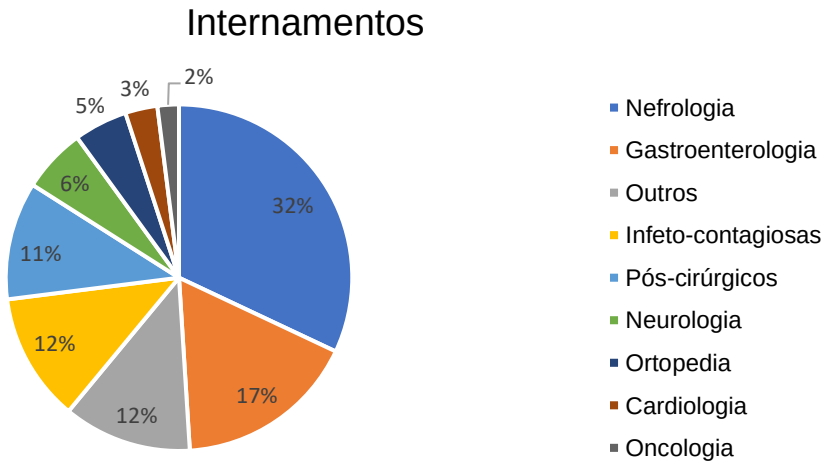


Gráfico 2 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas no internamento.

Este estágio permitiu solidificar um interesse já existente na área de Oncologia clínica, bem como acompanhar e compreender as particularidades do quotidiano nesta especialidade. Foi especialmente interessante perceber que cada vez mais existem tutores sensibilizados para o desenvolvimento de doenças oncológicas nos seus animais de companhia e o interesse crescente em proporcionar tratamentos que permitem um aumento do tempo de vida, mantendo sempre em prioridade a manutenção da qualidade de vida.

2. Hospital Veterinário do Atlântico

A segunda parte do estágio decorreu entre 1 de janeiro de 2021 e 30 de abril de 2021, no Hospital Veterinário do Atlântico, em Mafra. O horário realizado consistiu em turnos rotativos – manhã, tarde ou noite – num total de 40 horas semanais.

Neste estágio foi possível contactar com diversas áreas da Medicina Veterinária tais como Anestesia, Cardiologia, Cirurgia, Medicina Interna, Oftalmologia, Ortopedia, entre outras.

Durante este estágio foi possível observar 711 animais, entre os quais 438 cães (241 machos e 197 fêmeas), 270 gatos (151 fêmeas e 119 machos), 2 coelhas e 1 papagaio.

No acompanhamento das consultas foi possível fazer a recolha da resenha, anamnese e motivo da consulta, o exame físico, auxiliar em exames específicos nas consultas de especialidade, como exame ortopédico e oftalmológico e praticar a recolha de amostras para análises sanguíneas, bem como realizar a administração de vacinas e medicações. Além disto, foi possível auxiliar e acompanhar a realização de exames complementares de diagnóstico, quando necessários.

Após a recolha da informação necessária, com ajuda do Médico Veterinário assistente, era realizada uma lista de diagnósticos diferenciais, de forma a estimular o raciocínio clínico. No total, foram acompanhadas, 206 consultas, discriminadas no Gráfico 3.

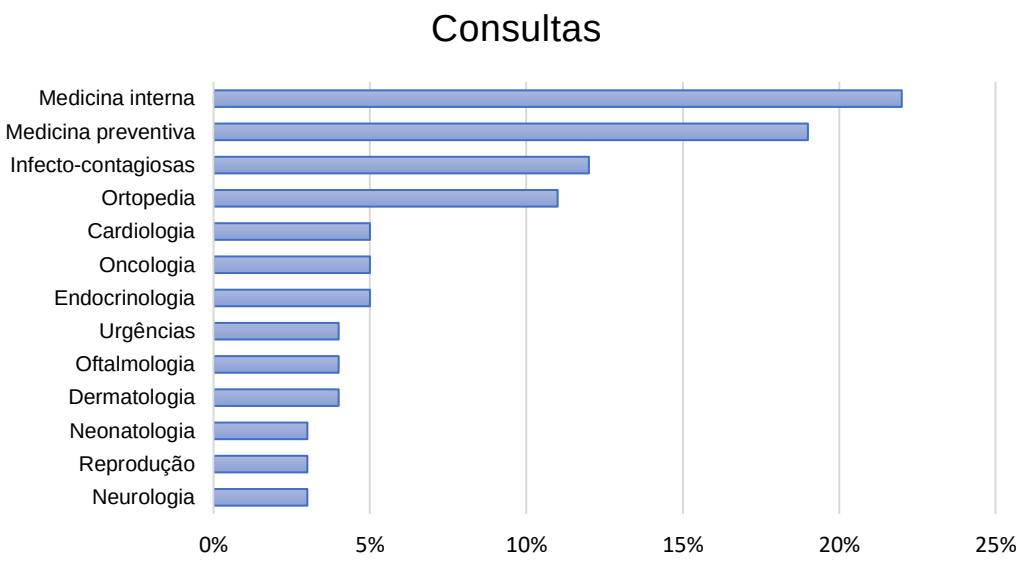


Gráfico 3 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas nas consultas.

No internamento, foi possível assistir às rondas de passagem e discussão de casos, realizar os exames físicos e administrar medicação aos animais internados, acompanhar os exames complementares de diagnóstico e também documentar e acompanhar a evolução dos casos. Foi acompanhado o internamento de 314 animais, discriminados no Gráfico 4.

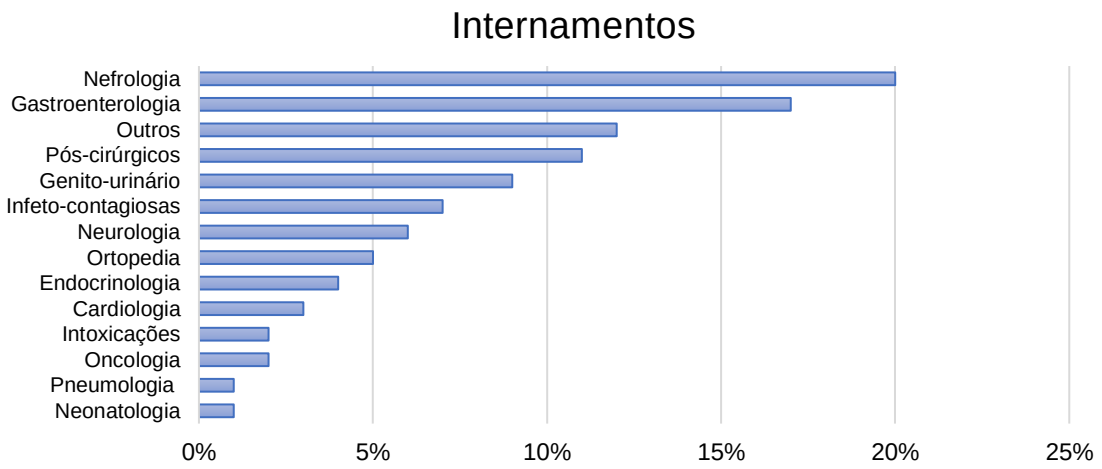


Gráfico 4 - Distribuição das diferentes áreas de Medicina de Animais de Companhia observadas no internamento.

Durante o estágio, foram acompanhadas 39 urgências, tais como traumas, intoxicações, agudizações de doenças crónicas, alterações neurológicas diversas, entre outras.

Tal como referido anteriormente, foi possível acompanhar e realizar vários exames complementares de diagnóstico ao longo do estágio e, no laboratório associado, foram realizadas análises clínicas como hemogramas, bioquímicas e análises endócrinas, como discriminado no Gráfico 5.

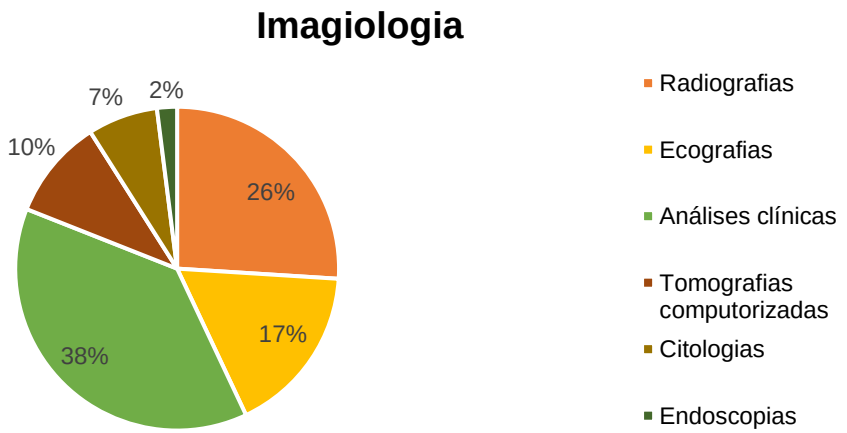


Gráfico 5 - Distribuição dos exames complementares de diagnóstico acompanhados.

O tempo passado a acompanhar cirurgias, foi dividido entre Anestesia e Cirurgia e, no total, foram acompanhadas 178 cirurgias.

Em anestesia foi possível acompanhar o planeamento do protocolo anestésico, a preparação do paciente, a preparação do bloco cirúrgico, a monitorização anestésica e do período pós-cirúrgico.

Como assistente de cirurgião, foi possível auxiliar em diversas cirurgias como eletivas, ortopédicas, de tecidos moles, descritas no Gráfico 6.

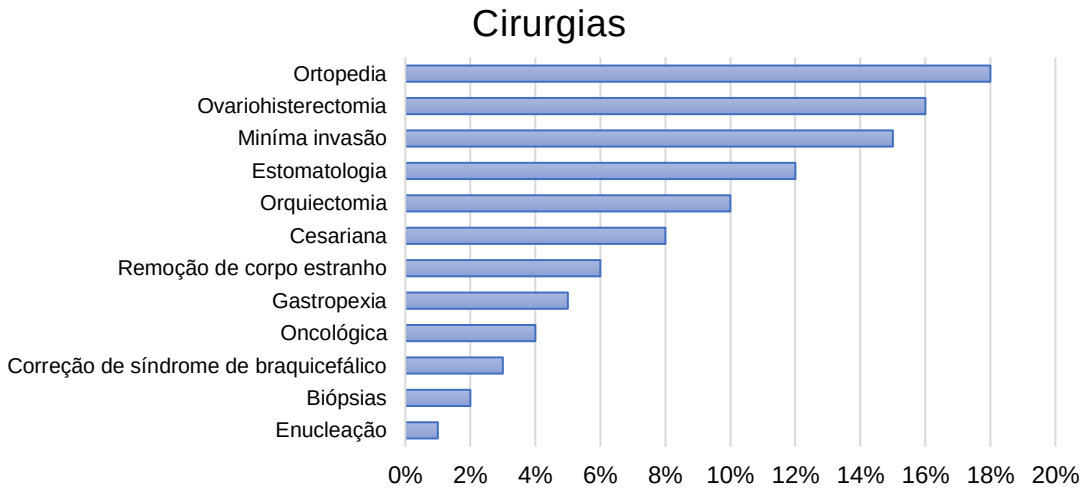


Gráfico 6 - Distribuição das cirurgias acompanhadas.

Periodicamente, eram realizadas reuniões, onde eram apresentados e discutidos casos recentemente acompanhados no Hospital Veterinário do Atlântico.

Este estágio foi bastante enriquecedor pois permitiu experienciar diversas áreas da Medicina Veterinária, cimentar conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso, ganhar prática na realização de vários procedimentos e também no contacto com os tutores e acompanhar a rotina hospitalar. Além disto, contribuiu significativamente para a aprendizagem não só das funções de um Médico Veterinário num Hospital de Animais de Companhia, mas também das suas funções enquanto membro de uma equipa multidisciplinar, que atua em conjunto, com o objetivo de proporcionar aos animais os melhores cuidados de saúde possível.

Capítulo II - Revisão bibliográfica

1. Introdução

Graças à melhoria progressiva da qualidade de vida que os tutores proporcionam aos seus animais de companhia e também ao avanço dos cuidados de saúde médico-veterinários, existe uma tendência para o aumento da esperança de vida destes animais. Havendo uma maior incidência de doenças oncológicas em animais geriátricos, aumenta também a preocupação dos tutores em relação a esta temática (Vail *et al*., 2019).

2. Mastócitos

Os mastócitos são células do tecido conjuntivo que se encontram por todo o corpo, mas em maior número em locais expostos a agentes externos, nomeadamente na pele, mucosas e vias aéreas e, no caso do cão, também no fígado (O'Keefe, 1990; Tizard, 2014). Localizam-se especificamente perto de vasos sanguíneos, de forma a regular o fluxo sanguíneo e a migração celular através de quimiotaxia (Tizard, 2014).

Têm origem em células precursoras hematopoiéticas que se encontram na medula óssea. Enquanto imaturos, os mastócitos circulam no sangue e migram para os tecidos, onde se diferenciam (Kitamura, 1978). A proliferação e diferenciação dos mastócitos é regulada por vários mecanismos, tais como a ligação do fator de crescimento derivado de fibroblastos (stem cell factor) ao recetor transmembranar de tirosina quinase "KIT", o mecanismo dependente de citoquinas derivadas das células T (interleucinas 3, 4, 9 e 10), a ligação das imunoglobulinas E (IgE) ao recetor recetor de alta afinidade para IgE (FCεRI), e o fator de crescimento nervoso (Hill, 1998; Theoharides & Cochrane, 2004).

Os mastócitos maduros são grandes e globosos e o seu pequeno núcleo pode ser de difícil observação em citologias, devido à quantidade de grânulos presentes no citoplasma, que têm propriedades metacromáticas e, por isso, assumem uma coloração muito evidente quando corados com azul de toluidina (Tizard, 2014; Junqueira & Carneiro, 2017).

Em humanos, os mastócitos são categorizados em dois tipos, de acordo o conteúdo dos seus grânulos: os mastócitos do tecido conjuntivo, presentes na pele e peritoneu, cujos grânulos contêm heparina, e os mastócitos das mucosas, cujos grânulos contêm sulfato de condroitina (Tizard, 2014; Junqueira & Carneiro, 2017). Em cães, podem ainda ser subdivididos de acordo com o seu conteúdo em proteases: tripase, quinase ou protease-quinase (Kube *et al*., 1998).

Os mastócitos, através da sua ação parácrina, têm um papel fundamental em vários processos fisiológicos, nomeadamente na imunidade, tanto inata como adquirida, na

inflamação, nas reações alérgicas e nas reações a parasitas (Beaven, 2009; Junqueira & Carneiro, 2017). Para isso, expressam diversos tipos de recetores, sendo os principais os recetores FcεRI, aos quais se ligam as IgE, mas também recetores de reconhecimento padrão, recetores para componentes do complemento e recetores para catecolaminas (Kumar & Sharma, 2010; Tizard, 2014). A ativação dos mastócitos também pode ser desencadeada por citoquinas, quimiocinas, agentes químicos, estímulos físicos, venenos de insetos e animais, vírus e padrões moleculares associados a lesão, como defensinas, anafilatoxinas, neuropeptídeos, adenosinas e endotelinas (Tizard, 2014).

Após esta ativação, ocorre a libertação de várias moléculas, algumas delas armazenadas nos grânulos e libertadas aquando da desgranulação, como histamina, heparina, sulfato de condroitina, proteases e péptidos antibióticos mas também outras, sintetizadas após estímulo como eicosanoides (prostagladinas e leucotrienos), citoquinas, quimiocinas, fatores de crescimento celular, entre outros (Stockham & Basel, 1983; Castells, 2006; Beaven, 2009). Estas moléculas são transportadas pela circulação linfática até aos linfonodos, onde influenciam a proliferação e a migração celular (Beaven, 2009).

Assim, alguns efeitos da ativação dos mastócitos incluem vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, broncoconstrição, imunomodulação, angiogénese e regeneração tecidual (Henz, 2008; Beaven, 2009; Tizard, 2014).

3. Mastocitoma

O mastocitoma é uma neoplasia maligna de células redondas que, na maioria dos casos, ocorre primariamente na derme ou tecido subcutâneo e, muito raramente, noutras partes do corpo como os órgãos viscerais, ou de forma sistémica, denominada mastocitose (Fowler *et al*, 1966; Bostock, 1973; Takahashi *et al*., 2000). Caracteriza-se por uma proliferação excessiva de mastócitos com diferentes níveis de diferenciação (Duncan & Prasse, 1979; Blackwood *et al*., 2012).

3.1. Etiologia

A etiologia do mastocitoma canino ainda não é totalmente conhecida, no entanto estão descritas algumas alterações que poderão estar na sua origem (Blackwood *et al*, 2012).

Algumas das alterações mais conhecidas estão relacionadas com o recetor KIT (London e Thamm, 2019). O KIT é um recetor transmembranar de tirosina quinase presente em células normais que, ao ligar-se com o *stem cell factor* (SCF), estimula a diferenciação e proliferação dos mastócitos (Hill & Martin, 1998; Lin & London, 2006). Em cerca de 20-30% dos mastocitoma de grau II/III foram encontradas mutações somáticas no *c-kit*, o proto-oncogene que codifica o KIT. Estas mutações resultam na ativação do KIT independente do

SCF, levando a uma desregulação da diferenciação e proliferação dos mastócitos (Zemke *et al*., 2002; Letard *et al*., 2008). As mutações podem ocorrer no domínio justamembranar (exões 11-12) e no domínio extracelular (exões 8-9) (London *et al*., 1999; Vozdova, 2020a).

Foram também identificadas mutações no *TP53*, um gene supressor tumoral, em cães com mastocitoma (Ginn *et al*., 2000; Vozdova, *et al*., 2020a; Vozdova, *et al*., 2020b).

Também estão descritas alterações na expressão das proteínas p21 e p27, inibidoras dos complexos *ciclin-dependent kinase complexes* (*CDK*), que contribuem para a regulação do ciclo celular (Wu *et al*., 2004).

O facto de existirem raças predispostas é um forte indício da existência de uma origem genética (Hottendorf & Nielsen, 1967; London & Thamm, 2019). Alguns estudos descrevem alterações encontradas em raças específicas, como a presença de polimorfismos no gene *GNAI2* e outros genes associados à síntese do ácido hialurónico em Golden Retrievers (Arendt *et al*., 2015).

Apesar de não estar estabelecida uma relação direta entre a inflamação crónica e o desenvolvimento de mastocitoma, está descrita uma sobrerrepresentação em cães com historial de dermatite atópica (O'Connell & Thomson, 2011).

3.2. Epidemiologia

3.2.1. Incidência

Em cães, o mastocitoma representa 16-21% das neoplasias cutâneas e é também uma das neoplasias malignas mais comuns (Bostock, 1986, Blackwood *et al,* 2012).

3.2.2. Localização

O mastocitoma cutâneo pode desenvolver-se em qualquer parte do corpo, mas as localizações mais frequentes são o tronco e zona perineal, seguido dos membros e, menos frequentemente, cabeça e pescoço (Hottendorf & Nielsen, 1967; Rassnik *et al*, 1999; Horta *et al*, 2018).

No caso do mastocitoma subcutâneo, as localizações mais comuns são os membros, região dorsal e tórax (Newman *et al*., 2007; Thompson *et al*., 2011).

Outras localizações primárias de mastocitoma, menos comuns mas também descritas, incluem a mucosa oral (Elliott *et al*., 2016), a cavidade nasal (Khoo *et al*., 2017), a conjuntiva ocular (Fife *et al*., 2011) e os órgãos viscerais, nomeadamente o trato gastrointestinal, o fígado e o baço (Takahashi *et al*., 2000; Ozaki *et al*., 2002).

3.2.3. Raça

Apesar de estar descrito em qualquer raça e também em cães sem raça definida, existe uma maior incidência de mastocitoma cutâneo em raças tipo Bulldog (Bulldog Inglês e Francês, Boxer, Boston Terrier, Pug), Retrievers (Golden e Labrador), Cocker Spaniel, Schnauzer, Weimaraner, Staffordshire Bull Terrier, Sharpei, Leão da Rodésia e Beagle (Bostock, 1973; Patnaik *et al*., 1984; Rothwell *et al*., 1987; Simoes *et al*., 1994; Webster *et al*., 2008; Welle *et al*., 2008).

3.2.4. Idade

O desenvolvimento de mastocitoma pode ocorrer em qualquer idade, mas tem maior incidência em cães de meia-idade com, em média, 9 anos (Hottendorf & Nielsen, 1967; Patnaik *et al*, 1984).

3.2.5. Género

Não foi encontrada uma relação entre o género e o desenvolvimento de mastocitoma (Hottendorf & Nielsen, 1967; Patnaik *et al*, 1984).

3.3. Apresentação clínica

Os mastocitomas cutâneos podem ter uma apresentação muito variável, mas na sua maioria apresentam-se como uma lesão solitária, alopécica e, por vezes, eritematosa e de tamanho variável (Carlsten *et al*., 2012; Kiupel & Camus, 2019). O seu aspeto macroscópico relaciona-se, até certo ponto, com o seu grau histológico (Bostock, 1973). Mastocitomas bem diferenciados tendem a ser de menores dimensões e a ter um crescimento lento (Bostock, 1973). Por outro lado, alguns sinais macroscópicos da presença de um mastocitoma pouco diferenciado ou anaplásico, incluem crescimento rápido, ulceração, eritema, edema e a presença de lesões satélite (Bostock, 1973; Marconato *et al*., 2008; London & Thamm, 2019).

Geralmente são lesões únicas, no entanto podem ocorrer múltiplas lesões simultâneas, havendo uma predisposição em Pugs, Boxers e Staffordshire Bull Terriers (Mcniel *et al*., 2006; Mullins *et al*., 2006; O'Connell & Thomson, 2011).

Mastocitomas subcutâneos apresentam-se como nódulos subcutâneos, que não invadem a derme e podem, por vezes, ser confundidos com lipomas (Thompson *et al*., 2011; Kiupel, 2017).

Em animais com metástases nos linfonodos ou em órgãos viscerais, pode ainda ser observado, no exame físico, linfadenomegalia ou organomegalia, respetivamente (Kiupel, 2017; London & Thamm, 2019).

3.4. Sinais clínicos e síndromes paraneoplásicas

A libertação de constituintes bioativos como histamina, heparina e proteases pelos grânulos dos mastócitos neoplásicos pode causar sinais clínicos e síndromes paraneoplásicas (O'Keefe, 1990; London & Seguin, 2003; Mullins *et al*., 2006).

Localmente, os sinais são maioritariamente causados pela estimulação dos recetores de histamina H1 e podem ocorrer espontaneamente ou ser despoletados ou exacerbados após manipulação, por exemplo, durante o exame clínico. Os sinais locais mais comuns são aumento e diminuição intermitentes do tamanho do mastocitoma, edema, ulceração e o "sinal de Darier", que consiste em eritema e formação de pápulas, mas também podem ocorrer alterações na cicatrização e na coagulação, esta última devido à libertação de heparina, que pode ser despoletada na realização de exames complementares de diagnóstico (PAAF, biópsia) e até durante a excisão do mastocitoma (Hottendorf & Nielsen, 1965; O´Keefe *et al*, 1987; Blackwood *et al*, 2012).

A nível sistémico os sinais são essencialmente gastrointestinais, pela estimulação dos recetores de histamina H2, levando à secreção excessiva de ácido clorídrico pelas células parietais e à hipermotilidade gástrica e, consequentemente, ulceração gástrica (Hottendorf & Nielsen, 1967; Howard *et al*., 1969; Fox *et al*., 1990). Os sinais clínicos observados incluem vómitos, anorexia, melena e dor abdominal. Secundariamente à hemorragia gastrointestinal causada pelas úlceras pode ocorrer anemia por défice em ferro e, em casos úlceras perfurantes, poderá ocorrer peritonite (Howard *et al*., 1969).

Apesar de raro, em casos de doença avançada e sem tratamento, pode ocorrer uma libertação repentina de histamina, levando a anafilaxia e/ou colapso (Blackwood *et al*., 2012; London & Thamm, 2019).

3.5. Diagnóstico

Após a suspeita de um mastocitoma é essencial realizar um exame físico completo e uma avaliação do tumor, que deve ser medido. Deve também ser feita pesquisa de outros nódulos ou lesões, palpação de linfonodos e palpação abdominal, de forma a identificar possíveis linfadenomegalias e/ou organomegalias. Além disto, pode ser feita recolha de fezes para pesquisa de sangue (O'Keefe, 1990; Sledge *et al*., 2016).

O diagnóstico inicial de mastocitoma é obtido com citologia de uma PAAF do nódulo. Este é um método pouco invasivo que permite obter um diagnóstico correto em 96 a 100% dos casos (Griffiths *et al*., 1984; Baker-Gabb *et al*., 2003).

As amostras normalmente são bastante celulares pois os mastocitomas exfoliam facilmente e são utilizados corantes aquosos tipo Romanowsky (por exemplo, Diff-Quick).

Quando se suspeita de mastocitomas pouco diferenciados ou anaplásicos e, por vezes, em amostras de fígado e baço, em que os grânulos podem não corar, mesmo aumentando o tempo de fixação, é necessário realizar uma coloração adicional com Wright-Giemsa ou azul de toluidina (Griffiths *et al*., 1984; Simoes *et al*., 1994; Jackson *et al*., 2013; Masserdotti, 2013; Raskin, 2016).

Sob avaliação citológica, os mastócitos neoplásicos apresentam-se como células redondas e individuais com cerca de 10-35µm, com núcleo redondo a oval e central e nucléolos impercetíveis. O núcleo pode ser pouco evidente devido aos grânulos, que são metacromáticos, presentes no citoplasma basófilo e vacuolar (Duncan & Prasse, 1979). Em mastocitomas pouco diferenciados, as células podem ser mais difíceis de identificar devido ao menor número de grânulos, que podem ter uma maior discrepância de tamanhos e estar distribuídos de forma heterogénea pelo citoplasma. Podem também haver alterações no contorno do núcleo e binucleação ou multinucleação e os nucléolos podem estar visíveis (Duncan & Prasse, 1979; Camus *et al*., 2016). Em cães, podem também ser observados eosinófilos, fibroblastos reativos e colagénio (Raskin, 2016).

Alguns estudos testaram a aplicabilidade da escala Kiupel de estadiamento histopatológico em citologia. Esta escala histopatológica de dois graus, descrita no subcapítulo 3.7.1., baseia-se no número de mitoses, multinucleação, pleomorfismo nuclear e cariomegalia (Kiupel *et al*., 2011). No entanto, em citologia, apenas a presença de multinuleação e cariomegalia foram considerados parâmetros consistentes com o grau histológico (Hergt *et al*., 2016; Scarpa *et al*., 2016). Esta concordância foi também confirmada através de estudos com recurso a morfometria computadorizada (Strefezzi *et al*., 2003; Strefezzi *et al*., 2009). Apesar desta classificação ter obtido resultados satisfatórios, com sensibilidades superiores a 84% e especificidades superiores a 96%, foi observada uma tendência para subestimar o grau da lesão, com algumas das amostras classificadas com baixo grau citológico a, mais tarde, serem reclassificadas histologicamente como de alto grau (Hergt *et al*., 2016; Scarpa *et al*., 2016).

Camus *et al* (2016), formulou uma escala de classificação em graus citológicos que, apesar de também se basear em dois graus, é composta por parâmetros de avaliação diferentes dos usados em histopatologia. Esta classifica como de alto grau um mastocitoma cuja avaliação citológica revele mastócitos com número de grânulos inferior ao normal ou, pelo menos, dois de quatro achados: figuras mitóticas, células binucleadas ou multinucleadas, pleomorfismo nuclear ou anisocariose superior a 50%. Caso nenhum destes parâmetros seja observado, o mastocitoma é classificado com baixo grau citológico. Após comparação dos resultados com a posterior avaliação histopatológica com recurso à escala Kiupel (Kiupel *et al*., 2011), este esquema apresentou 88% de sensibilidade e 94% de especificidade e cães

com mastocitoma de alto grau citológico apresentaram uma probabilidade 25 vezes maior de ter uma morte relacionada com o mastocitoma e maior probabilidade de ter recidivas. Os achados citológicos mais preditivos de prognóstico foram granularidade, seguida de anisocariose, multinucleação, binucleação e presença de figuras mitóticas (Camus *et al*., 2016).

As principais limitações encontradas na classificação em grau citológico de mastocitomas incluem o número limitado de células observáveis em 10 campos de grande ampliação e a distribuição heterogénea das alterações celulares utilizadas nesta avaliação, que pode dar origem a erros de amostragem. Além disto, a possibilidade de falsos positivos e falsos negativos poderia levar a abordagens menos adequadas (Camus *et al*., 2016; Hergt *et al*., 2016; Scarpa *et al*., 2016).

Apesar da utilidade da classificação em grau citológico, que permitiria, sem necessitar de realizar procedimentos adicionais, obter informações importantes para o planeamento da abordagem cirúrgica, ainda são necessários estudos adicionais em relação aos parâmetros citológico e possíveis testes adicionais, como imunocitoquímica (Sailasuta *et al*., 2014; Camus *et al*., 2016; Hergt *et al*., 2016; Scarpa *et al*., 2016).

Em situações onde o diagnóstico não seja obtido com citologia, ou seja considerada necessária uma avaliação do grau histológico de forma a adequar o plano de tratamento, poderá ser realizada biópsia. No entanto, deverá ser tido em conta que este procedimento poderá despoletar a desgranulação dos mastócitos neoplásicos, causando sangramento e aumento do tempo de cicatrização. Além disto, tendo em conta que a primeira excisão cirúrgica do tumor é a melhor oportunidade para obter a cura, uma biópsia excisional poderá causar um aumento posterior das margens cirúrgicas necessárias, colocando em causa o resultado final (London & Seguin, 2003; Blackwood *et al*., 2012; London & Thamm, 2019).

3.6. Estadiamento

Após um diagnóstico inicial de mastocitoma, são necessários exames complementares de diagnóstico, de forma a avaliar o estado geral do animal, a presença de síndromes paraneoplásicas e a presença de metástases (O'Keefe, 1990; London & Seguin, 2003; Blackwood *et al*., 2012).

Em casos em que a localização do mastocitoma permita excisão com margens adequadas e não se verifiquem fatores de mau prognóstico, enumerados no subcapítulo 3.7., tem sido sugerido um estadiamento básico. Este inclui análises sanguíneas (hemograma e painel bioquímico) e PAAFs com citologia dos linfonodos regionais, mesmo que estes não apresentem alterações à palpação, pois linfonodos com metástases nem sempre se apresentam aumentados (London & Seguin, 2003; Warland *et al*., 2014; Mutz *et al*., 2017;

London & Thamm, 2019). A avaliação citológica dos linfonodos pode, por vezes, ser dúbia, devido à presença fisiológica de mastócitos e ao seu aumento em processos inflamatórios, que podem não estar relacionados com a neoplasia (Bookbinder *et al*., 1992). No entanto, a presença de mastócitos pouco diferenciados e/ou em agregados é indicativa de metastização (Krick *et al*., 2009).

Quando a excisão cirúrgica é difícil ou mesmo impossível e/ou existem fatores de mau prognóstico, deverá ser realizado um estadiamento mais completo, com ecografia abdominal e PAAFs de fígado e baço (Sato & Solano, 2004; Stefanello *et al*., 2009; Book *et al*., 2011).

Ainda que as metástases pulmonares sejam raras, radiografias torácicas são recomendadas para avaliar a existência de doenças concomitantes e possível linfanenomegalia dos linfonodos localizados na cavidade torácica (Blackwood *et al*., 2012; Warland *et al*., 2014).

Citologias de medula óssea para pesquisa de metástases, podem também ser realizadas. A taxa de metastização na medula óssea é de 4,5%-21,4%, com aumento acentuado em mastocitomas de alto grau. Este procedimento é maioritariamente realizado em mastocitomas de alto grau, com alto risco de metastização ou quando se verificam alterações hematológicas como neutrofilia, monocitose, eosinofilia, basofilia, anemia e trombocitopenia (Endicott *et al*., 2007; Aubry *et al*., 2012).

Apesar de, historicamente, a observação de esfregaço do “buffy-coat” de sangue periférico para pesquisa de mastócitos ser utilizada para avaliar o envolvimento sistémico, hoje em dia é pouco utilizada em mastocitomas cutâneos em cães após se verificar que vários outros processos, como inflamações infeções e traumas, também causam mastocitose periférica (Stockham & Basel, 1983; Bookbinder *et al*, 1992; Cayatte *et al*, 1995; McManus, 1999).

Caso necessário, poderá também ser realizada ecografia ou tomografia computorizada do mastocitoma de forma a avaliar a extensão do mesmo e adaptar o planeamento das margens cirúrgicas (Hahn *et al*, 1990).

Em 1990, a Organização Mundial de Saúde criou um sistema de estadiamento clínico de mastocitoma canino (Owen, 1980), descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Estadiamento clínico para mastocitoma canino proposto pela Organização Mundial de Saúde. Adaptado de O'Keefe, 1990.

Estadio	Descrição
I	Um tumor único, restrito à derme, sem envolvimento dos linfonodos regionais a) Sem sinais sistémicos b) Com sinais sistémicos
II	Um tumor único, restrito à derme, com envolvimento dos linfonodos regionais a) Sem sinais sistémicos b) Com sinais sistémicos
III	Múltiplos tumores cutâneos ou um tumor infiltrativo, com ou sem envolvimento dos linfonodos regionais a) Sem sinais sistémicos b) Com sinais sistémicos
IV	Qualquer tumor com metástases distantes ou doença recorrente com metastização, incluindo no sangue e medula óssea

Apesar de alguns dos parâmetros se relacionarem com o prognóstico, outros, como a presença de múltiplos mastocitomas simultâneos, não têm uma associação direta (Mullins *et al*., 2006; Warland *et al*., 2014). Por este motivo vários autores consideram que o estadiamento clínico proposto pela Organização Mundial de Saúde nem sempre tem relação direta com o prognóstico (Séguin *et al*., 2001; London & Seguin, 2003; Blackwood *et al*., 2012).

3.7. Prognóstico

O prognóstico do mastocitoma canino é altamente variável e poderá depender de vários fatores. Por estes motivos, deverão ser tidos em conta o máximo de parâmetros possível (Blackwood *et al*., 2012; London & Thamm, 2019).

3.7.1. Grau histológico

O grau histológico é o fator de prognóstico mais consistente e fidedigno em mastocitomas (London & Thamm, 2019).

O sistema de Patnaik *et al* (1984) é o mais utilizado e diferencia os mastocitomas em grau I (bem diferenciado), grau II (intermédio) ou grau III (pouco diferenciado) de acordo com os critérios descritos na Tabela 2. Cães com mastocitoma de grau I, II ou III apresentaram probabilidade de sobrevivência superior a 1500 dias de 93%, 47% e 6%, respetivamente, e

probabilidade de morte ou eutanásia por causas relacionadas ao mastocitoma de 7%, 56% e 94%, respetivamente (Patnaik *et al*., 1984).

Tabela 2 - Escala de classificação histológica de mastocitoma canino. Adaptada de Patnaik *et al*., 1984.

Grau	Descrição histológica
I (tumor bem diferenciado)	Lesões restritas à derme e espaços interfoliculares. Mastócitos bem diferenciados, redondos, monomórficos, com limites citoplasmáticos evidentes e grânulos de tamanho normal, organizados em camadas ou pequenos agregados, separados por fibras de colagénio maduro. Núcleos redondos com cromatina condensada. Ausência de mitoses. Edema e necrose mínimas.
II (intermédio)	Amostra moderadamente a muito celular com infiltração da derme e tecido subcutâneo e, por vezes, até ao músculo e outros tecidos. Células moderadamente pleomórficas, agrupadas com estroma fibrovascular e presença de células fusiformes gigantes. Mastócitos redondos a ovóides com grânulos de tamanho variável. Núcleos com contornos por vezes irregulares e cromatina difusa. Binucleação ocasional. 0-2 mitoses por campo de grande ampliação Áreas de edema e necrose difusas
III (tumor pouco diferenciado ou anaplásico)	Amostra muito celular, com infiltração de tecidos profundos. Mastócitos neoplásicos pleomórficos, redondos, ovoides e fusiformes, em agregados compactos com estroma fibrovascular ou fibroso, com focos de hialinização. Limites citoplasmáticos sem definição e grânulos pequenos e pouco evidentes. Núcleo irregular, com um ou mais nucléolos evidentes. Presença de células binucleadas e multinucleadas. 3-6 mitoses por campo de grande ampliação Edema, hemorragia e necrose

O prognóstico dos mastocitomas de grau II é o mais difícil de prever pois estes comportam-se como mastocitomas de baixo grau na maioria dos casos, mas, por vezes, apresentam um comportamento agressivo, com taxas de metastização de 5%-22% (Séguin *et al*., 2001).

Além disto, verificou-se que, devido ao facto de a avaliação histopatológica ter algum grau de subjetividade, existem variações entre patologistas. Alguns estudos mostraram que a concordância entre patologistas para estadiamento de mastocitomas em grau III é de 75% e menos de 64% nos graus I e II (Northrup *et al*., 2005; Kiupel *et al*., 2011).

De forma a aumentar a concordância entre patologistas, Kiupel *et al* (2011) propôs uma escala de dois graus, em que a classificação de um mastocitoma de alto grau baseia-se na presença de qualquer um dos seguintes critérios de malignidade: pelo menos 7 figuras mitóticas em 10 campos de grande ampliação, pelo menos 3 mastócitos multinucleados em 10 campos de grande ampliação, pelo menos 3 núcleos bizarros em 10 campos de grande ampliação e/ou presença de cariomegalia. Todos os outros mastocitomas são considerados de baixo grau. Nesta escala, os mastocitomas de alto grau foram associados a uma maior taxa de recidiva e metastização com um tempo mediano de sobrevida inferior a 4 meses. Por outro lado, em mastocitomas de baixo grau, o tempo mediano de sobrevida é superior a 2 anos (Kiupel *et al*., 2011).

3.7.2. Localização

Os mastocitomas cutâneos podem ocorrer em todas as regiões da pele sendo que os mastocitomas no focinho, incluindo a região perioral e a mucosa oral têm, tendencialmente um comportamento mais agressivo e maior probabilidade de metastizar nos linfonodos (Gieger *et al*., 2003; Hillman *et al*., 2010; Elliott *et al*., 2016).

Em relação aos mastocitomas na região inguinal, estes são tendencialmente associados a um pior prognóstico (Thamm *et al*., 1999), no entanto, alguns estudos não verificaram a influência negativa desta localização no prognóstico (Cahalane *et al*., 2004; Sfiligoi *et al*., 2005). Ainda assim, um estudo que avaliou mastocitomas nas regiões prepucial e escrotal, verificou uma redução no intervalo livre de doença, em comparação com mastocitomas em outras localizações, incluindo outras localizações dentro da região inguinal (Sfiligoi *et al*., 2005).

Em relação aos mastocitomas subcutâneos, estes encontram-se no tecido adiposo subcutâneo e apresentam um comportamento biológico diferente dos mastocitomas cutâneos. Por este motivo, não devem ser inseridos nos sistemas de classificação formulados para mastocitomas cutâneos. Geralmente, este tipo de mastocitoma apresenta um prognóstico mais favorável, mesmo com margens histológicas incompletas, com taxas de sobrevivência a

2 e 5 anos de 92% e 86%, respetivamente, taxa de metastização de 4%-6% e recidiva em 8% dos casos. Alguns fatores de prognóstico descritos como úteis em mastocitomas subcutâneos incluem os marcadores de proliferação celular e o padrão KIT, que são descritos nos subcapítulos 3.7.9.1. e 3.7.10., respetivamente (Newman *et al*., 2007; Thompson *et al*., 2011).

Mastocitomas viscerais ou no trato gastrointestinal têm, geralmente, um prognóstico muito reservado (Ozaki *et al*., 2002; Takahashi *et al*., 2000).

3.7.3. Idade

Nos cães geriátricos há um aumento na proporção de tumores de alto grau histológico e uma diminuição do tempo livre de doença (Mochizuki *et al*., 2017).

3.7.4. Raça

Nos Pugs verifica-se uma predisposição para desenvolver múltiplos mastocitomas cutâneos, no entanto, estes são tendencialmente de grau histológico baixo ou intermédio e, desta forma, apresentam melhor prognóstico (McNiel *et al*., 2006; Mochizuki *et al*., 2017). Também os Boxers têm menor probabilidade de desenvolver mastocitomas de alto grau histológico (Bostock, 1973; Mochizuki *et al*, 2017).

Por outro lado, nos Sharpei está descrita uma tendência para o desenvolvimento de mastocitomas de alto grau histológico, associados a um pior prognóstico, e numa idade mais jovem (Miller, 1995; Śmiech *et al*., 2017).

3.7.5. Tamanho e velocidade de crescimento

Mastocitomas com crescimento rápido (superior a $1cm^3$ por semana) e diâmetro superior a 3cm estão associados a um pior prognóstico, com menor tempo mediano de sobrevida e maior taxa de recidiva (Bostock, 1973; Ginn *et al*., 2000; Hahn *et al*., 2004; Hume *et al*., 2011; Mullins *et al*., 2006).

3.7.6. Sinais sistémicos

A presença de sinais sistémicos aquando do diagnóstico está associada à presença de mastocitoma de grau histológico intermédio ou alto e, dessa forma, associado a um pior prognóstico. Além disto, alguns efeitos da hisperhistaminémia como úlceras gastrointestinais e choque anafilático podem ser fatais (Ishiguro *et al*., 2003; Mullins *et al*., 2006).

3.7.7. Metastização

Os principais locais de metastização de mastocitoma são os linfonodos, fígado, baço e medula óssea (Hottendorf & Nielsen, 1967). Na grande maioria dos casos, os linfonodos regionais são a primeira localização a ser afetada (Warland *et al*., 2014).

A presença de metástases nos linfonodos está associada a um pior prognóstico, no entanto, com o tratamento adequado verifica-se uma melhoria significativa do mesmo e em alguns casos é inclusive possível obter tempos de sobrevida semelhantes aos de cães sem metástases (Dobson *et al*., 2004; Hume *et al*., 2011; Mendez *et al*., 2020).

Weishaar *et al*., (2014), propôs um sistema de classificação histológica para metástases nos linfonodos, descrita na Tabela 3, com o objetivo de uniformizar a classificação da metastização nos linfonodos. Verificou, também, que classificações mais altas de metastização (HN2 e HN3) se relacionam com um pior prognóstico (Weishaar *et al*., 2014).

Por outro lado, metástases em órgãos viscerais e medula óssea estão associados a uma diminuição significativa do tempo de sobrevida (Marconato *et al*., 2008; Takahashi *et al*., 2000).

A taxa de metastização em mastocitomas pouco diferenciados varia entre 55% e 96%, resultando em morte ou eutanásia, na maioria dos casos, em menos de 1 ano (Bostock, 1973; Hume *et al*., 2011).

Tabela 3 - Classificação histológica das metástases nodais. Adaptado de Weishaar *et al*, 2014.

Classificação	Critérios histopatológicos	Interpretação
HN0	Mastócitos ausentes ou raros (0 - 3), dispersos e isolados, nos seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou no parênquima, por campo de ampliação 400x. Ou Não corresponde aos critérios das classificações abaixo.	Sem metástases
HN1	Mais de 3 mastócitos isolados, nos seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou no parênquima, por campo de ampliação 400x.	Pré-metastático
HN2	Agregados de 3 ou mais mastócitos nos seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou no parênquima, ou mastócitos em camadas sinusoidais.	Metástases precoces
HN3	Alteração da arquitetura do linfonodo por mastócitos em focos, nódulos, camadas ou massas.	Metástases

3.7.8. Recidiva

Recidiva local pós excisão cirúrgica está associada a pior prognóstico. Por isso é importante um plano de tratamento adequado aquando da primeira apresentação de forma a evitar recidiva (Mullins *et al*., 2006; Horta *et al*., 2018a; Horta *et al*., 2018b).

3.7.9. Marcadores de proliferação celular

A proliferação celular depende do número de células em mitose e da velocidade de progressão do ciclo celular e pode ser avaliada utilizando marcadores de ambos os parâmetros. Estes marcadores são especialmente úteis em mastocitomas de grau intermédio, de forma obter um prognóstico mais fiável (Berlato *et al*., 2013; Webster *et al*., 2007).

3.7.9.1. Índice mitótico

O índice mitótico é calculado pelo número de mitoses observadas em 10 campos de grande ampliação e pode ser avaliado em amostras coradas com hematoxilina-eosina. É considerado preditivo do comportamento biológico e é, inclusivamente, um dos parâmetros das escalas de classificação histológica referidas anteriormente no subcapítulo 3.7.1. (Patnaik *et al*., 1984; Kiupel *et al*., 2011).

Na escala de Kiupel *et al* (2011), cães com mastocitoma com índice mitótico inferior a 7 apresentaram uma mediana de sobrevida de 2 anos, comparativamente a menos de 4 meses quando o índice mitótico era igual ou superior 7. Outro estudo que utilizou um “cut off” de 5, obteve uma mediana de sobrevida de 70 meses quando inferior, e 2 meses quando igual ou superior 5 (Romansik *et al*., 2007).

3.7.9.2. Ki-67

Ki-67 é uma proteína nuclear expressa em células em todas as fases do ciclo celular, exceto na fase de repouso (G0) e o valor relativo de células que a expressam é usado para determinar o índice proliferativo da neoplasia. (Gerdes *et al*, 1984; Abadie *et al*, 1999; Scholzen & Gerdes, 2000; Scase *et al*., 2006). Não existe um valor de cut-off definido para a expressão de Ki67, no entanto vários estudos evidenciam que uma elevada expressão de Ki67 está relacionada com a probabilidade de metastização, recidiva e morte. Além de ser um fator de prognóstico independente do grau histológico, é considerado, juntamente com o índice mitótico, um dos marcadores de proliferação celular mais preditivos do prognóstico (Scase *et al*., 2006; Webster, *et al*., 2007; Vascellari *et al*., 2012; Berlato *et al*., 2013).

Num estudo em mastocitomas de grau II, as probabilidades de sobrevivência a 1, 2 e 3 anos, com valores de Ki-67 inferiores a 1,8% foram de 92%, 86% e 77%, respetivamente.

Quando o valor de Ki-67 era superior a 1,8% estas probabilidades baixaram para 43%, 21% e 21%, respetivamente, com tempo médio de sobrevida de 395 dias (Scase *et al*., 2006). Outro estudo que testou a reprodutibilidade da técnica anterior, obteve resultados semelhantes (Maglennon *et al*., 2008).

3.7.9.3. Regiões Organizadoras Nucleares (AgNORs)

As AgNORs são subestruturas nucleares envolvidas na transcrição do ácido ribonucleico (ARN) ribossomal (Derezini, 2000). O valor de AgNORs por núcleo é indiretamente proporcional ao tempo de multiplicação celular *in vitro* e ao tempo de crescimento tumoral (Derezini *et al*., 1990; Ofner *et al*., 1992; Trere *et al*., 1996). Em mastocitoma canino, está descrito que um maior número de AgNORs por núcleo está relacionado com uma diminuição significativa da sobrevida (Simoes *et al*., 1994; Webster *et al*., 2007).

3.7.10. Padrão KIT e mutações no *c-kit*

Alguns estudos descrevem a relação entre a localização do KIT e o prognóstico. Para realizar esta avaliação, Kiupel *et al*. (2004) propôs três padrões de coloração imunohistoquímica: I) perimembranar, II) focal e III) difuso no citoplasma e verificou que a presença do padrão III se relacionava com um aumento da recidiva e da mortalidade, o que foi mais tarde confirmado por outro estudo (Kiupel *et al*., 2004; Webster *et al*., 2008). No entanto, outro estudo, encontrou uma relação entre localizações aberrantes do KIT e a atividade proliferativa mas não entre os padrões de coloração do KIT e a recidiva ou a mortalidade (Costa Casagrande *et al*., 2015).

A presença de mutações no *c-kit* está associada a localizações aberrantes do KIT, ao aumento da incidência de recidiva, metástases e morte associada ao mastocitoma (Downing *et al*., 2010; Webster *et al*., 2006).

3.8. Tratamento

A escolha de tratamento depende essencialmente das características do tumor, estadio clínico, grau e presença de fatores de mau prognóstico (Blackwood *et al*., 2012).

3.8.1. Cirurgia

A excisão cirúrgica é o tratamento de primeira escolha em mastocitomas localizados, mesmo que sejam múltiplos (Govier, 2003; Mullins *et al*., 2006; Garrett, 2014).

Em caso de presença confirmada ou até mesmo suspeita de metastização nos linfonodos, a excisão do tumor primário deve ser acompanhada de linfadenectomia (Baginski *et al*., 2014; Marconato *et al*., 2018).

A manipulação durante a cirurgia pode levar à desgranulação dos mastócitos, levando a alterações na coagulação e atraso na cicatrização. Por este motivo deverá ser iniciado, antes da cirurgia, tratamento com um bloqueador dos recetores de histamina H1, como a difenidramina (2-4mg/kg PO BID) ou a loratadina (0,5mg/kg PO SID) e um bloqueador dos recetores de histamina H2 como cimetidina (4mg/kg PO TID) ou ranitidina (2mg/kg PO TID) ou o bloqueador da bomba de protões omeprazol (0.5-1mg/kg PO SID) (Scott *et al*, 1999; Govier, 2003).

Historicamente, as margens cirúrgicas recomendadas eram de 3cm lateralmente e um plano anatómico profundo (Govier, 2003; Murphy *et al*., 2004). No entanto, em mastocitomas de grau histológico I e II, com margens de 2cm lateralmente e um plano anatómico profundo é possível obter excisão total com taxas de recidiva semelhantes (Simpson *et al*., 2004; Fulcher *et al*., 2006). Noutro estudo, margens cirúrgicas proporcionais ao diâmetro máximo do tumor obteve margens histológicas completas em 85% dos casos (Pratschke *et al*., 2013).

Apesar destas evidências, devido à elevada taxa de recidiva, em mastocitomas de grau III continua a ser recomendado que seja realizada excisão com 3cm lateralmente e um plano anatómico profundo, associada a terapias adjuvantes (London & Thamm, 2019).

Após excisão, as margens cirúrgicas devem ser avaliadas histologicamente de forma a verificar se foi obtida a excisão total (Donnelly *et al*., 2015). Devido à submersão da amostra em formol, ocorre uma redução dos tecidos que irá alterar as dimensões do mesmo (Kerns *et al*., 2008).

Histologicamente, as margens são classificadas como completas quando não se observam células neoplásicas a menos de 1 mm das margens cirúrgicas, rasas quando se observam células neoplásicas a menos de 1 mm das margens cirúrgicas ou incompletas quando se observam células neoplásicas dentro das margens cirúrgicas (Séguin *et al*., 2001; Simpson *et al*., 2004). Por vezes a classificação das margens pode ser dúbia, pois nem sempre são observados mastócitos em aglomerados e/ou com características de malignidade, mas apenas mastócitos livres, que podem ser fisiológicos (Murphy *et al*., 2004).

No entanto, a localização ou a dimensão do mastocitoma pode dificultar a obtenção de margens cirúrgicas de 2 cm ou 3 cm. Nestes casos, poderá ser instituída uma terapia neoadjuvante, como corticoterapia (prednisolona 1-2.2mg/kg PO SID) e quimioterapia, no período pré-cirúrgico, de forma a reduzir as dimensões do tumor e aumentar as probabilidades de obter margens histológicas completas (Stanclift & Gilson, 2008).

Quando as margens são classificadas como incompletas ou rasas poderá ser realizada revisão cirúrgica, que consiste na excisão da cicatriz com 2 cm de margens laterais, terapia adjuvante como radioterapia ou quimioterapia ou monitorização (Vincenti & Findji, 2017). Num estudo em mastocitomas removidos com margens incompletas ou rasas, as taxas de recidiva nos casos que realizaram cirurgia de revisão, radioterapia ou apenas monitorização foram de 13%, 8% e 38%, respetivamente (Kry *et al*., 2014).

Após a excisão cirúrgica, em casos em que não seja considerada necessária terapia adjuvante, devem ser realizadas reavaliações periódicas ao final e 1, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 meses e, posteriormente, a cada 6 meses. Estas reavaliações devem incluir exame físico completo, observação do local onde estava localizado o mastocitoma e PAAFs de qualquer novo nódulo ou linfonodo aumentado (London & Thamm, 2019).

3.8.2. Corticoterapia

Os glucocorticoides têm efeito citotóxico e inibitório da proliferação celular (Takahashi *et al*., 1997; Stanclift & Gilson, 2008). O fármaco de eleição é a prednisolona, que pode ser usada como neoadjuvante no período pré-cirúrgico de forma a reduzir a dimensão do tumor ou como adjuvante após a excisão, associada a radioterapia ou quimioterapia (Dobson *et al*., 2004; Stanclift & Gilson, 2008). Não é frequentemente utilizada como agente único pois a taxa de resposta reportada é de apenas 20% (Mccaw *et al*., 1994).

3.8.3. Quimioterapia

A quimioterapia é utilizada em mastocitomas em vários contextos, como neoadjuvante no período pré-cirúrgico, em casos em não é possível obter margens cirúrgicas adequadas ou as margens histológicas estão incompletas e não é possível realizar revisão cirúrgica ou radioterapia, e em mastocitomas com alto risco de metastização de forma a prevenir, ou em casos com metástases já existentes, de forma a atrasar a progressão da doença (Davies *et al*., 2004; Thamm *et al*., 2006).

Devido à mielossupressão causada pelos quimioterápicos, é importante realizar avaliações periódicas do animal, que incluam exame físico e análises sanguíneas, de acordo com o fármaco e o protocolo instituídos. A resposta ao protocolos pode ser avaliada conforme diversos parâmetros (Thamm *et al*., 1999; Rassnick *et al*., 2008; Cooper *et al*., 2009).

3.8.3.1. Vimblastina e prednisolona

A vimblastina é um quimioterápico alcaloide com ação citotóxica através da ligação às proteínas no fuso mitótico, bloqueando a divisão celular durante a metáfase (Lobert *et al*.,1996; Bailey *et al*., 2008).

O protocolo de vimblastina com prednisolona consiste na administração oral de prednisolona numa dose inicial de 2mg/kg/dia e, posteriormente, uma redução gradual. A administração de vimblastina é realizada por bolus intravenoso na dose 2mg/m² de superfície corporal, uma vez por semana, durante quatro semanas e, posteriormente, quinzenalmente, durante mais quatro tratamentos, perfazendo um total de oito. Quando utilizado num contexto pós-cirúrgico, este protocolo deve ser iniciado duas semanas após a cirurgia (Thamm *et al*., 1999; Thamm *et al*., 2006).

Em mastocitomas de grau II e III com margens incompletas ou não cirúrgicos, estão descritas taxas de resposta de 47% em casos com doença mensurável e, na população total, uma duração mediana de reposta de 154 dias (24 – 645 dias) (Thamm *et al*., 1999). Outro estudo deste protocolo num contexto pós cirúrgico e em alguns casos com associação a radioterapia, a taxa de sobrevivência aos 3 anos foi de 65% (Thamm *et al*., 2006).

Em mastocitomas de grau III removidos cirurgicamente, este protocolo obteve uma taxa de sobrevivência a 1 e 2 anos de 70% em cães sem metástases e a 1 ano de 46% em casos com metástases (Hayes *et al*., 2007).

Os efeitos secundários mais comuns da vimblastina são vómitos, diarreia, anorexia, letargia e neutropenia. Nestes casos poderão ser feitos ajustes nas doses ou, em casos muito acentuados, a terapia poderá ser descontinuada (Thamm *et al*., 1999; Thamm *et al*. 2006; Rassnick *et al*., 2008).

3.8.3.2. Lomustina

O tratamento com lomustina descrito consiste na administração oral na dose 90mg/m² de superfície corporal a cada 3 semanas. Este protocolo obteve uma taxa de resposta de 42% com doença mensurável, mas resposta completa foi observada em apenas 1 dos casos (Rassnick *et al*., 1999).

Outro estudo que associou lomustina na dose 70mg/m² de superfície corporal PO a cada 4 semanas com prednisolona na dose 0,5-1 mg/kg PO SID, obteve uma mediana de sobrevida de 904 dias, no entanto, foi observada neutropenia em 67% dos cães (Hay & Larson, 2019).

Os efeitos secundários da lomustina incluem neutropenia, febre, vómitos, diarreia e anorexia (Hay & Larson, 2019; Rassnick *et al*., 1999).

3.8.3.3. Vimblastina, prednisolona e lomustina

Está também descrito um protocolo que alterna lomustina e prednisolona com vimblastina e prednisolona em mastocitomas de alto grau e/ou de alto risco metastático. Este protocolo, estudado em diferentes dosagens, obteve respostas de 57%-65% e mediana de sobrevida de 35 semanas nos casos com doença mensurável e uma mediana de sobrevida de 48 semanas nos casos de doença microscópica. No entanto, um dos estudos registou toxicidade em 54% dos cães (Cooper *et al*., 2009; Rassnick *et al*., 2010).

3.8.3.4. Clorambucilo e prednisolona

Um estudo de Taylor *et al*. (2009) utilizou um protocolo que associa clorambucilo na dose 5 mg/m² PO EOD com prednisolona numa dose inicial de 40 mg/m² PO SID durante 14 dias e, posteriormente, 20 mg/m² PO em dias alternados (EOD, "*every other day*"). Este estudo obteve uma taxa de resposta de 38% e uma mediana de sobrevida de 533 dias e não foi reportado nenhum caso de toxicidade, o que sugere que este protocolo poderá ter potencial no tratamento de mastocitoma canino (Taylor *et al*., 2009).

3.8.4. Inibidores de tirosina quinase (ITQ)

Os recetores de tirosina quinase são recetores da superfície celular, envolvidos na proliferação, diferenciação e sobrevivência celular. Os ITQ são moléculas que bloqueiam a atividade destes recetores, por competição da ligação à adenosina trifosfato (ATP) (Dubreuil *et al*., 2009; London *et al*., 2009; Pryer *et al*., 2003).

Em mastocitoma canino, os ITQ utilizados são maioritariamente direcionados ao recetor de tirosina quinase KIT, previamente descrito no subcapítulo 3.7.10. (Dubreuil *et al*., 2009; Pryer *et al*., 2003).

3.8.4.1. Fosfato de toceranib

O fosfato de toceranib é um ITQ direcionado não só ao recetor KIT, mas também ao recetor do fator de crescimento endotelial vascular e ao recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas. O tratamento consiste na administração oral na dose 2,75-3,25mg/kg EOD no entanto por vezes é ajustado para 3 dias alternados por semana (por exemplo, segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira) (London *et al*., 2003, 2009; Pryer *et al*., 2003).

Num estudo prospetivo, randomizado e controlado por placebo em cães com mastocitomas de grau II e III recidivados, a resposta foi de 48,2% com duração de 12 semanas, o que indica que o fosfato de toceranib tem ação em mastocitomas como agente único (London *et al*., 2009).

Um estudo que associou fosfato de toceranib a radioterapia hipofracionada e corticoterapia em cães com doença macrocópica, obteve 76,4% de resposta geral, com 58,8% dos cães a obter uma resposta total (Carlsten *et al*., 2012).

Também está descrita a associação de fosfato de toracenib com quimioterápicos como vimblastina e/ou lomustina, no entanto estes estudos verificaram que, de forma a evitar mielossupressão, é necessário reduzir consideravelmente a dose do quimioterápico, podendo colocar em causa a sua eficácia (Bavcar *et al*., 2017; Burton *et al*., 2015; Pan *et al*., 2016; Robat *et al*., 2012).

Os efeitos secundários do fosfato de toceranib são essencialmente gastrointestinais e hepáticos, mas podem incluir diarreia, anorexia, letargia, vómito, perda de peso, dor muscular, claudicação, hipertensão e leucopenia e, na sua maioria, são resolvidos com ajustes na dose (London *et al*., 2003, Pryer *et al*., 2003; London *et al*., 2009; Tjostheim *et al*., 2016).

3.8.4.2. Mesilato de masitinib

O mesilato de masitinib é um inibidor do recetor KIT, do fator de crescimento derivado das plaquetas, da quinase intracelular Lyn e, com menos eficácia, do fator de crescimento de fibroflastos 3. O tratamento consiste na administração oral na dose 12,5mg/kg SID (Dubreuil *et al*., 2009; K. Hahn *et al*., 2008; K. A. Hahn *et al*., 2010).

A sua utilização está descrita em mastocitomas de grau II e III em que a excisão cirúrgica não é possível, com taxas de sobrevivência aos 12 e 24 meses de 62,1% e 39,8%, respetivamente, e uma mediana de sobrevida de 617 dias. Em comparação, na população de controlo, foram observadas sobrevivência aos 12 e 24 meses de 36% e 15%, respetivamente, e uma mediana de sobrevida de 322 dias (Hahn *et al*., 2008; Hahn *et al*., 2010).

Os efeitos secundários descritos incluem diarreia, vómito, edema e neutropenia mas também estão descritas nefropatias e anemia hemolítica (Hahn *et al*., 2008; Dubreuil *et al*., 2009; Hahn *et al*., 2010).

3.8.5. Radioterapia

A radioterapia é utilizada em casos em que excisão cirúrgica não é possível ou não é possível obter margens completas (Carlsten *et al*., 2012; Ladue *et al*., 1997; Poirier *et al*., 2006).

Ainda não está estabelecido o protocolo de primeira escolha, no entanto, está descrita a utilização de doses totais entre os 46,2Gy e os 57Gy. Nestes estudos foram registados tempos medianos livres de progressão entre 3 a 5 anos em 88% a 93% dos casos (Al-sarraf *et al*., 1996; Frimberger *et al*., 1997).

Está também descrita, em mastocitomas não cirúrgicos, a associação de prednisolona à radioterapia, iniciada 10-14 dias antes da primeira sessão de radioterapia, numa dose inicial de 40mg/m² e continuada numa dose de 20mg/m² durante, pelo menos, 2 meses. Este protocolo obteve um tempo mediano livre de progressão de 1031 dias (Dobson *et al*., 2004).

Alguns autores defendem a utilização da radioterapia como profilaxia em linfonodos sem evidência de metástases, de forma a evitar um desenvolvimento futuro das mesmas (Chaffin & Thrall, 2002; Mendez *et al*., 2020). No entanto nem todos os estudos verificam benefícios (Poirier *et al*., 2006).

Os efeitos secundários da radioterapia são eritema, descamação, alopecia e edema (Poirier *et al*., 2006).

3.8.6. Outros tratamentos

Estão descritos tratamentos adicionais ou alternativos para mastocitoma, no entanto são pouco utilizados e existem poucos estudos que verifiquem a sua eficácia. Estes incluem instilação intralesional de corticoesteroides (Fan & Lorimier, 2005), eletroquimioterapia (Spugnini *et al*, 2011).

Além destes, alguns tratamentos mais recentes estão a ser desenvolvidos e estudados, como os inibidores JAK2/STAT5 (Keller *et al*, 2018), inibidores HSP90 (London *et al*, 2011), retinoides (Pinello *et al*, 2009), inibidores de quinases do tipo polo (Peter *et al*, 2011), instilação intratumoral de tiglato de tigilanol (Miller *et al*, 2019), entre outros.

Capítulo III - Materiais e métodos

Este trabalho teve como principal objetivo o estudo de casos clínicos de mastocitoma em cães, e posterior comparação dos mesmos, em termos de apresentação clínica, métodos de diagnóstico, tratamentos e fatores de prognóstico.

Os casos descritos foram selecionados durante o acompanhamento de consultas, cirurgias e tratamentos, no contexto do estágio curricular em Oncologia Clínica, no Hospital Veterinário Escolar da FMV-ULHT, entre 1 de novembro e 31 de dezembro de 2020. O acompanhamento dos casos e a recolha da informação relativa aos mesmos foi realizada com supervisão dos Médicos Veterinários responsáveis.

Foram incluídos quatro casos de mastocitoma em cães, com diagnóstico inicial realizado por citologia e confirmado por histopatologia.

Todos os exames complementares de diagnóstico e tratamentos foram realizados com consentimento dos tutores.

A seleção dos casos foi baseada na possibilidade de comparar as diferentes características de cada um, tanto em termos de apresentação clínica como de fatores de prognóstico identificados. Além disto, de acordo com as características de cada caso, foram também realizadas diferentes abordagens. Esta diversidade permite, apesar da amostra apenas incluir quatro animais, demonstrar que, tal como descrito na literatura, o mastocitoma é uma neoplasia com grande variabilidade e que a abordagem deve ser adaptada a cada situação, podendo gerar prognósticos muito diferentes.

Capítulo IV - Casos clínicos

1. Caso clínico 1 - Mastocitoma mucocutâneo

Foi apresentado para consulta de referência de oncologia umcanídeo, raça Serra da Estrela, macho inteiro, com 10 anos de idade e 49kg de peso. Cão de exterior, único animal da casa, alimentado com ração seca e com profilaxias em dia. Não apresentava historial clínico ou cirúrgico e não realizava qualquer medicação.

Foi referenciado para consulta de oncologia, devido à presença de um nódulo na face, há cerca de 1 mês, que já teria sido diagnosticado por citologia como mastocitoma noutro centro de atendimento médico-veterinário. Em consulta, o tutor referiu ainda que o animal apresentava prurido na região do nódulo e, ocasionalmente, episódios de vómitos e hiporexia.

Ao exame físico, apresentava-se com uma condição corporal de 4/9, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante e sem dor ou organomegalia na palpação abdominal. Na palpação dos linfonodos foi detetada linfadenomegalia submandibular direita.

O nódulo cutâneo, alopécico, bem delimitado, ligeiramente ulcerado e com cerca de 3,5 cm de diâmetro, localizado no lado direito focinho, especificamente na zona externa do lábio.

Tendo em conta que já tinha sido realizada PAAF com citologia anteriormente, com diagnóstico de mastocitoma, este procedimento não foi repetido.

Foram então realizados os exames complementares de estadiamento:

- Hemograma completo, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência (Anexo A - Tabela A1).
- PAAF com citologia dos linfonodos submandibulares direito e esquerdo (Anexo A - Tabela A2), cujo resultado foi compatível com metastização no linfonodo submandibular direito. A descrição citológica referia presença de mastócitos isolados ocasionais, com escassa quantidade de grânulos citoplasmáticos, anisocitose, anisocariose, rara macrocitose e binucleação. A amostra do linfonodo submandibular esquerdo não revelou evidência de metastização.
- PAAFs ecoguiadas de fígado e baço (Anexo A - Tabela A2), que não revelaram evidência de metástases.
- Ecografia abdominal (Anexo A - Tabela A3), onde não foram observadas quaisquer alterações. No entanto, foram registadas lesões nodulares

hiperecoicas e hipoecoicas, com dimensões entre 5 mm e 22mm de diâmetro, em ambos os testículos.

Após a realização dos exames foi determinado que se encontrava no estadio IIb, pelo que foi delineado o plano terapêutico descrito de seguida.

Inicialmente foi implementado tratamento com loratadina (10mg PO SID) e omeprazol (1mg/kg PO BID). Após o início desta terapêutica, o tutor referiu uma redução significativa nos episódios de vómito e no prurido e uma melhoria no apetite.

Devido à dimensão e localização do mastocitoma, que não permitiam realizar excisão com margens cirúrgicas amplas, foi realizada quimioterapia neoadjuvante, com o objetivo de citorredução, de forma a aumentar a probabilidade de obter margens histológicas completas. O protocolo utilizado foi o de associação de prednisolona a 1 mg/kg PO SID com vimblastina a 2mg/m² bolus IV semanalmente.

Cinco dias após a primeira administração de vimblastina, o animal apresentou diarreia líquida com muco e fraqueza nos membros posteriores. Os tutores tinham sido previamente avisados dos possíveis efeitos secundários, que incluem vómitos, diarreia e anorexia e, após aconselhamento telefónico, foi iniciado tratamento com metronidazol (10mg/kg PO BID durante 6 dias). No dia seguinte apresentou-se em consulta de forma a avaliar o seu estado geral e a viabilidade da continuação do tratamento neoadjuvante. O paciente já se movimentava normalmente, já não tinha diarreia e mantinha apetite normal. Ao exame físico, apresentava-se com membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, temperatura retal de 38,5ºC, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante e sem dor ou organomegalia na palpação abdominal. Foi realizado um hemograma completo que se encontrava dentro dos valores de referência (Anexo A - Tabela A4). Foi também verificada uma redução significativa no tamanho do mastocitoma, bem como da linfadenomegalia submandibular direita. Desta forma, foi decidida a continuação do tratamento, com redução das doses de prednisolona para 0,75mg/kg PO SID e de vimblastina em 10%, para 1,8mg/m² bolus IV, nas administrações futuras.

Na segunda administração de vimblastina, a dose utilizada foi 1,8mg/m² bolus IV e a dose de prednisolona foi reduzida para (0,5 mg/kg PO SID). Após esta segunda administração, o animal não apresentou quaisquer efeitos secundários.

Este protocolo neoadjuvante obteve resultados satisfatórios, com redução significativa da dimensão e ulceração do mastocitoma e também da linfadenomegalia do linfonodo submandibular direito. Após duas sessões foi planeada a cirurgia.

Na consulta pré-cirúrgica foi registado um ligeiro aumento do tamanho do mastocitoma, mas ainda com uma redução significativa em relação à dimensão inicial tendo,

nesta fase, cerca de 2,5 cm de diâmetro. Foram realizadas análises pré-anestésicas (Anexo A - Tabela A5):

- Hemograma completo, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência.
- Painel bioquímico (albumina, fosfatase alcalina [ALKP], ureia, creatinina, glucose, alanina aminotransferase [GPT] e proteínas totais): aumento da ALKP (877 IU/L, valores de referência 0 – 130 IU/L), da ureia (26 mg/dL, valores de referência 6 – 25 mg/dL) e da creatinina (1,9 mg/dL, valores de referência 0,8 – 1,4 mg/dL). O aumento da ALKP foi associado à corticoterapia e a azotémia a alterações na amostra, pois foi descrita hemólise e lipémia.

O protocolo anestésico incluiu pré-medicação com dexmedetomidina (3 µg/kg IM) e metadona (0,2 mg/kg IM), indução com propofol (1-4 mg/kg IV), manutenção com isoflurano e bloqueio maxilar e instilação intratesticular com bupivacaína a 0,5%. Foi realizada nodulectomia com margens laterais de 2 cm e um plano anatómico profundo, flap de avanço no lábio superior direito e linfadenectomia do linfonodo submandibular direito. Adicionalmente, devido às alterações observadas na ecografia, foi também realizada orquiectomia com técnica fechada. Todas as peças foram enviadas para histopatologia.

Tendo em conta a recuperação rápida no período pós-anestésico, foi dada alta cirúrgica no próprio dia, com paracetamol (10 mg/kg PO BID durante 5 dias), tramadol (3 mg/kg PO TID durante 3 dias), amoxicilina com ácido clavulânico (20mg/kg PO BID durante 8 dias), omeprazol e loratadina nas doses acima mencionadas e foi iniciada a descontinuação da prednisolona, inicialmente a 0,5mg/kg PO SID durante 3 dias e 0,5mg/kg PO EOD durante mais 6 tomas.

Nas consultas pós-cirúrgicas o animal apresentava-se confortável e as suturas estavam limpas e em processo de cicatrização. Os pontos foram removidos entre os 10 e os 15 dias após a cirurgia.

Cerca de 10 dias após a cirurgia foi verificada linfadenomegalia submandibular esquerda e, por isso, foi realizada PAAF (Anexo A – Tabela A6). Na citologia não foram observadas evidências de metastização, no entanto não foi possível descartar totalmente devido à presença de células redondas com moderada quantidade de citoplasma levemente granular magenta, maioritariamente lisadas. Após discussão com os tutores, tendo em conta que seria realizado tratamento adjuvante com quimioterapia, optou-se por não submeter o paciente a uma nova cirurgia para realização de linfadenectomia, mantendo, no entanto, uma monitorização atenta.

Os resultados da histopatologia (Anexo A - Tabela A7) revelaram um mastocitoma mucocutâneo, com invasão da submucosa labial. O relatório histopatológico descrevia mastócitos dispostos em cordões e em toalha, com atipia moderada, fraca granulação, núcleos pequenos, mitoses raras (não quantificadas), margem lateral de 1 cm e margem profunda de 2 cm. Por se tratar de um mastocitoma mucocutâneo, não foi realizada classificação do grau histológico. O estadiamento clínico foi reavaliado para IIIb, devido à infiltração da submucosa. A amostra do linfonodo submandibular direito não revelou evidências de metastização nem com coloração com hematoxilina-eosina, nem com Giemsa. Os nódulos testiculares eram adenomas das células de Leydig.

Cerca de um mês após a cirurgia, foi iniciada quimioterapia adjuvante com vimblastina (1,8mg/m² bolus IV) e prednisolona (0,5 mg/kg PO SID) em doses reduzidas, devido aos efeitos secundários previamente reportados. Foram realizadas duas administrações de vimblastina com uma semana de intervalo e, posteriormente, mais quatro administrações quinzenais.

Cada administração de vimblastina foi precedida de um breve questionário aos tutores em relação a efeitos secundários ou outras queixas, um exame físico e um hemograma completo, cujos valores se apresentaram dentro dos valores de referência.

- Em relação ao estado geral do animal os tutores referiram, em todas as consultas, que o paciente se encontrava ativo, com bom apetite e sem efeitos secundários dos tratamentos. Registou-se um aumento de peso de 1,9kg.
- Ao exame físico o paciente encontrava-se sempre sem alterações dignas de registo.
- Nos hemogramas (Anexo A - Tabelas A8 a A14), não foram registadas alterações até à sexta sessão, na sétima sessão foi verificada uma leucocitose ligeira (18,05 x10⁹/L, valores de referência 6 – 17 x10⁹/L) com neutrofilia (15,39 x10⁹/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10⁹/L) e linfopenia (0,45 x10⁹/L, valores de referência 0,83 – 4,69 x10⁹/L) ligeiras e na oitava sessão leucocitose (17,35 x10⁹/L, valores de referência 6 – 17 x10⁹/L) ligeira por neutrofilia (13,49 x10⁹/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10⁹/L). Estas alterações não foram consideradas impeditivas para continuação do tratamento.

Após a última administração de vimblastina, foi suspensa a administração de loratadina e omeprazol e iniciada a descontinuação da prednisolona, inicialmente com 0,5mg/kg PO EOD durante 15 dias e posteriormente 0,25 mg/kg EOD durante 7 dias.

Após a última sessão de quimioterapia, não foi possível obter seguimento deste paciente.

2. Caso clínico 2 – Mastocitoma cutâneo inguinal

Canídeo Labrador Retriever, macho inteiro, com 8 anos de idade e 40kg de peso, apresentou-se em consulta devido a um nódulo na região cranial ao prepúcio, que estaria presente há cerca de 5 anos e, desde essa altura, não teria aumentado de tamanho. O animal não apresentava quaisquer outros sinais como vómitos, diarreias ou tosse e mantinha um apetite regular.

Era um cão de interior com acesso à rua por passeios, único animal da casa, alimentado com ração seca e húmida e com vacinação e desparasitações em dia. Tinha historial clínico de otites, não realizava nenhuma medicação crónica e nunca tinha sido submetido a nenhuma cirurgia.

Ao exame físico, apresentava-se com uma condição corporal de 5/9, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem dor ou organomegalia na palpação abdominal e sem linfadenomegalias.

O nódulo estava localizado cranialmente ao prepúcio, tinha cerca de 3 cm de diâmetro e era cutâneo, alopécico, móvel, com consistência mole e não se encontrava ulcerado.

Foi então realizada PAAF e citologia do nódulo (Anexo B - Tabela B1), cujo resultado revelou um mastocitoma citologicamente bem diferenciado. Na amostra observavam-se mastócitos isolados com grânulos citoplasmáticos abundantes, e mínima anisocitose e anisocariose.

Após o diagnóstico inicial, foi iniciado tratamento com loratadina (0,25mg/kg PO SID) e omeprazol (1mg/kg PO BID).

Foram realizados os seguintes exames complementares de estadiamento:

- Hemograma completo, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência (Anexo B - Tabela B2).
- Painel bioquímico (Anexo B - Tabela B2) (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): aumento da creatinina (1,7 mg/dL, valores de referência 0,8 – 1,4 mg/dL) e hiperproteinemia (7,5 g/dL, valores de referência 4,7 – 6,9 g/dL). Foi descrita hemólise da amostra.
- Ecografia abdominal (Anexo B - Tabela B3), onde não foram observadas quaisquer alterações.
- PAAFs ecoguiadas dos linfonodos inguinais direito e esquerdo, fígado e baço (Anexo B - Tabela B4). As amostras dos linfonodos eram compostas por uma população celular mista com mastócitos isolado e agrupados, com variável quantidade de grânulos citoplasmáticos e moderada anisocitose e

anisocariose, compatível com metastização bilateral. Nas amostras de fígado e baço não foram encontradas evidências de metastização.

Com base nos exames efetuados, foi determinado um estadio IIa, pelo que foi sugerida cirurgia para exérese da lesão e linfonodos e tratamento adjuvante.

Na consulta pré-cirúrgica o tutor referiu um episódio de fezes moles, sem outras queixas. Referiu também que tinha interrompido a administração de loratadina e omeprazol, que foi aconselhado a retomar. Foram realizadas análises pré-anestésicas:

- Hemograma completo e painel bioquímico (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais), cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência (Anexo B - Tabela B5).

Cerca de duas semanas depois, no dia da cirurgia, o paciente apresentava diarreia líquida e vómitos. Ao exame físico, apresentava-se com membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação de 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem dor ou organomegalia na palpação abdominal e sem linfadenomegalias. Foram realizadas análises:

- Hemograma completo, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência (Anexo B - Tabela B6).
- Painel bioquímico (Anexo B - Tabela B6) (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): hiperproteinemia (7,2 g/dL, valores de referência 4,7 – 6,9 g/dL). Foi descrita hemólise da amostra.
- Ionograma, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência.

Apesar de não terem sido encontradas alterações significativas no exame físico ou nas análises sanguíneas, a presença de vómitos e diarreia obrigou ao adiamento da cirurgia. Foi prescrito metronidazol (10mg/kg PO BID durante 6 dias).

Após a resolução dos sinais acima mencionados, 10 dias após a data inicialmente marcada, foi realizada a cirurgia.

O protocolo anestésico incluiu pré-medicação com dexmedetomidina (20 µg/kg IM), metadona (0,2 mg/kg IM) e ketamina (5 mg/kg IM), indução com propofol (1-4 mg/kg IV) e manutenção com isoflurano. Foi realizada nodulectomia com margens laterais de 2 cm e 1 plano profundo, reconstrução do prepúcio e linfadenectomia bilateral dos linfonodos inguinais. A analgesia pós-cirúrgica foi feita com infusão contínua de ketamina (2 µg/kg IV) e dexmedetomidina (1 µg/kg IV) durante 24 horas e metadona (0,2 mg/kg IV q4h).

Durante a preparação para a cirurgia foi observado um nódulo na base do pavilhão auricular. Foi realizada PAAF com citologia, no entanto a amostra revelou ser acelular e não permitiu obter um diagnóstico.

No dia seguinte a região da sutura do prepúcio apresentava apenas hematoma e algum edema e o paciente teve alta com meloxicam (0,1 mg/kg PO SID durante 4 dias), amoxicilina com ácido clavulânico (20 mg/kg PO BID durante 8 dias), tramadol (3 mg/kg PO TID durante 3 dias), a medicação previamente prescrita (omeprazol e loratadina) e indicação para colocação de gelo na periferia das suturas, durante 10 minutos, duas vezes por dia.

Três dias depois da cirurgia, na avaliação pós-cirúrgica, a região da sutura do prepúcio apresentava um hematoma extenso, no entanto o animal não apresentava dor nem desconforto. O tutor referiu episódios de hematúria, sem disúria. Foi aconselhada a aplicação de compressas frias na zona e repouso absoluto.

Na segunda reavaliação, 7 dias após a cirurgia, havia uma melhoria significativa do hematoma e a sutura estava limpa e em processo de cicatrização. Havia, no entanto, um edema de gravidade acentuado no escroto. A administração de antibioterapia e anti-inflamatório não esteroide foi prolongada para mais 4 dias, nas doses acima mencionadas.

Nas reavaliações seguintes foi registada uma melhoria progressiva com resolução do edema no escroto. Os agrafos foram removidos entre os 10 e os 14 dias após a cirurgia.

O resultado da histopatologia (Anexo B - Tabela B7) revelou um mastocitoma cutâneo difuso com invasão do tecido subcutâneo. Observaram-se mastócitos dispostos em cordões, num estroma rico em colagénio, com anaplasia é baixa a moderada, raras figuras de mitose (menos de uma mitose por 10 campos de observação com a objetiva de 40x), margem lateral de 1 cm e margem profunda de 1,5 cm. Foi classificado histologicamente com Grau II Patnaik e baixo grau Kiupel. Além disto, foi confirmada a metastização nos linfonodos inguinais, ainda que classificada como precoce. O estadio clínico foi então reavaliado para III devido à invasão do tecido subcutâneo, não sendo totalmente claro o subestadio pois não foi possível esclarecer se os episódios de vómitos e diarreia estariam, ou não, relacionados com o mastocitoma ou se teriam ocorrido por outras causas.

Cerca de um mês e uma semana após a cirurgia foi iniciado tratamento adjuvante com quimioterapia. O protocolo utilizado foi o de vimblastina na dose 2,0 mg/m² bolus IV semanalmente durante quatro semanas consecutivas e, depois, quinzenalmente, durante mais quatro tratamentos e prednisolona na dose 1 mg/kg PO SID durante duas semanas e depois EOD durante 10 semanas.

Previamente a cada administração de vimblastina o tutor foi questionado em relação a efeitos secundários ou outras queixas e foi realizado exame físico e um hemograma completo, cujos valores se apresentaram dentro dos valores de referência.

- Em relação ao estado geral do animal os tutores referiram sempre que se encontrava ativo, com bom apetite e sem efeitos secundários dos tratamentos. Foi registado um aumento de peso de 5kg.

- Ao exame físico o paciente encontrava-se sempre sem alterações dignas de registo.
- Nos hemogramas (Anexo B - Tabela B8 a B15) foram observadas algumas alterações. Na primeira sessão neutrofilia (13,87 x10⁹/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10⁹/L) e linfopenia (0,48 x10⁹/L, valores de referência 0,83 – 4,69 x10⁹/L) ligeiras, na segunda sessão leucopenia (5,18 x10⁹/L, valores de referência 6 – 17 x10⁹/L) com neutropenia ligeira (3,26 x10⁹/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10⁹/L) e na quinta sessão leucocitose (20,92 x10⁹/L, valores de referência 6 – 17 x10⁹/L) por neutrofilia (18,04 x10⁹/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10⁹/L), linfopenia (0,58 x10⁹/L, valores de referência 0,83 – 4,69 x10⁹/L) e monocitose (2,01 x10⁹/L, valores de referência 0,14 – 1,97 x10⁹/L). Na terceira, quarta e sexta, sétima e oitava sessões os hemogramas encontravam-se dentro dos valores de referência. Estas alterações não foram consideradas impeditivas para continuação do tratamento.

Após a última administração de vimblastina, foi suspensa a administração de loratadina e omeprazol e iniciada a descontinuação da prednisolona, iniciando com 0,5mg/kg PO EOD durante 15 dias e posteriormente 0,25 mg/kg EOD durante 7 dias.

Na reavaliação, um mês após a última sessão de quimioterapia, o paciente apresentava-se ativo, com apetite normal, sem vómitos ou diarreia, sem alterações no exame físico e sem sinais de recidiva local ou desenvolvimento de outros nódulos. O tutor referia, no entanto, prurido nos ouvidos. Foi realizada citologia auricular que revelou uma otite sética por *Malassezia spp.* e foi prescrita limpeza e tratamento com um antifúngico tópico.

Foi agendada uma segunda reavaliação oncológica, com análises sanguíneas e ecografia abdominal, para 3 meses mais tarde.

3. Caso clínico 3 – Mastocitoma cutâneo no membro posterior direito

Canídeo Boxer, fêmea esterilizada, com 5 anos de idade e 23kg de peso, apresentou-se em consulta de oncologia, após referência, devido à presença de um nódulo no membro posterior direito, diagnosticado citologicamente como mastocitoma, após ter sido realizada PAAF (Anexo C – Tabela C1) numa consulta de vacinação. Este nódulo estaria presente há cerca de um ano e, desde essa altura, não teria aumentado de tamanho, mas tinha ulcerado. Não apresentava outras queixas como vómitos ou diarreia e mantinha apetite e peso regulares.

Era uma cadela de interior com acesso à rua por passeios, único animal da casa, alimentada com ração seca e húmida e com vacinação e desparasitações em dia. Tinha historial médico de displasia da anca, luxação da rótula esquerda, e gastrites alimentares. Não tinha historial cirúrgico além da ovariohisterectomia e não era medicada cronicamente, apenas suplementada com um condroprotetor.

Ao exame físico, apresentava-se com uma condição corporal de 4/9, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem dor ou organomegalia na palpação abdominal e sem linfadenomegalias. Apresentava, no entanto, hiperplasia gengival.

O nódulo era cutâneo, com cerca de 3 cm de diâmetro, ulcerado, localizado na região caudal da coxa direita, proximalmente ao linfonodo poplíteo.

O relatório citológico do nódulo revelou um mastocitoma aparentemente bem diferenciado, devido à elevada quantidade de grânulos citoplasmáticos (Anexo C - Tabela C1).

Foi iniciado tratamento com loratadina (0,2mg/kg PO SID) e omeprazol (1mg/kg PO BID) e foram realizados os seguintes exames complementares de estadiamento:

- Hemograma completo, cujos valores se encontravam dentro dos valores de referência (Anexo C - Tabela C2).
- Painel bioquímico (Anexo C - Tabela C2) (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): hipoalbuminémia (2,0 g/dL, valores de referência 2,2 – 3,5 g/dL) e aumento da creatinina (1,5 mg/dL, valores de referência 0,8 – 1,4 mg/dL). Foi observada hemólise da amostra.
- PAAF com citologia do linfonodo poplíteo direito (Anexo C - Tabela C3), cuja amostra não permitiu pesquisa de metástases.
- PAAF de um outro nódulo localizado num dígito do membro posterior esquerdo, cuja citologia revelou ser um lipoma (Anexo C - Tabela C3).
- Ecografia abdominal (Anexo C - Tabela C4), onde não foram observadas alterações, exceto um ligeiro espessamento difuso da parede gástrica.

Desta forma, e com base nos exames realizados, o animal foi considerado encontrar-se no estadio Ia, tendo sido sugerida cirurgia para exérese do nódulo.

Na consulta pré-cirúrgica foram realizadas análises pré-anestésicas:

- Painel bioquímico (Anexo C - Tabela C5) (ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): aumento ligeiro da ureia (26mg/dL, valores de referência 6 – 25 mg/dL).

Foi realizada nodulectomia com margens laterais de 2 cm e 1 plano anatómico profundo.

Tendo em conta a recuperação pós-anestésica e o conforto da paciente, foi dada alta no mesmo dia com amoxicilina com ácido clavulânico (20 mg/kg PO BID durante 8 dias), meloxicam (0,2 mg/kg PO SID durante 5 dias) e paracetamol (10 mg/kg PO SID durante 5 dias).

Durante a cirurgia foi observado um nódulo na zona cervical lateral direita. Foi realizada PAAF mas a citologia foi inconclusiva pois a amostra era acelular.

Nas consultas pós-cirúrgicas a paciente apresentava-se confortável, ativa, com apetite normal e sem sinais de dor, vómitos, diarreia ou outras queixas. A sutura apresentava-se limpa e em processo de cicatrização. Os pontos foram removidos 12 dias após a cirurgia.

A histopatologia (Anexo C - Tabela C6) revelou um mastocitoma cutâneo, bem demarcado, mas não capsulado. As células apresentavam-se dispostas em toalha, tinham citoplasma granuloso basófilo e núcleo redondo central. A atipia celular era baixa e as figuras de mitose raras. Entre as células identificam-se eosinófilos. Tinha margem lateral de 1 cm e margem profunda de 0,5 cm. Foi classificado como Grau II de acordo com a classificação de Patnaik e baixo Grau de acordo com a classificação de Kiupel.

Tendo em conta o grau histológico, o facto de se terem obtido margens histológicas completas e de não estarem identificados fatores de mau prognóstico, esta paciente não tinha indicação para tratamento adjuvante. Foi então explicado aos tutores a necessidade de vigiar o local onde tinha sido removido o mastocitoma, bem como o aparecimento de novos nódulos e de realizar reavaliações trimestrais.

Nas reavaliações, três e oito meses depois, a paciente apresentava-se ativa, com apetite normal, peso constante, sem alterações no exame físico e sem sinais de recidiva local ou desenvolvimento de outros nódulos.

4. Caso clínico 4 – Mastocitoma escrotal

Canídeo cruzado de Labrador Retriever, macho inteiro, com 12 anos de idade e 24kg de peso, apresentou-se em consulta devido à presença de um nódulo no escroto, que teria surgido há cerca de um mês. Desde essa altura que os tutores faziam limpeza diária com iodopovidona, mas uns dias antes da consulta o nódulo teria ulcerado com saída de líquido sanguino-purulento. Além disto, duas semanas antes da consulta, o animal teria tido episódios de vómitos e fezes líquidas, que na altura foram associadas a uma indiscrição alimentar e foi feito tratamento com metronidazol (10mg/kg PO BID) e um suplemento probiótico, durante 5 dias, que levou à resolução destes episódios. Verificou-se, também, que tinha perdido cerca de 4kg no último mês.

Era um cão de interior e exterior, alimentado com ração seca e com vacinação e desparasitações em dia. Não apresentava historial de internamentos ou cirurgias.

Ao exame físico, apresentava-se com uma condição corporal de 3/9, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem dor ou organomegalia na palpação abdominal e sem linfadenomegalias.

O nódulo encontrava-se no escroto, especificamente na zona intertesticular cranial, tinha cerca de 4,5 cm de diâmetro, consistência dura e apresentava-se ulcerado com ferida aberta e presença de algum sangue vivo.

Foi realizada PAAF e citologia do nódulo, cujo resultado revelou um mastocitoma aparentemente bem diferenciado, devido à presença abundante de grânulos citoplasmáticos (Anexo D - Tabela D1).

Após o diagnóstico inicial, foi iniciado tratamento com loratadina (0,6mg/kg PO SID) e omeprazol (1mg/kg PO BID).

Foram realizados os seguintes exames complementares de estadiamento:

- Hemograma completo, cujos valores se apresentavam dentro dos valores de referência (Anexo D - Tabela D2).
- Painel bioquímico (Anexo D - Tabela D2) (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): hipoalbuminémia (1,9 g/dL, valores de referência 2,2 – 3,5 g/dL).
- Ecografia abdominal (Anexo D - Tabela D3), onde se verificou uma ligeira linfadenomegalia do linfonodo ilíaco medial, mas sem alterações na forma ou na ecogenecidade e ligeira esplenomegalia com presença de um nódulo hiperecoico com cerca de 4mm junto ao hilo.
- PAAFs ecoguiadas dos linfonodos inguinais direito e esquerdo e ilíaco medial, baço e fígado (Anexo D - Tabela D4). As citologias dos linfonodos inguinais

revelaram sinais de metastização, com observação de mastócitos frequentes, isolados ou em pequenos grupos, com pouca quantidade de grânulos citoplasmáticos, evidente anisocitose e anisocariose e raras células binucleadas e multinucleadas, indicativo de um mastocitoma pouco diferenciado. As citologias de fígado e baço não tinham evidências de metastização. A amostra do linfonodo ilíaco medial revelou ser acelular e, por isso, não diagnóstica.

Assim, foi considerado um estadiamento IIb e delineado o plano terapêutico que incluía cirurgia e tratamento adjuvante.

No dia da ecografia foi iniciada terapia neoadjuvante com prednisolona 1 mg/kg PO SID durante 5 dias e com posterior redução para 0,5 mg/kg PO SID até à cirurgia. Após o início da corticoterapia foi observada uma redução significativa no tamanho e na ulceração do mastocitoma, com eventual cicatrização da ferida e resolução do edema adjacente.

Para a cirurgia, o protocolo anestésico realizado foi pré-medicação com dexmedetomidina (3 µg/kg IM) e metadona (0,2 mg/kg IM), indução com propofol (1-4 mg/kg IV), manutenção com isoflurano e bloqueio anestésico com epidural sacrococcígea com bupivacaína 0.5%.

Foi realizada orquiectomia com técnica fechada, ablação do escroto e linfadenectomia bilateral dos linfonodos inguinais.

Tendo em conta a recuperação pós-anestésica, teve alta no mesmo dia com paracetamol (10 mg/kg PO TID), prednisolona (0,5 mg/kg EOD durante, pelo menos, 8 dias) e omeprazol e loratadina nas doses acima mencionadas.

Três dias após a cirurgia, o paciente foi levado a consulta de urgência por prostração, hiporexia e relutância ao movimento desde o dia anterior. O tutor referiu ainda que, desde o dia anterior, tinha interrompido a administração da medicação prescrita.

Ao exame físico, apresentava-se prostrado, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem dor ou organomegalia na palpação abdominal, sem linfadenomegalias, normotérmico e normotenso. A zona da sutura estava muito dolorosa e edemaciada, com deiscência da sutura e sinais de infeção.

Foram realizadas análises sanguíneas (Anexo D - Tabela D5):

- Hemograma completo: leucocitose (27,03 x10^9/L, valores de referência 6 – 17 x10^9/L) por neutrofilia (23,25 x10^9/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10^9/L).

- Painel bioquímico (albumina, ALKP, ureia, creatinina, glucose, GPT e proteínas totais): hipoalbuminémia (2,0 g/dL, valores de referência 2,2 – 3,5 g/dL), aumento da ALKP (1057 IU/L, valores de referência 0 – 130 IU/L), da creatinina (1,5 mg/dL, valores de referência 0,8 – 1,4 mg/dL) e da GPT (559 IU/L, valores de referência 0 – 113 IU/L). O aumento das enzimas hepáticas foi associado à corticoterapia.

O animal foi internado com amoxicilina com ácido clavulânico (20 mg/kg PO BID), metronidazol (10 mg/kg PO BID), prednisolona (0,5 mg/kg PO SID), maleato de clorfenamina (2,5 - 10 mg IM TID), e metadona (0,2 mg/kg IV q4-6h) e omeprazol e loratadina nas doses acima mencionadas.

Devido à deiscência da sutura foi necessário realizar revisão cirúrgica. O protocolo anestésico utilizado foi o mesmo que na primeira cirurgia e foi realizada limpeza dos bordos que se encontravam desvitalizados por lambedura e uma nova sutura.

Foi dada alta dois dias depois, com amoxicilina com ácido clavulânico (20 mg/kg PO BID durante 6 dias), metronidazol (10 mg/kg PO BID durante 4 dias), prednisolona (0,5 mg/kg PO SID), paracetamol (10 mg/kg PO TID durante 5 dias) e omeprazol e loratadina nas doses acima mencionadas.

Na reavaliação pós-cirúrgica, 5 dias após a segunda cirurgia, a sutura apresentava-se limpa, sem sinais de infeção e em processo de cicatrização. Apesar da melhoria do estado geral, o tutor referiu episódios diários de vómito e foi prescrito maropitant (1 mg/kg PO SID durante 4 dias) e redução da administração de prednisolona para 0,5 mg/kg PO EOD. Nas restantes reavaliações pós-cirúrgicas foi registada uma melhoria progressiva e a cicatrização da sutura ocorreu normalmente, com remoção dos pontos 12 dias após a cirurgia.

A histopatologia (Anexo D - Tabela D6) revelou um mastocitoma escrotal com limites mal definidos, com margens cirúrgicas laterais de 2 cm. As células observadas apresentavam núcleo central e moderada quantidade de citoplasma acidófilo que por vezes apresentava fraca granulação basófila, pleomorfismo discreto e raras figuras de mitose. A metastização nos linfonodos foi confirmada pela alteração da sua arquitetura devido à presença de agregados de mastócitos. Por se tratar de um mastocitoma escrotal não foi realizada classificação em graus histológicos. A metastização nos linfonodos foi classificada como HN3, pelo que foi sugerida a realização de quimioterapia pós-cirúrgica.

Assim, duas semanas após a cirurgia foi iniciado tratamento adjuvante com o protocolo de prednisolona em dose inicial de 1 mg/kg PO SID e vimblastina na dose 2,0 mg/m² bolus IV semanalmente durante quatro semanas consecutivas e, depois, quinzenalmente, durante mais quatro tratamentos. A dose de prednisolona foi reduzida para 0,75 mg/kg PO SID na segunda sessão.

O tratamento foi interrompido após a segunda administração de vimblastina, por opção dos tutores, decorrendo duas semanas e meia até levarem o seu animal novamente ao Hospital. Por este motivo foi aconselhado reiniciar o protocolo, de forma a garantir a sua eficácia.

O protocolo inicialmente descrito foi reiniciado, desta vez com prednisolona na dose 0,75 mg/kg PO SID.

Previamente a cada administração de vimblastina o tutor foi questionado em relação a efeitos secundários ou outras queixas e foi realizado exame físico e um hemograma completo, cujos valores se apresentaram dentro dos valores de referência.

- Em relação ao estado geral do animal os tutores referiram sempre que se encontrava ativo, com bom apetite e o único efeito secundário relatado foi polidipsia, associada à corticoterapia. Foi registado um aumento de peso de 3kg.
- Ao exame físico o paciente encontrou-se sempre sem alterações dignas de registo.
- Os hemogramas encontraram-se sempre dentro dos valores de referência (Anexo D - Tabelas D7 a 12).

No entanto, após a quarta sessão, o tutor decidiu desistir do tratamento.

Cerca de 6 semanas após a última sessão de quimioterapia, o animal foi levado a consulta de urgência por prostração e anorexia.

Ao exame físico, apresentava-se prostrado, membranas mucosas rosadas, tempo de repleção capilar inferior a 2 segundos, desidratação inferior a 5%, sem alterações na auscultação cardíaca e pulmonar, pulso femoral forte e concordante, sem organomegalia na palpação abdominal, temperatura de 37,9ºC e normotenso. Apresentava edema acentuado em toda a zona inguinal e prepúcio (Figura 1). Foram realizadas análises sanguíneas (Anexo D - Tabela D13):

- Hemograma completo: leucocitose (29,35 x10^9/L, valores de referência 6 – 17 x10^9/L) por neutrofilia (26,71 x10^9/L, valores de referência 3,62 – 11,32 x10^9/L).
- Tira de glicémia (74 mg/dL, valores de referência 72 – 122 mg/dL).

O animal foi internado com prednisolona (1mg/kg SID), omeprazol (1mg/kg PO BID), maleato de clorfenamina (2,5 - 10 mg IM TID), metadona (0,2 mg/kg IV q4-6h).

Foi realizada PAAF do nódulo da região inguinal e a citologia revelou células fusiformes com atipia marcada, compatível com a presença de células mesenquimatosas reativas ou neoplásicas (Anexo D - Tabela D14).

Após este resultado, os tutores optaram pela eutanásia do animal.



Figura 1 - Nódulo e edema inguinal após possível recidiva. Imagem original, cedida pela Dra. Joana Peixoto.

Capítulo V - Discussão

Na presente dissertação foram apresentados quatro casos de mastocitoma em cães, dois deles cutâneos, um mucocutâneo labial e um escrotal. Um dos mastocitomas cutâneos estava localizado na região inguinal e o outro no membro posterior direito. A região inguinal e as extremidades são, respetivamente, a segunda e terceira localizações mais frequentes em mastocitomas cutâneos, de acordo com a literatura (Hottendorf & Nielsen, 1967; Horta *et al,* 2018).

Segundo a literatura, algumas das localizações observadas estão associadas a um pior prognóstico, nomeadamente a mucosa oral (Elliott *et al*., 2016) e o escroto (Sfiligoi *et al*, 2005).

Três dos casos ocorreram em cães de raças ou cruzamentos de raças descritas como predispostas para o desenvolvimento de mastocitoma, nomeadamente Boxer e Labrador Retriever (Bostock, 1973; Warland, 2013; Mochizuki, 2017). A incidência de mastocitoma em Serras da Estrela poderá não ser tão conhecida por se tratar de uma raça tipicamente encontrada em Portugal e, por isso, não se encontrar nos países onde foram realizados os estudos previamente referidos.

No que diz respeito à idade, três dos quatro animais incluídos neste trabalho encontravam-se na faixa etária dos 8 aos 12, o que coincide com a maior predisposição descrita em cães mais velhos (Hottendorf & Nielsen, 1967; Patnaik *et al*, 1984).

Em três dos quatro casos, a presença do nódulo foi o motivo que levou os tutores a procurar uma consulta médico-veterinária. No caso 3 este foi referido pelo tutor durante uma consulta de vacinação e o Médico Veterinário assistente sugeriu a realização imediata de PAAF, com o qual o tutor concordou e, após o resultado da citologia, referiu o caso para consulta de oncologia. Além disto, nos casos 2 e 3 os mastocitomas estariam presentes há longos períodos de tempo, nomeadamente 5 anos e 1 ano, respetivamente. Isto mostra que nem todos os tutores estão sensibilizados para a existência de doenças oncológicas em animais de companhia, principalmente neoplasias malignas, que exigem abordagens por vezes agressivas e, caso contrário, podem colocar em risco a vida do animal. É importante, por este motivo, educar os tutores, principalmente tutores de cães de raças predispostas, para a necessidade de, assim que é observada a presença de um nódulo, dirigir-se a uma consulta de forma a caracterizar a sua natureza e proceder em concordância com o resultado.

Em termos de aspeto macroscópico os mastocitomas observados nos casos descritos eram todos lesões cutâneas solitárias e alopécicas, que é a apresentação mais frequentemente descrita. No entanto é importante ter em atenção que o mastocitoma, por vezes denominado de “grande imitador”, pode ter apresentações muito variáveis e

inclusivamente mimetizar lesões não neoplásicas (Carlsten *et al*., 2012; Kiupel & Camus, 2019). Foram observadas diferenças em termos de tamanho, que variou entre os 3 cm e os 4,5 cm, na consistência e na presença ou não de prurido, edema e ulceração.

Está descrito na literatura que o aspeto macroscópico e o tamanho, quando superior a 3 cm, estão relacionados com o prognóstico. Mastocitomas pouco diferenciados tendem a causar uma maior reação inflamatória local, com edema e ulceração e, por vezes, apresentam lesões satélite (Bostock, 1973; Marconato *et al*., 2008; London & Thamm, 2019). Em todos os casos apresentados a lesão tinha diâmetro superior a 3 cm. Outros sinais observados incluíram ulceração em três dos casos e edema local difuso no caso 4.

Também no que diz respeito à velocidade de crescimento foram observadas grandes discrepâncias, com dois dos casos tendo o mastocitoma presente há cerca de 1 mês e em constante evolução e, por outro lado, nos outros dois casos, estando presente há anos, sem aumentar significativamente de tamanho. Segundo a literatura, uma velocidade de crescimento superior a $1cm^3$ por semana está associada a um menor tempo mediano de sobrevida e maior taxa de recidiva (Bostock, 1973).

Em termos de síndromes paraneoplásicas, um dos animais apresentava vómitos, provavelmente causados por ulceração gástrica. Apesar de não terem sido realizados exames complementares que confirmassem a presença de ulceração gástrica, esta hipótese é reforçada pelo facto de se ter observado uma melhoria significativa neste sinal clínico após o início do tratamento com loratadina e omeprazol. Na literatura a ulceração gástrica está descrita como uma síndrome paraneoplásica causada pela libertação de histamina, que ocorre em 35% a 83% dos casos (Howard *et al*, 1969; Fox *et al*, 1990).

O tratamento com bloqueadores dos recetores de histamina H1 e H2 ou o inibidor da bomba de protões é muito importante em casos em que se verifiquem sinais que indiquem que está a ocorrer libertação de histamina, sejam eles locais ou sistémicos. Também é importante no período pré-cirúrgico de forma a evitar complicações na cirurgia e na recuperação pós-cirúrgica (Howard *et al*., 1969; Govier, 2003; Mullins *et al*., 2006). Por este motivo este tratamento foi implementado em todos os casos descritos. Foram utilizados loratadina (bloqueador dos recetores de histamina H1) e omeprazol (inibidor da bomba de protões), mas alguns fármacos alternativos incluem a difenidramina como bloqueador dos recetores de histamina H1 e a cimetidina ou a ranitidina como bloqueadores dos recetores de histamina H2 (Govier, 2003). No entanto, um estudo em 16 cães saudáveis estudou os efeitos da ranitidina, famotidina, pantoprazol e omeprazol no pH gástrico e verificou que todos, exceto a ranitidina, foram eficazes a suprimir a secreção de ácido gástrico no espaço de 24 horas (Bersenas *et al*, 2005).

Em todos os casos o diagnóstico inicial foi realizado através de PAAFs com citologia e, em todos os casos, a citologia permitiu o diagnóstico de mastocitoma. Tal como descrito na literatura (Griffiths *et al*., 1984; Baker-Gabb *et al*., 2003), este foi um método de elevada sensibilidade. Em dois dos casos foi inclusivamente atribuído grau citológico baixo, de acordo com a classificação proposta por Camus *et al* (2016), com base na quantidade de grânulos citoplasmáticos ou, pelo menos, dois de quatro achados: figuras mitóticas, células binucleadas ou multinucleadas, pleomorfismo nuclear ou anisocariose superior a 50% (Camus *et al* 2016). Esta classificação tem como objetivo fazer uma previsão da posterior classificação histológica com base na escala Kiupel e auxiliar no planeamento da cirurgia. No caso clínico 3, o mastocitoma de baixo grau citológico veio a revelar-se também de baixo grau histológico na escala de Kiupel. No outro caso a classificação histológica acabou por não ser realizada por se tratar de um mastocitoma escrotal.

O estadiamento realizado incluiu sempre análises sanguíneas, PAAFs dos linfonodos regionais e ecografia abdominal. Este é considerado, pela literatura, o estadiamento básico em mastocitoma. Permite avaliar o estado geral do animal e também a presença de metástases nos linfonodos e metástases macroscópicas nos órgãos viscerais (Blackwood *et al*., 2012).

Em três dos casos as citologias indicavam evidências de metastização nos linfonodos. Nestes foram realizadas também PAAFs de fígado e baço, mesmo quando estes não apresentavam alterações ecográficas, devido à presença de fatores de mau prognóstico como a localização, presença de sinais sistémicos e metástases nos linfonodos. Em alguns estudos, verificou-se que na quase totalidade dos casos, as metástases nos linfonodos precedem o aparecimento de metástases distantes. Desta forma, alguns autores defendem a utilização dos linfonodos como "sentinelas" (London & Seguin, 2003; Warland *et al*., 2014; Mutz *et al*., 2017; London & Thamm, 2019). No caso 3, na presença de um mastocitoma de crescimento lento, classificado com baixo grau citológico e na ausência de outros fatores de mau prognóstico ou alterações ecográficas, não foram realizadas punções de fígado ou baço.

Em nenhum dos casos foi realizada citologia do esfregaço do "buffy-coat" de sangue periférico para pesquisa de mastocitose pois, na literatura recente, este já não é considerado um exame complementar útil no estadiamento de mastocitoma porque o resultado pode ser influenciado por processos inflamatórios e infecciosos não relacionados com a doença neoplásica (Stockham & Basel, 1983; Bookbinder *et al*, 1992; Cayatte *et al*, 1995; McManus, 1999).

Também não foi realizada punção de medula óssea em nenhum dos casos, o que também vai de acordo com a literatura, que recomenda este procedimento em mastocitomas de alto grau, alto risco de metastização distante e/ou se verifiquem alterações no hemograma

indicativas de metastização na medula, como neutrofilia, monocitose, eosinofilia, basofilia, anemia e trombocitopenia (Endicott *et al*., 2007; Aubry *et al*., 2012). Tendo em conta estas recomendações, nenhum dos animais tinha indicação para a realização deste procedimento, uma vez que as avaliações citológicas não indicavam a existência de mastocitoma anaplásicos, não se verificaram metástases distantes nem alterações hematológicas compatíveis com metastização na medula.

O estadiamento é um passo essencial nos casos de mastocitoma. Antes de mais porque permite avaliar do estado geral do animal e, consequentemente, a viabilidade de o submeter a determinados tratamentos, como cirurgias ou tratamentos adjuvantes. Além disto, tendo em conta que a presença de metástases distantes, nos órgãos viscerais ou na medula, terá um impacto considerável no prognóstico, é importante realizar o estadiamento antes de planear um tratamento agressivo e/ou dispendioso e também gerir as expectativas dos tutores. Nos casos apresentados observaram-se estadios clínicos variados e inclusivamente alteração do mesmo, em alguns dos casos, após avaliação histopatológica do tumor.

Em todos os casos foi realizado controlo local com cirurgia, que é o tratamento de primeira escolha (Govier, 2003; Mullins *et al*., 2006; Garrett, 2014).

No caso clínico 1, devido à sua localização, foi realizado tratamento neoadjuvante com quimioterapia. Este tratamento é utilizado com o objetivo de reduzir o tamanho do mastocitoma e aumentar as probabilidades de obter margens histológicas completas (Thamm *et al*., 1999; Hayes *et al*., 2007; Stanclift & Gilson, 2008). Antes de iniciar este tratamento foram realizadas medições, pois o planeamento da cirurgia deve ter em conta a dimensão inicial (Stanclift & Gilson, 2008). O tratamento consistiu em duas administrações de vimblastina (2 mg/m² bolus IV), com uma semana de intervalo, e prednisolona (1 mg/kg PO SID) durante duas semanas e posteriormente metade da dose (0,5 mg/kg PO SID) até à cirurgia. No entanto estas doses foram reduzidas após a primeira administração de vimblastina devido ao desenvolvimento de efeitos secundários.

No caso clínico 4 foi também realizado tratamento neoadjuvante, mas apenas com corticoterapia, com prednisolona 1 mg/kg PO SID durante 5 dias e com posterior redução para 0,5 mg/kg PO SID até à cirurgia de forma a reduzir a dimensão do tumor e a reação local. Este tratamento está descrito na literatura, com taxa de resposta de 70% (Stanclift & Gilson, 2008).

Previamente a todas as cirurgias foram realizadas consultas pré-cirúrgicas, com análises pré-anestésicas. Nestas consultas foi explicado aos tutores como se procederia a anestesia e a cirurgia e foi avaliado o risco anestésico de cada animal.

O protocolo anestésico foi adaptado a cada animal e também à cirurgia. Em alguns casos foram realizados bloqueios anestésicos, de forma a proporcionar uma analgesia eficaz.

As margens cirúrgicas realizadas dependeram da localização do mastocitoma. Nos casos 1, 2 e 3 foram planeadas cirurgias com margens laterais de 2 cm e um plano anatómico profundo. No caso 4 foi realizada excisão compartimental em bloco, com ablação do escroto e orquiectomia, obtendo margens laterais de 2cm e um plano anatómico profundo. Na literatura, as margens cirúrgicas recomendadas são de 3 cm lateralmente e um plano anatómico profundo para mastocitomas anaplásicos (Govier, 2003; Murphy *et al*., 2004) e de 2 cm lateralmente e um plano anatómico profundo para os restantes (Simpson *et al*., 2004; Fulcher *et al*., 2006).

Em todas as cirurgias foi realizada a troca de todo o material cirúrgico, incluindo instrumentos cirúrgicos, panos de campo e luvas, entre a remoção do mastocitoma e a realização da sutura. Este procedimento é aconselhado pela literatura entre a remoção de diferentes nódulos e entre a excisão do mastocitoma e a realização de reconstruções com recurso a flaps ou enxertos cutâneos (Boston & Henderson, 2014).

Nos casos em que se verificaram metástases nos linfonodos na citologia foi realizada linfadenectomia. Segundo a literatura, mastocitomas com metastização nos linfonodos estão associados a um pior prognóstico, no entanto, podem obter prognósticos mais favoráveis quando é realizado um correto controlo local através de cirurgia com margens adequadas, associado a linfadenectomia e tratamento adjuvante (Dobson *et al*., 2004; Hume *et al*., 2011; Baginski *et al*., 2014; Marconato *et al*., 2018; Mendez *et al*., 2020).

Nas consultas pós-cirúrgicas a cicatrização das suturas foi atentamente avaliada. Isto deve-se ao facto de, em alguns mastocitomas, se verificar maior sangramento após manipulação e atrasos na cicatrização (Hottendorf & Nielsen, 1965; O´Keefe *et al*, 1987).

No caso 1, após a cirurgia, foi observada linfadenomegalia do linfonodo regional contralateral, e foi realizada PAAF, no entanto a citologia foi não diagnóstica. Neste caso poderia ter sido repetida a citologia ou ter sido realizada biópsia, no entanto esta não foi repetida.

Após cada cirurgia, todas as peças foram enviadas para histopatologia. Este é um passo essencial em mastocitomas de forma a ter não só uma confirmação do diagnóstico citológico, mas também a avaliação das margens e, quando possível, uma classificação do grau histológico (Blackwood *et al*, 2012).

A avaliação das margens histológicas é muito importante pois a obtenção de margens completas é crucial para atingir a cura ou, pelo menos, evitar a recidiva. Caso não sejam obtidas margens completas poderá ser realizada revisão cirúrgica ou tratamento adjuvante com quimioterapia e/ou radioterapia (Vincenti & Findji, 2017; Kry *et al*., 2014). Nos casos 1, 2 e 3 foram obtidas margens histológicas completas. No caso 4 o relatório histopatológico

apenas refere as margens cirúrgicas (macroscópicas), não especificando a avaliação das margens histológicas.

Em todos os casos o resultado histopatológico confirmou o diagnóstico citológico. Nos casos 1 e 4 não foi realizada classificação histológica por não serem considerados mastocitomas cutâneos, sendo um mucocutâneo e o outro escrotal. Isto deve-se ao facto de, apesar de ainda existir pouca literatura, mastocitomas nas mucosas e no escroto estarem descritos como tendo um comportamento biológico diferente dos mastocitomas cutâneos, especificamente com maiores taxas de recidiva e metastização (Sfiligoi *et al*, 2005; Elliott *et al*., 2016).

Nos casos 2 e 3 os mastocitomas foram classificados tanto na escala Patnaik como na escala Kiupel. A associação de ambas as escalas permite obter uma classificação mais precisa. Isto é especialmente útil em situações como as dos casos descritos, pois mastocitomas de Grau II Patnaik têm um prognóstico mais imprevisível, apresentando um comportamento relativamente benigno na maioria dos casos, mas tendo, por vezes um comportamento agressivo. Desta forma, o sistema Kiupel, tendo apenas dois graus, auxilia na previsão do comportamento biológico dos mastocitomas de Grau II Patnaik (Patnaik *et al*., 1984; Séguin *et al*., 2001; Kiupel *et al*, 2011).

No entanto, apesar de ambos terem sido classificados como Grau II Patnaik e baixo grau Kiupel, a abordagem pós-cirúrgica foi bastante diferente. Isto deveu-se principalmente à presença de metástases nos linfonodos no caso 2 e não no caso 3. Isto mostra que, apesar de o grau histológico ser de extrema relevância no prognóstico e no planeamento da abordagem, muitas vezes é necessário ter em conta outros fatores, como a metastização. Quando necessário, poderá também ser utilizada a avaliação de outros fatores como os marcadores de proliferação celular – índice mitótico, Ki67 e AgNORs - o padrão de coloração do recetor KIT, entre outros (Simoes *et al*., 1994; Scase *et al*., 2006; Webster *et al*., 2007; Kiupel *et al*., 2011).

No caso clínico 1 a histopatologia não confirmou o diagnóstico citológico de metastização. No entanto, à data da cirurgia já tinham sido realizadas duas sessões de quimioterapia neoadjuvante, o que poderá ter reduzido a carga tumoral nos linfonodos, levando a que os cortes histológicos realizados não tenham sido representativos. Além disto, segundo a literatura, a taxa de metastização nos linfonodos em mastocitomas no focinho e, especificamente, na mucosa oral é de 57% (Gieger *et al*, 2003) e 55% (Elliott *et al*, 2013), respetivamente. Tendo isto em conta e também a observação evidente de metástases na citologia, foi considerado que existia metastização nos linfonodos e realizada terapia adjuvante.

A observação de mastócitos pouco diferenciados e/ou em agregados é bastante indicativa de metastização, no entanto ainda não existem estudos suficientes que avaliem a especificidade dos critérios utilizados em citologia, em comparação com os critérios histológicos (Krick *et al*., 2009).

No caso clínico 4, a metastização nos linfonodos foi classificada histologicamente como HN3. Esta classificação, que utiliza classificações entre HN0 e HN3, baseia-se no número e distribuição dos mastócitos neoplásicos e na alteração da arquitetura do linfonodo. Classificações mais elevadas correspondem a metástases mais desenvolvidas e relacionam-se com um pior prognóstico. Metástases são classificadas como HN3, que corresponde a metastização evidente, quando se verificam alterações na arquitetura por focos, nódulos, lâminas ou massas de mastócitos neoplásicos (Weishaar *et al*., 2014).

No caso 3, após a remoção cirúrgica com margens completas e não se verificando fatores de mau prognóstico como metastização, esta paciente não tinha indicação para tratamento adjuvante. Por este motivo foi recomendada monitorização por parte do tutor e reavaliações trimestrais. Apesar de este caso não ter tido indicação para tratamento além da excisão cirúrgica, o tutor foi informado em relação à possibilidade de recidiva local e/ou aparecimento de novos nódulos. Foi também informado do facto de estar descrita uma predisposição em Boxers para o desenvolvimento de mastocitomas. O tutor foi aconselhado a manter uma monitorização atenta e levar a sua cadela a uma consulta caso verificasse novos nódulos. Segundo a literatura, os Boxers apesar de terem uma maior predisposição para o desenvolvimento de mastocitomas, têm menor probabilidade de desenvolver mastocitomas de alto grau histológico (Bostock, 1973; Mochizuki *et al*, 2017).

Os restantes casos tinham indicação para realizar tratamento adjuvante, devido à localização do mastocitoma e à presença de metastização nos linfonodos. Alguns fatores que justificam a indicação para tratamento adjuvante, no caso da quimioterapia e da radioterapia, são casos em que não é possível excisão cirúrgica ou a margem cirúrgica resultou em margens incompletas e não é possível realizar revisão cirúrgica. A quimioterapia é ainda utilizada mastocitomas de alto grau com o objetivo de evitar a metastização, ou com metástases já existentes, de forma a atrasar a progressão da doença (Ladue *et al*., 1997; Davies *et al*., 2004; Poirier *et al*., 2006; Thamm *et al*., 2006; Carlsten *et al*., 2012).

Em todos foi realizado o protocolo de vimblastina com prednisolona. Este é o protocolo de primeira escolha por ter a maior taxa de resposta. Na maioria da literatura o protocolo utilizado consiste em administração intravenosa de vimblastina na dose 2 mg/m² semanalmente durante quatro semanas e, posteriormente, quinzenalmente até perfazer os oito tratamentos, e prednisolona em administração oral, com dose inicial de 2 mg/kg/dia com posterior redução progressiva (Thamm *et al*., 1999; Thamm *et al*.,2006; Hayes *et al*., 2007).

No entanto, nos casos descritos, foi utilizada uma dose inicial de prednisolona de 1 mg/kg SID durante duas semanas, depois 0,5 mg/kg SID durante mais duas semanas, depois 0,5 mg/kg em dias alternados até ao final do protocolo e, posteriormente, realização da descontinuação. O objetivo de utilizar uma dose mais reduzida de prednisolona foi reduzir os efeitos secundários, como polidipsia, poliúria, letargia e atrofia muscular. A utilização desta dose está descrita na literatura em mastocitomas de grau III Patnaik removidos cirurgicamente e obteve probabilidades de sobrevivência a 1 e 2 anos de 71% e a 1 ano de 47% em casos em que se verificavam síndromes paraneoplásicas (Hayes *et al*., 2007).

Os efeitos secundários mais comuns da vimblastina são vómitos, diarreia, anorexia, letargia e neutropenia, mas muitas vezes, depois de observados, podem ser evitados nas administrações futuras, com ajustes nas doses (Thamm *et al*., 1999; Rassnick *et al*., 2008; Thamm *et al*., 2006). Antes do início do protocolo os tutores foram informados em relação a estes efeitos secundários e aconselhados a contactar o Hospital Veterinário de forma a reportar qualquer alteração observada nos seus animais. De forma a monitorizar a ocorrência de neutropenia foi realizado um hemograma completo antes de cada administração de vimblastina. Nos casos descritos os efeitos secundários observados foram diarreia no caso 1, ainda na fase de tratamento neoadjuvante e neutropenia ligeira no caso 2. No caso 1, tendo em conta que os efeitos secundários foram moderados e afetaram a qualidade de vida do animal e necessitaram de tratamento, foram realizadas reduções nas doses de prednisolona para 0,75mg/kg PO SID e de vimblastina em 10%, para 1,8mg/m² bolus IV. No caso 2, por se tratar de uma neutropenia ligeira e o estado geral do animal se ter mantido estável foi optado por manter a dose original.

No caso 4 o protocolo não foi realizado corretamente porque os tutores não cumpriram o intervalo entre administrações de vimblastina e descontinuaram, sem indicação médica para tal, a administração de prednisolona. Na segunda vez que o protocolo foi iniciado os tutores optaram por desistir do tratamento. Após a interrupção do tratamento, verificou-se uma possível evolução da doença, no espaço de 6 semanas, que culminou na eutanásia no animal. O resultado da citologia da PAAF realizada ao edema difuso na região inguinal não revelou mastócitos neoplásicos, no entanto isto não descarta a hipótese de se ter tratado de uma recidiva. A recidiva local após excisão está associada a pior prognóstico e, por este motivo, é importante um controlo local adequado e realização de tratamento adjuvante, quando existe indicação para tal, logo na primeira apresentação, de forma a obter um prognóstico mais favorável (Mullins *et al*., 2006; Horta *et al*., 2018a; Horta *et al*., 2018b).

Em todos os casos os tutores foram sensibilizados para a necessidade de estarem atentos ao aparecimento de novos nódulos e, nesse caso, levar o seu animal a uma consulta de forma a realizar exames complementares, bem como realizar reavaliações periódicas.

Conclusão

O mastocitoma é uma das neoplasias caninas mais comuns em cães e representou 21% dos casos acompanhados em Oncologia Clínica durante a primeira parte do estágio curricular.

Durante o estágio foi possível observar algumas das raças, apresentações, localizações e comportamentos biológicos descritos na literatura.

Em todos os casos foram realizados todos os procedimentos essenciais para a realização do diagnóstico, estadiamento e tratamento, exceto no caso 4, em que a quimioterapia foi descontinuada. Coincidentemente, este foi o único caso que resultou em progressão da doença e culminou na eutanásia do animal.

Durante todo o processo dos casos acompanhados os tutores foram informados em relação ao que é o mastocitoma, quais os procedimentos a realizar e o prognóstico do seu animal. Todos os tratamentos foram realizados visando não só o aumento do tempo de vida, mas também a manutenção da qualidade de vida, que é uma prioridade em Oncologia Veterinária.

É essencial que qualquer Médico Veterinário esteja informado sobre como proceder na presença de um nódulo e, quando o caso requer conhecimento especializado, referenciar para uma consulta de oncologia.

Em conclusão, o estágio curricular permitiu desenvolver não só conhecimentos, mas também capacidades práticas e a realização desta dissertação permitiu enriquecer o conhecimento teórico sobre o mastocitoma e comparar a literatura com a realidade dos quatro casos apresentados.

Bibliografia

Abadie, J. J., Amardeilh, M. A., & Delverdier, M. E. (1999). Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(11), 1629–1634 PMID: 14567425.

Al-sarraf, R., Mauldin, G. N., Patnaik, A. K., & Meleo, K. a. (1996). A prospective study of RT for the treatment of grade 2 MCTs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *10*(6), 376–378.

Arendt, M. L., Melin, M., Tonomura, N., Koltookian, M., Courtay-Cahen, C., Flindall, N., Bass, J., Boerkamp, K., Megquir, K., Youell, L., Murphy, S., McCarthy, C., London, C., Rutteman, G. R., Starkey, M., & Lindblad-Toh, K. (2015). Genome-Wide Association Study of Golden Retrievers Identifies Germ-Line Risk Factors Predisposing to Mast Cell Tumours. *PLoS Genetics*, *11*(11), 1–21. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005647

Aubry, O. A., Spangler, E. A., Schleis, S. E., & Smith, A. N. (2014). Evaluation of bone marrow aspirates from multiple sites for staging of canine lymphoma and mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 12(1), 58–66. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00331.x

Baginski, H., Davis, G., & Bastian, R. P. (2014). The prognostic value of lymph node metastasis with grade 2 MCTs in dogs: 55 cases (2001-2010). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 50(2), 89–95. https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5997

Bailey, D. B., Rassnick, K. M., Kristal, O., Chretin, J. D., & Balkman, C. E. (2008). Phase I dose escalation of single-agent vinblastine in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 22(6), 1397–1402. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0196.x

Baker-Gabb, M., Hunt, G. B., & France, M. P. (2003). Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs; clinical behaviour and response to surgery. *Australian Veterinary Journal*, *81*(12), 732–738. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb14601.x

Bavcar, S., de Vos, J., Kessler, M., de Fornel, P., Buracco, P., Murphy, S., Hirschberger, J., & Argyle, D. J. (2017). Combination toceranib and lomustine shows frequent high grade toxicities when used for treatment of non-resectable or recurrent mast cell tumours in dogs: A European multicentre study. *Veterinary Journal*, *224*, 1–6.

Beaven, M. A. (2009). Our perception of the mast cell from Paul Ehrlich to now. *European Journal of Immunology*, *39*(1), 11–25. https://doi.org/10.1002/eji.200838899

Berlato, D., Murphy, S., Monti, P., Stewart, J., Newton, J. R., Flindall, A., & Maglennon, G. A. (2013). Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology.* 13(2):143-150. DOI: 10.1111/vco.12029. PMID: 23489679.

Bersenas, A. M., Mathews, K. A., Allen, D. G., & Conlon, P. D. (2005). Effects of ranitidine, famotidine, pantoprazole, and omeprazole on intragastric pH in dogs. *American journal of veterinary research*, 66(3), 425–431. https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.425

Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J. P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K., & Argyle, D. J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, *10*(3), 1–29. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x

Book, A. P., Fidel, J., Wills, T., Bryan, J., Sellon, R., & Mattoon, J. (2011). Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, *52*(5), 548–554. https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2011.01839.x

Bostock, D. E. (1973). The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, *14*(1), 27–40. https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1973.tb06891.x

Burton, J. H., Venable, R. O., Vail, D. M., Williams, L. E., Clifford, C. A., Axiak-Bechtel, S. M., Avery, A. C., & Thamm, D. H. (2015). Pulse-administered toceranib phosphate plus lomustine for treatment of unresectable mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *29*(4), 1098–1104. https://doi.org/10.1111/jvim.13573

Cahalane, A. K., Payne, S., Barber, L. G., Duda, L. E., Henry, C. J., Mauldin, G. E., Frimberger, A. E., Cotter, S. M., & Moore, A. S. (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association 225*(3) 401-408.

Camus, M. S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskell, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R., & Krimer, P. M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary Pathology*, *53*(6), 1117–1123.

Carlsten, K. S., London, C. A., Haney, S., Burnett, R., Avery, A. C., & Thamm, D. H. (2012). Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *Journal of veterinary internal medicin*e, 26(1), 135–141. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00851.x

Castells, M. (2006). Mast Cell Mediators in Allergic Inflammation and Mastocytosis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, *26*(3), 465–485.

Chaffin, K., & Thrall, D. E. (2002). Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, *43*(4), 392–395. https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2002.tb01023.x

Cooper, M., Tsai, X., & Bennett, P. (2009). Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Veterinary and comparative oncology*, 7(3), 196–206. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00190.x

Costa Casagrande, T. A., de Oliveira Barros, L. M., Fukumasu, H., Cogliati, B., Chaible, L. M., Dagli, M. L. Z., & Matera, J. M. (2015). The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *13*(1), 1–10. https://doi.org/10.1111/vco.12010

Davies, D. R., Wyatt, K. M., Jardine, J. E., Robertson, I. D., & Irwin, P. J. (2004). Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(2), 124–130.

Dobson, J., Cohen, S., & Gould, S. (2004). Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, *2*(3), 132–141. https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2004.00048.x

Donnelly, L., Mullin, C., Balko, J., Goldschmidt, M., Krick, E., Hume, C., Brown, D. C., & Sorenmo, K. (2015). Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *13*(1), 70–76. https://doi.org/10.1111/vco.12021

Downing, S., Chien, M. B., Kass, P. H., Peter, F., & London, C. A. (2010). Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of *c-kit* in mast cell tumors of dogs. *American journal of veterinary research*, *63*(12), 1718–1723.

Dubreuil, P., Letard, S., Ciufolini, M., Gros, L., Humbert, M., Castéran, N., Borge, L., Hajem, B., Lermet, A., Sippl, W., Voisset, E., Arock, M., Auclair, C., Leventhal, P. S., Mansfield, C. D., Moussy, A., & Hermine, O. (2009). Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PloS one*, 4(9), e7258.

Duncan, J. R., & Prasse, K. W. (1979). Cytology of Canine Cutaneous Round Cell Tumors. *Veterinary Pathology*, *16*(6), 673–679. https://doi.org/10.1177/030098587901600605

Elliott, J. W., Cripps, P., Blackwood, L., Berlato, D., Murphy, S., & Grant, I. A. (2016). Canine oral mucosal mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *14*(1), 101–111. https://doi.org/10.1111/vco.12071

Endicott, M. M., Charney, S. C., McKnight, J. A., Loar, A. S., Barger, A. M., & Bergman, P. J. (2007). Clinicopathological findings and results of bone marrow aspiration in dogs with cutaneous mast cell tumours: 157 cases (1999-2002). *Veterinary and Comparative Oncology*, *5*(1), 31–37.

Fan, M., de Lorimier, P. (2005). Treatment options for canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Medicine 100* (4), pp272-285.

Fife, M., Blocker, T., Fife, T., Dubielzig, R. R., & Dunn, K. (2011). Canine conjunctival mast cell tumors: A retrospective study. *Veterinary Ophthalmology*, *14*(3), 153–160 https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2010.00857.x.

Fox, L. E., Rosenthal, R. C., Twedt, D. C., Dubielzig, R. R., MacEwen, E. G., & Grauer, G. F. (1990). Plasma Histamine and Gastrin Concentrations in 17 Dogs With Mast Cell Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *4*(5), 242–246. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1990.tb03116.x

Fulcher, R. P., Ludwig, L. L., Bergman, P. J., Newman, S. J., Simpson, A. M., & Patnaik, A. K. (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(2), 210–215. https://doi.org/10.2460/javma.228.2.210

Garrett, L. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 49. https://doi.org/10.2147/vmrr.s41005

Gieger, T. L., Théon, A. P., Werner, J. A., Mcentee, M. C., Rassnick, K. M., & Decock, H. E. V. (2003). Biologic Behavior and Prognostic Factors for Mast Cell Tumors of the Canine Muzzle: 24 Cases (1990-2001). In *Journal of veterinary internal medicine*, *17*(5), 687–692. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02501.x

Ginn, P. E., Fox, L. E., Brower, J. C., Gaskin, A., Kurzman, I. D., & Kubilis, P. S. (2000). Immunohistochemical Detection of p53 Tumor-Suppressor Protein is a Poor Indicator of Prognosis for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology*, *37*(1), 33–39. https://doi.org/10.1354/vp.37-1-33

Govier, S. M. (2003). Principles of treatment for mast cell tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, *18*(2), 103–106. https://doi.org/10.1053/svms.2003.36624

Griffiths, G. L., Lumsden, J. H., & Valli, V. E. O. (1984). Fine Needle Aspiration Cytology and Histologic Correlation in Canine Tumors. *Veterinary Clinical Pathology*, *13*(1), 13–17. https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1984.tb00628.x

Hahn, K. A., King, G. K., & Carreras, J. K. (2004). Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(1), 79–82.

Hahn, K. A., Legendre, A. M., Shaw, N. G., Phillips, B., Ogilvie, G. K., Prescott, D. M., Atwater, S. W., Carreras, J. K., Lana, S. E., Ladue, T., Rusk, A., Jean, D. ;, Kinet, P., Dubreuil, P., Moussy, A., Hermine, O., Jankowski, M., Correa, S., Elmslie, R., … Muller, C. (2010). Evaluation of 12-and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors AbbreviAtions CI Confidence interval IC 50 Median inhibitory concentration MCT Mast cell tumor TKI Tyrosine kinase inhibitor TTP Time t. *1354 American Journal of Veterinary Research*, *71*(11).

Hahn, K., G., O., Rusk, T., Devauchelle, P., Leblanc, A., Legendre, A., Powers, B., Leventhal, P., Kinet, J., Palmerini, F., Dubreuil, P., Moussy, A., & Hermine, O. (2008). Masitinib is Safe and Effective for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors K.A. *Veterinary and Comparative Oncology*, *15*(3), 79–82. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2006.00115.x

Hay, J. K., & Larson, V. S. (2019). Lomustine (CCNU) and prednisone chemotherapy for high-grade completely excised canine mast cell tumors. *Canadian Veterinary Journal*, *60*(12), 1326–1330.

Hayes, A., Adams, V., Smith, K., Maglennon, G., & Murphy, S. (2007). Vinblastine and prednisolone chemotherapy for surgically excised grade III canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 5(3), 168–176.

Henz, B. M. (2008). Exploring the mast cell enigma: A personal reflection of what remains to be done. *Experimental Dermatology*, *17*(2), 91–99. https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2007.00658.x

Hergt, F., von Bomhard, W., Kent, M. S., & Hirschberger, J. (2016). Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Veterinary Clinical Pathology*, *45*(3), 477–483. https://doi.org/10.1111/vcp.12387

Hill, P. B., & Martin, R. J. (1998). A review of mast cell biology. *Veterinary Dermatology*, *9*(3), 145–166. https://doi.org/10.1046/j.1365-3164.1998.00119_098.x

Hillman, L. A., Garrett, L. D., De Lorimier, L. P., Charney, S. C., Borst, L. B., & Fan, T. M. (2010). Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 8(237), 936 - 942.

Horta, R. dos S., Giuliano, A., Lavalle, G. E., Costa, M. de P., de Araújo, R. B., Constantino-Casas, F., & Dobson, J. M. (2018). Clinical, histological, immunohistochemical and genetic factors associated with measurable response of high-risk canine mast cell tumours to tyrosine kinase inhibitors. *Oncology Letters*, *15*(1), 129–136.

Horta, R. S., Lavalle, G. E., Monteiro, L. N., Souza, M. C. C., Cassali, G. D., & Araújo, R. B. (2018). Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Veterinary Pathology*, *55*(2), 212–223. https://doi.org/10.1177/0300985817747325

Hottendorf, G. H., & Nielsen, S. W. (1967). Pathologic Survey of 300 Extirpated Canine Mastocytomas. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A*, *14*(3), 272–281. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1967.tb00235.x

Howard, E. B., Sawa, T. R., Nielsen, S. W., & Kenyon, A. J. (1969). Mastocytoma and Gastroduodenal Ulceration: Gastric and Duodenal Ulcers in Dogs with Mastocytoma. *Pathologia Veterinaria*, 6(2), 146–158.

Hume, C. T., Kiupel, M., Rigatti, L., Shofer, F. S., Skorupski, K. A., & Sorenmo, K. U. (2011). Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). *Journal of the American Animal Hospital Association*, *47*(1), 37–44.

Ishiguro, T., Kadosawa, T., Takagi, S., Kim, G., Ohsaki, T., Bosnakovski, D., Okumura, M., & Fujinaga, T. (2003). Relationship of Disease Progression and Plasma Histamine Concentrations in 11 Dogs with Mast Cell Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *17*(2), 194–198.

Jackson, D. E., Selting, K. A., Spoor, M. S., Henry, C. J., & Wiedmeyer, C. E. (2013). Evaluation of fixation time using Diff-Quik for staining of canine mast cell tumor aspirates. *Veterinary Clinical Pathology*, *42*(1), 99–102.

Junqueira, C., Carneiro, J. (2008) Tecido conjuntivo *In*: L. Junqueira & J. Carneiro (Eds), Histologia Básica. (10ºEd., pp99-100). Rio de Janeiro: Guanara Koogan S.A.

Keller, A., Wingelhofer, B., Peter, B., Bauer, K., Berger, D., Gamperl, S., Reifinger, M., Cerny-Reiterer, S., Moriggl, R., Willmann, M., Valent, P., & Hadzijusufovic, E. (2018). The JAK2/STAT5 signaling pathway as a potential therapeutic target in canine mastocytoma. *Veterinary and comparative oncology*, 16(1), 55–68.

Khoo, A., Lane, A., & Wyatt, K. (2017). Intranasal mast cell tumor in the dog: A case series. *The Canadian veterinary journal*, 58(8), 851–854.

Kiupel, M., Webster, J. D., Kaneene, J. B., Miller, R., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, *41*(4), 371–377. https://doi.org/10.1354/vp.41-4-371

Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S. D., Gamble, D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M. H., Hendrick, M. J., Howerth, E. W., Janovitz, E. B., Langohr, I., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., … Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary Pathology*, *48*(1), 147–155. https://doi.org/10.1177/0300985810386469

Kiupel, M. (2017). Mast Cell Tumors *In:* D. Meuten (Ed). *Tumors in Domestic Animals* (5º Ed., pp 176-202). Oxford: John Wiley & Sons, Inc.

Kiupel, Matti, & Camus, M. (2019). Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, *49*(5), 819–836. https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.002

Krick, E. L., Billings, A. P., Shofer, F. S., Watanabe, S., & Sorenmo, K. U. (2009). Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: Association with grade and survival. *Veterinary and Comparative Oncology*, *7*(2), 130–138.

Kry, K. L., & Boston, S. E. (2014). Additional local therapy with primary re-excision or radiation therapy improves survival and local control after incomplete or close surgical excision of mast cell tumors in dogs. *Veterinary surgery : VS*, 43(2), 182–189.

Kube, P., Audigé, L., Küther, K., & Welle, M. (1998). Distribution, density and heterogeneity of canine mast cells and influence of fixation techniques. *Histochemistry and Cell Biology*, *110*(2), 129–135. https://doi.org/10.1007/s004180050274

Kumar, V., & Sharma, A. (2010). Mast cells: Emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Molecular Immunology*, *48*(1–3), 14–25.

Ladue, T., Price, G., Dodge, R., Page, R., & Thrall, D. E. (1997). Radiation therapy for canine mast cell tumors. *Canadian Veterinary Journal*, *47*(3), 263–265.

Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S., Moussy, A., Kinet, J. P., Hermine, O., & Dubreuil, P. (2008). Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Molecular Cancer Research*, *6*(7), 1137–1145. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-08-0067

Lin, T. Y., & London, C. A. (2006). A functional comparison of canine and murine bone marrow derived cultured mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *114*(3–4), 320–334. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.09.001

London, C. A., Galli, S. J., Yuuki, T., Hu, Z. Q., Helfand, S. C., & Geissler, E. N. (1999). Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene *c-kit*. *Experimental Hematology*, *27*(4), 689–697.

London, C. A., Hannah, A. L., Zadovoskaya, R., Chien, M. B., Kollias-Baker, C., Rosenberg, M., Downing, S., Post, G., Boucher, J., Shenoy, N., Mendel, D. B., McMahon, G., & Cherrington, J. M. (2003). Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clinical Cancer Research*, *9*(7), 2755–2768.

London, C. A., Malpas, P. B., Wood-Follis, S. L., Boucher, J. F., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., Henry, C. J., Mitchener, K. L., Klein, M. K., Hintermeister, J. G., Bergman, P. J., Couto, G. C., Mauldin, G. N., & Michels, G. M. (2009). Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clinical Cancer Research*, *15*(11), 3856–3865. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1860

London, C. A., Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, *33*(3), 473–489.

London, C. A., Bear, M. D., McCleese, J., Foley, K. P., Paalangara, R., Inoue, T., Ying, W., & Barsoum, J. (2011). Phase I evaluation of STA-1474, a prodrug of the novel HSP90

inhibitor ganetespib, in dogs with spontaneous cancer. *PloS one*, 6(11), e27018. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027018

London C., Thamm, H. (2019). Mast Cell Tumors *In:* D. Vail, D. Thamm, J. Liptak (Eds.), *Withrow and MacEwen´s Small Animal Clinical Oncology* (6º Ed., pp 382-393). Missouri: Elsevier.

Maglennon, G. A., Murphy, S., Adams, V., Miller, J., Smith, K., Blunden, A., & Scase, T. J. (2008). Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 6(4), 268–274. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2008.00168.x

Marconato, L., Bettini, G., Giacoboni, C., Romanelli, G., Cesari, A., Zatelli, A., & Zini, E. (2008). Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. *Journal of veterinary internal medicine*, 22(4), 1001–1007. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0128.x

Marconato, Laura, Polton, G., Stefanello, D., Morello, E., Ferrari, R., Henriques, J., Tortorella, G., Benali, S. L., Bergottini, R., Vasconi, M. E., Annoni, M., & Sabattini, S. (2018). Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *16*(4), 580–589.

Masserdotti, C. (2013). Proportion of mast cells in normal canine hepatic cytologic specimens: Comparison of 2 staining methods. *Veterinary Clinical Pathology*, *42*(4), 522–525. https://doi.org/10.1111/vcp.12086

McCaw, D. L., Miller, M. A., Ogilvie, G. K., Withrow, S. J., Brewer, W. G., Jr, Klein, M. K., Bell, F. W., & Anderson, S. K. (1994). Response of canine mast cell tumors to treatment with oral prednisone. *Journal of veterinary internal medicine*, 8(6), 406–408. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03259.x

McNiel, E. A., Prink, A. L., & O'Brien, T. D. (2006). Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Veterinary and comparative oncology*, 4(1), 2–8. https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2006.00085.x

McNiel, E. A., Prink, A. L., & O'Brien, T. D. (2006). Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, *4*(1), 2–8. https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2006.00085.x

Mendez, S. E., Drobatz, K. J., Duda, L. E., White, P., Kubicek, L., & Sorenmo, K. U. (2020). Treating the locoregional lymph nodes with radiation and/or surgery significantly improves outcome in dogs with high-grade mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *18*(2), 239–246. https://doi.org/10.1111/vco.12541

Miller, D. M. (1995). The occurrence of mast cell tumors in young Shar-Peis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *7*(3), 360–363.

Miller, J., Campbell, J., Blum, A., Reddell, P., Gordon, V., Schmidt, P., & Lowden, S. (2019). Dose Characterization of the Investigational Anticancer Drug Tigilanol Tiglate (EBC-46) in the Local Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *Frontiers in veterinary science*, 6, 106. https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00106

Mochizuki, H., Motsinger-Reif, A., Bettini, C., Moroff, S., & Breen, M. (2017). Association of breed and histopathological grade in canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *15*(3), 829–839. https://doi.org/10.1111/vco.12225

Mullins, M. N., Dernell, W. S., Withrow, S. J., Ehrhart, E. J., Thamm, D. H., & Lana, S. E. (2006). Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 Cases (1998-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *228*(1), 91–95. https://doi.org/10.2460/javma.228.1.91

Murphy, S., Sparkes, A. H., Smith, K. C., Blunden, A. S., & Brearley, M. J. (2004). Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *Veterinary Record*, *154*(24), 743–746. https://doi.org/10.1136/vr.154.24.743

Mutz, M. L., Boudreaux, B. B., Royal, A., Merchant, S., Pucheu-Haston, C., Griffith, E. H., & Gieger, T. L. (2017). Cytologic comparison of the percentage of mast cells in lymph node aspirate samples from clinically normal dogs versus dogs with allergic dermatologic disease and dogs with cutaneous mast cell tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *251*(4), 421–428. https://doi.org/10.2460/javma.251.4.421

Newman, S. J., Mrkonjich, L., Walker, K. K., & Rohrbach, B. W. (2007). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumour: Diagnosis and Prognosis. *Journal of Comparative Pathology*, *136*(4), 231–239. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.02.003

Northrup, N. C., Howerth, E. W., Harmon, B. G., Brown, C. A., Carmicheal, K. P., Garcia, A. P., Latimer, K. S., Munday, J. S., Rakich, P. M., Richey, L. J., Stedman, N. L., & Gieger, T. L. (2005). Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *17*(6), 561–564.

O'Connell, K., & Thomson, M. (2011). Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, *11*(1), 51–62. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00301.x

O'Keefe, D. A. (1990). Canine mast cell tumors. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, *20*(4), 1105–1115. https://doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50087-X

Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2002). Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. Veterinary pathology, 39(5), 557–564. https://doi.org/10.1354/vp.39-5-557

Pan, X., Tsimbas, K., Kurzman, I. D., & Vail, D. M. (2016). Safety evaluation of combination CCNU and continuous toceranib phosphate (Palladia®) in tumour-bearing dogs: A phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, *14*(2), 202–209. https://doi.org/10.1111/vco.12091

Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary Pathology*, *21*(5), 469–474. https://doi.org/10.1177/030098588402100503

Peter, B., Gleixner, K. V., Cerny-Reiterer, S., Herrmann, H., Winter, V., Hadzijusufovic, E., Ferenc, V., Schuch, K., Mirkina, I., Horny, H. P., Pickl, W. F., Müllauer, L., Willmann, M., & Valent, P. (2011). Polo-like kinase-1 as a novel target in neoplastic mast cells: demonstration of growth-inhibitory effects of small interfering RNA and the Polo-like kinase-1 targeting drug BI 2536. *Haematologica*, 96(5), 672–680. https://doi.org/10.3324/haematol.2010.031328

Pinello, C., Nagamine, M., Silva, C, Matsuzaki, P., Caetano, V., Torres, N., Fukumasu, H., Avanzo, L., Matera, M., Dagli, L. (2009). In vitro chemosensitivity of canine mast cell tumors grades II and III to all-trans-retinoic acid (ATRA), *Veterinary Research Community* 33, pp581–588.

Poirier, V. J., Adams, W. M., Forest, L. J., Green, E. M., Dubielzig, R. R., & Vail, D. M. (2006). Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *42*(6), 430–434.

Pratschke, K. M., Atherton, M. J., Sillito, J. A., & Lamm, C. G. (2013). Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008-2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *243*(10), 1436–1441. https://doi.org/10.2460/javma.243.10.1436

Pryer, N. K., Lee, L. B., Zadovaskaya, R., Yu, X., Sukbuntherng, J., Cherrington, J. M., & London, C. A. (2003). Proof of Target for SU11654: Inhibition of KIT Phosphorylation in Canine Mast Cell Tumors. *Clinical Cancer Research*, *9*(15), 5729–5734.

Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Flory, A. B., Balkman, C. E., Kiselow, M. A., Intile, J. L., & Autio, K. (2008). Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumors. *Journal of veterinary internal medicine*, 22(6), 1390–1396. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0195.x

Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Russell, D. S., Flory, A. B., Kiselow, M. A., Intile, J. L., Malone, E. K., Balkman, C. E., & Barnard, S. M. (2010). A phase II study to evaluate the toxicity

and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *8*(2), 138–152. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00217.x

Rassnick, K. M., Moore, A. S., Williams, L. E., London, C. A., Kintzer, P. P., Engler, S. J., & Cotter, S. M. (1999). Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (lomustine). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, *13*(6), 601–605. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1999.tb02217.x

Reif, J. S., Brodey, R. S., & Keiser, H. (1974). Epidemiological Analysis of the Most Prevalent Sites and Types of Canine Neoplasia Observed in a Veterinary Hospital. *Cancer Research*, *34*(11), 2859–2868.

Robat, C., London, C., Bunting, L., Mccartan, L., Stingle, N., Selting, K., Kurzman, I., & Vail, D. M. (2012). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia®) in dogs: A phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, *10*(3), 174–183. https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00261.x

Romansik, E. M., Reilly, C. M., Kass, P. H., Moore, P. F., & London, C. A. (2007). Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, *44*(3), 335–341. https://doi.org/10.1354/vp.44-3-335

Rothwell, T. L., Howlett, C. R., Middleton, D. J., Griffiths, D. A., & Duff, B. C. (1987). Skin neoplasms of dogs in Sydney. *Australian Veterinary Journal*, *64*(6), 161–164. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1987.tb09673.x

Sailasuta, A., Ketpun, D., Piyaviriyakul, P., Theerawatanasirikul, S., Theewasutrakul, P., & Rungsipipat, A. (2014). The relevance of CD117-immunocytochemistry staining patterns to mutational exon-11 in *c-kit* detected by PCR from fine-needle aspirated canine mast cell tumor cells. *Veterinary Medicine International*, *2014(5):787498 doi:10.1155/2014/787498*

Sato, A. F., & Solano, M. (2004). Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. Veterinary radiology & ultrasound. *Journal of the American College of Veterinary Radiology*, 45(1), 51–57. https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2004.04008.x

Scarpa, F., Sabattini, S., & Bettini, G. (2016). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *14*(3), 245–251.

Scase, T. J., Edwards, D., Miller, J., Henley, W., Smith, K., Blunden, A., & Murphy, S. (2006). Canine mast cell tumors: Correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *20*(1), 151–158.

Schultheiss, P. C., Gardiner, D. W., Rao, S., Olea-Popelka, F., & Tuohy, J. L. (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical

outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1464–1469.

Séguin, B., Leibman, N. F., Bregazzi, V. S., Ogilvie, G. K., Powers, B. E., Dernell, W. S., Fettman, M. J., & Withrow, S. J. (2001). Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 Cases (1996-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *218*(7), 1120–1123.

Sfiligoi, G., Rassnick, K. M., Scarlett, J. M., Northrup, N. C., & Gieger, T. L. (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1368–1374. https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.1368

Simoes, J. P. C., Schoning, P., & Butine, M. (1994). Prognosis of Canine Mast Cell Tumors: A Comparison of Three Methods. *Veterinary Pathology*, *31*(6), 637–647.

Simpson, A. M., Ludwig, L. L., Newman, S. J., Bergman, P. J., Hottinger, H. A., & Patnaik, A. K. (2004). Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(2), 236–240. https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.236

Sledge, D. G., Webster, J., & Kiupel, M. (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Veterinary Journal*, *215*, 43–54. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.06.003

Śmiech, A., Ślaska, B., Łopuszyński, W., Jasik, A., Szczepanik, M., & Wilkołek, P. (2017). Epidemiological study of canine mast cell tumours according to the histological malignancy grade. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *20*(3), 455–465. https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0055

Spugnini, P., Vincenzi, B., Citro, G., Dotsinsky, I., Mudrov, T., Baldi, A. (2011) Evaluation of Cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, pp407–411.

Stanclift, R. M., & Gilson, S. D. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *232*(1), 53–62.

Stefanello, D., Valenti, P., Faverzani, S., Bronzo, V., Fiorbianco, V., Pinto da Cunha, N., Romussi, S., Cantatore, M., & Caniatti, M. (2009). Ultrasound-guided cytology of spleen and liver: a prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. *Journal of veterinary internal medicine*, *23*(5), 1051–1057. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0354.x

Stockham, S. L., Basel, D. L., & Schmidt, D. A. (1986). Mastocytemia in dogs with acute inflammatory diseases. *Veterinary clinical pathology*, *15*(1), 16–21.

Strefezzi, R. D. F., Xavier, J. G., & Catão-Dias, J. L. (2003). Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, *40*(3), 268–275. https://doi.org/10.1354/vp.40-3-268

Strefezzi, R. de F., Xavier, J. G., Kleeb, S. R., & Catão-Dias, J. L. (2009). Nuclear morphometry in cytopathology: A prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *21*(6), 821–825. h

Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Matsunaga, S., Mochizuki, M., Nishimura, R., & Sasaki, N. (2000). Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(2), 222–226. h

Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Mochizuki, M., Matsunaga, S., Nishimura, R., & Sasaki, N. (1997). Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumor. *The Journal of veterinary medical scienc*e, 59(11), 995–1001.

Taylor, F., Gear, R., Hoather, T., & Dobson, J. (2009). Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours : 21 cases. *Journal of Small Animal Practice* 50(6):284-9

Thamm, D. H., Mauldin, E. A., & Vail, D. M. (1999). Prednisone and Vinblastine Chemotherapy for Canine Mast Cell Tumor—41 Cases (1992–1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *53*(1), 491–497. http://dx.doi.org/10.1016/j.encep.2012.03.001

Thamm, D. H., Turek, M. M., & Vail, D. M. (2006). Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 Cases. *Journal of Veterinary Medical Science*, *68*(6), 581–587.

Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L., & Foster, R. A. (2011). Canine subcutaneous mast cell tumor: Characterization and prognostic indices. *Veterinary Pathology*, *48*(1), 156–168. https://doi.org/10.1177/0300985810387446

Tizard, I. (2018). Hipersensibilidade Mediada por Mastócitos e Eosinófilos *In:* I. Tizard (Ed.), *Imunologia Veterinária* (9ºEd, pp 124-134). Rio de Janeiro: Elsevier

Vascellari, M., Giantin, M., Capello, K., Carminato, A., Morello, E. M., Vercelli, A., Granato, A., Buracco, P., Dacasto, M., & Mutinelli, F. (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. *Veterinary pathology*, 50(1), 110–121. https://doi.org/10.1177/0300985812447829

Vincenti, S., & Findji, F. (2017). Influence of treatment on the outcome of dogs with incompletely excised grade-2 mast cell tumors. Einfluss der Behandlung auf das Ergebnis von Hunden mit unvollständing entfernten Grad-2 Mastzelltumoren. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 159(3), 171–177. https://doi.org/10.17236/sat00109

Vozdova, M., Kubickova, S., Fictum, P., Cernohorska, H., Fröhlich, J., & Rubes, J. (2020)b. Mutation and methylation status of KIT and TP53 in canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *18*(3), 438–444.

Vozdova, M., Kubickova, S., Pal, K., Fröhlich, J., Fictum, P., & Rubes, J. (2020)b. Recurrent gene mutations detected in canine mast cell tumours by next generation sequencing. *Veterinary and Comparative Oncology*, *18*(4), 509–518.

Warland, J., Amores-Fuster, I., Newbury, W., Brearley, M., & Dobson, J. (2014). The utility of staging in canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *12*(4), 287–298. https://doi.org/10.1111/vco.12012

Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Miller, R. A., Kaneene, J. B., & Kiupel, M. (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: Associations with *c-kit* and its role in prognostication. *Veterinary Pathology*, *44*(3), 298–308.

Webster, Joshua D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Kaneene, J. B., Miller, R. A., Resau, J. H., & Kiupel, M. (2006). The role of *c-kit* in tumorigenesis: Evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia*, *8*(2), 104–111. https://doi.org/10.1593/neo.05622

Webster, Joshua D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Thamm, D. H., Hamilton, E., & Kiupel, M. (2008). Evaluation of prognostic markers for Canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Veterinary Research*, *4*, 1–8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-32

Weishaar, K. M., Thamm, D. H., Worley, D. R., & Kamstock, D. A. (2014). Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *Journal of Comparative Pathology*, *151*(4), 329–338. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.07.004

Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J., & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: A review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, *19*(6), 321–339. https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x

Wu, H., Hayashi, T., & Inoue, M. (2004). Immunohistochemical Expression of p27 and p21 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors and Histiocytomas. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, *53*(2), 65–68.

Zemke, D., Yamini, B., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2002). Mutations in the Juxtamembrane Domain of *c-kit* Are Associated with Higher Grade Mast Cell Tumors in Dogs. *Veterinary Pathology*, *39*(5), 529–535. https://doi.org/10.1354/vp.39-5-529

Anexos

Anexo A – Exames complementares de diagnóstico do caso clínico 1

Tabela A1 - Resultados do hemograma realizado no estadiamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	8,71	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	5,52	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,53	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,72	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,94	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	43,2	%	36,0 - 56,0
RBC	6,02	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	4,1	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,7	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,4	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,6	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	12,7	%	11,5 - 15,9
PLT	329	10^9/L	200 – 460
PCT	0,299	%	0,09 - 0,5
MPV	9,1	fl	7,3 - 11,2

Tabela A2 - Relatório citológico: PAAFs de linfonodos submandiblares, fígado e baço.

Amostra	Descrição	Conclusão
A - 5 lâminas de citologia hepática B - 5 lâminas de citologia esplénica	As lâminas apresentam escassa celularidade, com fundo hemático e raras células lisadas. Observam-se raros hepatócitos sem evidentes alterações morfológicas em A e raros precursores eritroides e mieloides em B. Sem evidentes células neoplásicas.	Imagem citológica sem alterações de relevo. Negativo para metástase de mastocitoma.
C - 2 lâminas de citologia de linfonodo submandibular direito	As lâminas têm elevada celularidade constituída por uma população celular mista. Estão presentes frequentes células linfóides maturas e raros macrófagos. Observam-se ocasionais mastócitos, isolados, com escassa quantidade de grânulos citoplasmáticos e evidente anisocitose e anisocariose, assim como rara macrocitose. Raras células binucleadas.	A imagem microscópica é compatível com metástase linfonodal de mastocitoma, citologicamente pouco diferenciado.
D - 2 lâminas de citologia de linfonodo submandibular esquerdo	Ambas as lâminas apresentam escassa celularidade sobre fundo hemático. Observam-se ocasionais linfócitos maduros assim como raros linfócitos médios e grandes. Raríssimos mastócitos com forte granulação magenta citoplasmática.	A imagem é mais reduzida, mas sem evidentes sinais de metastização de mastocitoma.

Tabela A3 - Ecografia abdominal de estadiamento.

Fígado	De tamanho aparentemente normal sem alterações na lobulação, parênquima de ecogenicidade normal comparativamente ao baço, sem alterações focais ou difusas. Sem sinais de congestão ou presença de vasos suspeitos. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Distendida, parede com espessura média de 2 mm, sem alterações focais ou difusas com expressão ecográfica. Conteúdo anecóico com presença de pequena quantidade de sedimento. Ducto biliar sem ectasia ou tortuosidade.
Baço	Normodimensionado com contornos regulares, cápsula íntegra em toda a extensão observada, ecogenicidade e ecoestrutura adequada comparativamente os restantes órgãos parenquimatosos. Não evidencia lesões focais com expressão ecográfica. Sem presença de congestão.
Aparelho Gastrointestinal	Cortes observados sem alterações dignas de registo.
Pâncreas	Os segmentos observados sem alterações dignas de registo
Rins	Normodimensionados, de contornos regulares, ecogenicidade da cortical mantida e com diferenciação corticomedular preservada. Sistema pielocalicial sem ectasia e sem reforço ecoico. Ureter colapsado (normal).
Bexiga	Parcialmente distendida, de localização intra-abdominal. Parede sem alterações focais ou difusas, com uma espessura média de 2 mm. Conteúdo anecoico, sem produção de sedimento. Não foram observadas estruturas pontuais com produção de sombra acústica.
Glândulas Adrenais	Normodimensionadas, de contornos regulares, com ecoestrutura normal e sem evidência de alterações focais ou envolvimento dos vasos adjacentes.
Aparelho Reprodutor	Testículo esquerdo: presença de 2 pequenos nódulos (um hiperecoico com cerca de 7mm e outro hipoecoico com cerca de 5 mm de diâmetro). Testículo direito: Nódulo hipoecoico com cerca de 22mm de diâmetro e outro hipoecoico com cerca de 5mm de diâmetro. Próstata intrapélvica e difícil de visualizar na íntegra, no entanto nos cortes observados sem alterações dignas de registo.
Peritoneu	Sem adenomegalia mesentérica ou ílica, sem reatividade focal ou difusa e sem líquido livre.
Comentários	Foi realizada PAAF fígado e baço solicitada pela médica veterinária assistente.
Conclusões	A relevância das conclusões do exame ecográfico deve ser dada em conjunto com o restante quadro clínico. O diagnóstico definitivo das alterações registadas requer citologia e/ou histopatologia.

Tabela A4 - Resultados do hemograma realizado a primeira sessão de quimioterapia neoadjuvante.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	9,59	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,33	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,43	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,33	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,48	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,02	10^9/L	0 - 0,12
HCT	39,4	%	36,0 - 56,0
RBC	5,6	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13,3	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	70,4	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,8	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,7	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	12,7	%	11,5 - 15,9
PLT	385	10^9/L	200 - 460
PCT	0,376	%	0,09 - 0,5
MPV	9,8	fl	7,3 - 11,2

.

Tabela A5 - Resultados das análises realizadas na consulta pré-cirúrgica.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	8,96	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	5,54	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,8	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,15	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,47	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	41	%	36,0 - 56,0
RBC	5,53	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	74,2	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,3	pg	21,0 - 28,0
MCHC	34,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,7	%	11,5 - 15,9
PLT	276	10^9/L	200 - 460
PCT	0,281	%	0,09 - 0,5
MPV	10,2	fl	7,3 - 11,2
Alb	2,3	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	877	IU/L	0 - 130
BUN	26	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,9	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	107	mg/dL	72 - 122
GPT	101	IU/L	0 - 113
T-Pro	6,7	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela A6 - Relatório citológico: linfonodo submandibular esquerdo.

Amostra	Foram coradas com método de May-Grunwald-Giemsa 2 lâminas de citologia de linfonodo submandibular direito.
Descrição	Amostras de escassa a moderada celularidade sobre um fundo levemente hemático, estando algumas células lisadas. A população celular intacta é constituída essencialmente por linfócitos de pequenas e médias dimensões, raros plasmócitos, macrófagos e raríssimos eosinófilos. Observam-se raríssimas células redondas com moderada quantidade de citoplasma levemente granular magenta, mas maioritariamente lisadas.
Conclusão/comentários	A imagem citológica é escassa, mas não apresenta claros sinais de metastização. Contudo, devido à presença de raras células redondas lisadas, não é possível descartar completamente a possibilidade de existência de raras células neoplásicas. Assim, recomenda-se repetição da punção para nova avaliação citológica.

Tabela A7 - Relatório histopatológico: nódulo, testículos e linfonodo submandibular direito.

Amostra	Descrição	Conclusão
A) Linfonodo com 2cm x 1cm x 0,5cm. 2CvFSR	Linfonodo sem presença de mastócitos nem com a coloração H&E nem com a coloração Giemsa.	Linfonodo sem metástases
B) Testículo com 7cm x 3cm x 2cm. Após seção apresenta nódulo bem delimitado com 0,5cm de diâmetro, coloração rosa e consistência firme. 1C1FCR	Ambos os testículos apresentam nódulos no parênquima testicular bem demarcado, composto pela proliferação de células epitelióides dispostas em cordões e em lóbulos suportados por um estroma fibrovascular. As células apresentam baixa atipia e as figuras de mitose são raras. Não se observa invasão da túnica albugínea.	Adenomas das células de Leydig
C) Testículo com 7,5cm x 3,5cm x 1cm. Após seção apresenta nódulo bem delimitado com 1,5cm x 1cm, de coloração rosa e consistência firme. 1C1FCR		
D) Retalho cutâneo de 6cm x 4cm x 1cm centrado por lesão com 2,5cm de diâmetro. Após seção apresenta cor branca, focos hemorrágicos e consistência firme. Margem lateral de 1cm e margem profunda de 2cm.	Fragmento labial que apresenta ao nível da submucosa labial, a proliferação de células redondas dispostas em cordões e em toalha. As células apresentam atipia moderada com pouca granulação, mas com núcleos pequenos. As figuras de mitose são muito raras. Entre as células identificam-se eosinófilos. Margem lateral de 1 cm e margem profunda de 2 cm.	Mastocitoma muco-cutâneo labial

Tabela A8 - Resultados do hemograma realizado antes do início do tratamento adjuvante com quimioterapia.

04/dez	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	6,8	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	4,18	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,67	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,67	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,28	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	38,8	%	36,0 - 56,0
RBC	5,24	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13,1	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	74,1	fl	62,0 - 78,0
MCH	25	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,7	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,8	%	11,5 - 15,9
PLT	309	10^9/L	200 - 460
PCT	0,287	%	0,09 - 0,5
MPV	9,3	fl	7,3 - 11,2

Tabela A9 - Resultados do hemograma realizado antes da terceira sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	10,4	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,83	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,86	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,15	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,56	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	43,2	%	36,0 - 56,0
RBC	5,8	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,2	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	74,5	fl	62,0 - 78,0
MCH	26,2	pg	21,0 - 28,0
MCHC	35,2	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,8	%	11,5 - 15,9
PLT	249	10^9/L	200 - 460
PCT	0,256	%	0,09 - 0,5
MPV	10,3	fl	7,3 - 11,2

Tabela A10 -Resultados do hemograma realizado antes da quarta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	7,91	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	5,67	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,5	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,51	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,23	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	41,8	%	36,0 - 56,0
RBC	5,66	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13,6	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	73,9	fl	62,0 - 78,0
MCH	24	pg	21,0 - 28,0
MCHC	35,2	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,8	%	11,5 - 15,9
PLT	354	10^9/L	200 - 460
PCT	0,304	%	0,09 - 0,5
MPV	8,6	fl	7,3 - 11,2

Tabela A11 - Resultados do hemograma realizado antes da quinta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	11,63	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	8,93	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	0,89	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,4	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,41	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	42,7	%	36,0 - 56,0
RBC	5,66	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14,3	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	75,3	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,2	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,5	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,9	%	11,5 - 15,9
PLT	284	10^9/L	200 - 460
PCT	0,267	%	0,09 - 0,5
MPV	9,4	fl	7,3 - 11,2

Tabela A12 - Resultados do hemograma realizado antes da sexta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	10,33	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	7,43	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,41	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,14	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,35	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	41,3	%	36,0 - 56,0
RBC	5,37	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13,7	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	76,9	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,2	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,4	%	11,5 - 15,9
PLT	295	10^9/L	200 - 460
PCT	0,27	%	0,09 - 0,5
MPV	9,2	fl	7,3 - 11,2

Tabela A13 - Resultados do hemograma realizado antes da sétima sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	18,05	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	15,39	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	0,45	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,92	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,22	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,07	10^9/L	0 - 0,12
HCT	44,5	%	36,0 - 56,0
RBC	5,88	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14,5	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	75,6	fl	62,0 - 78,0
MCH	24,7	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,6	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,1	%	11,5 - 15,9
PLT	294	10^9/L	200 - 460
PCT	0,268	%	0,09 - 0,5
MPV	9,1	fl	7,3 - 11,2

Tabela A14 - Resultados do hemograma realizado antes da oitava sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	17,35	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	13,49	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,18	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,83	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,8	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,05	10^9/L	0 - 0,12
HCT	44,4	%	36,0 - 56,0
RBC	5,91	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,1	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	75,1	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	34	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,1	%	11,5 - 15,9
PLT	251	10^9/L	200 - 460
PCT	0,245	%	0,09 - 0,5
MPV	9,7	fl	7,3 - 11,2

Anexo B – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 2

Tabela B1 - Relatório citológico: nódulo.

Amostra	Foram coradas com May-Grünwald Giemsa 3 lâminas de PAAF de nódulo com 3cm localizado na região do prepúcio.
Descrição	As lâminas têm elevada celularidade. A população celular é constituída maioritariamente por mastócitos, isolados, com abundante quantidade de grânulos citoplasmáticos e mínima anisocitose a anisocariose. Estão também presentes raros eosinófilos e rara colagenólise.
Conclusão/comentários	O quadro citológico é diagnóstico de mastocitoma, citologicamente bem diferenciado. O *grau* tumoral, se aplicável, deve ser determinado com análise histopatológica. Para averiguação do estadio tumoral deve-se avaliar a existência de metastização aos gânglios linfáticos regionais e a outros órgãos internos, com eventual análise citológica.

Tabela B2 - Resultados das análises realizadas para estadiamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	9,33	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,88	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,37	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,73	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,35	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	53,2	%	36,0 - 56,0
RBC	7,29	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	17,6	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72,9	fl	62,0 - 78,0
MCH	24,1	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,3	%	11,5 - 15,9
PLT	248	10^9/L	200 - 460
PCT	0,234	%	0,09 - 0,5
MPV	9,4	fl	7,3 - 11,2
ALKP	81	IU/L	0 - 130
BUN	19	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,7	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	119	mg/dL	72 - 122
GPT	55	IU/L	0 - 113
T-Pro	7,5	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela B3 - Ecografia abdominal de estadiamento.

Fígado	De tamanho aparentemente normal sem alterações na lobulação, parênquima de ecogenicidade normal comparativamente ao baço, sem alterações focais ou difusas. Sem sinais de congestão ou presença de vasos suspeitos. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Distendida, sem alterações focais ou difusas com expressão ecográfica. Conteúdo anecoico sem sedimento. Ducto biliar sem ectasia ou tortuosidade.
Baço	Normodimensionado com contornos regulares, cápsula íntegra em toda a extensão observada, ecogenicidade e ecoestrutura adequada comparativamente os restantes órgãos parenquimatosos. Não evidencia lesões focais com expressão ecográfica. Sem presença de congestão.
Aparelho Gastrointestinal	Cortes observados sem alterações dignas de registo.
Pâncreas	Os segmentos observados apresentam uma espessura normal, contornos regulares, ducto pancreático não dilatado, gordura mesentérica envolvente com ecogenicidade homogénea.
Rins	Normodimensionados com um eixo maior de 60 mm, de contornos regulares, ecogenicidade da cortical mantida e com diferenciação corticomedular preservada. Sistema pielocalicial sem ectasia e sem reforço ecoico. Ureter colapsado (normal).
Bexiga	Pouco distendida, de localização intra-abdominal. Parede sem alterações focais ou difusas. Conteúdo anecoico, sem produção de sedimento. Não foram observadas estruturas pontuais com produção de sombra acústica.
Glândulas Adrenais	Normodimensionadas, de contornos regulares, com ecoestrutura normal e sem evidência de alterações focais ou envolvimento dos vasos adjacentes.
Peritoneu	Sem adenomegalia mesentérica ou ilíaca, sem reatividade focal ou difusa e sem líquido livre.
Conclusões	A relevância das conclusões do exame ecográfico deve ser dada em conjunto com o restante quadro clínico.

Tabela B4 - Relatório citológico: PAAFs de fígado, baço e linfonodos inguinais.

Amostra	Descrição	Conclusão
4 lâminas já coradas, de PAAF hepática	As lâminas apresentam escassa a moderada celularidade, com fundo hemático e lipídico. Observam-se apenas ocasionais grupos de hepatócitos sem evidentes alterações morfológicas. Raríssimos adipócitos sem sinais de atipia citológica. Não se observam mastócitos.	Imagem citológica sem alterações de relevo. Negativo para metástase de mastocitoma.
4 lâminas já corada, de PAFF esplénica	Lâminas com escassa celularidade sobre fundo hemático. Estão presentes apenas raros pequenos grupos de estroma esplénico, linfócitos e raríssimos megacariócitos	
2 lâminas, que foram coradas com May-Grünwald Giemsa, de PAAF de linfonodo inguinal direito e esquerdo	As lâminas de ambas as localizações têm escassa a moderada celularidade, sobre um fundo hemático. Observa-se uma população celular mista com linfócitos pequenos e outros mais raros de médias e grandes dimensões, bem como ocasionais mastócitos, isolados ou em pequenos grupos, com variável quantidade de grânulos citoplasmáticos e moderada anisocitose e anisocariose. Estão também presentes frequentes eosinófilos.	A imagem microscópica é compatível com metástase linfonodal de mastocitoma.

Tabela B5 - Resultados das análises realizadas na consulta pré-cirúrgica.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	11,35	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	8,45	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,61	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,88	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,4	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,01	10^9/L	0 - 0,12
HCT	52,1	%	36,0 - 56,0
RBC	7,28	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	17,4	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,6	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,9	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,4	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	12,7	%	11,5 - 15,9
PLT	214	10^9/L	200 - 460
PCT	0,204	%	0,09 - 0,5
MPV	9,5	fl	7,3 - 11,2
Alb	2,5	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	62	IU/L	0 - 130
BUN	19	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,2	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	104	mg/dL	72 - 122
GPT	38	IU/L	0 - 113
T-Pro	6,6	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela B6 - Resultados das análises realizadas no dia da cirurgia, posteriormente adiada.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	9,49	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,65	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,5	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,73	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,61	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	52,5	%	36,0 - 56,0
RBC	7,34	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	17	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,4	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,1	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,4	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	12,7	%	11,5 - 15,9
PLT	245	10^9/L	200 - 460
PCT	0,236	%	0,09 - 0,5
MPV	9,6	fl	7,3 - 11,2
Alb	2,8	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	< 50	IU/L	0 - 130
BUN	16	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,1	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	101	mg/dL	72 - 122
GPT	43	IU/L	0 - 113
T-Pro	7,2	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela B7 - Relatório histopatológico: nódulo e linfonodos inguinais.

Amostra	Descrição	Conclusão
A) Retalho cutâneo com 7cm x 6cm x 4cm centrado por lesão nodular subcutânea com 4,5cm x 2,5cm x 2cm. Ao corte apresenta cor branca, focos hemorrágicos e consistência friável. Margem lateral de 1cm e margem profunda de 1,5cm. 2C2FCR	Retalho cutâneo no qual se observa lesão difusa, dérmica a subcutânea composta pela proliferação de mastócitos dispostos em cordões, num estroma rico em colagénio. A anaplasia é baixa a moderada e as figuras de mitose são raras (menos de uma mitose por 10 campos de observação com a objectiva de 40x FN 22). Identificam-se eosinófilos entre as células neoplásicas. Margem lateral de 1cm e margem profunda de 1,5cm	Mastocitoma cutâneo Grau II de Patnaik Baixo grau de Kiupel
B) Linfonodo inguinal direito – 2 peças de tumorectomia com 3cm x 1cm e 2cm x 1,2cm. Após seção ambas apresentam arquitetura heterogénea, cor castanha e focos brancos. B1 – peça maior 2CvFSR; B2 – peça menor 1CvFSR	Linfonodo no qual se observam focalmente raros mastócitos sem alterarem a arquitetura do linfonodo.	Metástase precoce
C) Linfonodo inguinal esquerdo – 2 peças de tumorectomia com 2,9cm x 1,1cm e 1,8cm x 1cm. Após seção ambas apresentam arquitetura heterogénea, cor castanha e focos brancos. C1 – peça maior 2CvFSR; C2 – peça menor 1CvFSR	C1- Linfonodo sem alterações. C2 – linfonodo no qual se observam raros mastócitos sem alterarem a arquitetura do linfonodo. Coloração Giemsa- Com a coloração Giemsa identifica-se a presença de mais de 3 mastócitos nos seios supcapsulares em 3 campos consecutivos com a objectiva de 40x mas sem alterar a arquitetura do linfonodo.	Metástase precoce

Tabela B8 - Resultados do hemograma realizado antes da primeira sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	15,88	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	13,87	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	0,48	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,2	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,28	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,05	10^9/L	0 - 0,12
HCT	46,5	%	36,0 - 56,0
RBC	6,46	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,3	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,9	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,7	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,9	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,4	%	11,5 - 15,9
PLT	231	10^9/L	200 - 460
PCT	0,209	%	0,09 - 0,5
MPV	9	fl	7,3 - 11,2

Tabela B9 - Resultados do hemograma realizado antes da segunda sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	5,18	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	3,26	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	0,84	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,88	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,2	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	46,6	%	36,0 - 56,0
RBC	6,51	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,9	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,6	fl	62,0 - 78,0
MCH	24,4	pg	21,0 - 28,0
MCHC	34,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,4	%	11,5 - 15,9
PLT	240	10^9/L	200 - 460
PCT	0,247	%	0,09 - 0,5
MPV	10,3	fl	7,3 - 11,2

Tabela B10 - Resultados do hemograma realizado antes da terceira sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	6,89	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	5,09	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,05	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,65	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,1	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	47	%	36,0 - 56,0
RBC	6,51	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,5	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72,2	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,8	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,3	%	11,5 - 15,9
PLT	292	10^9/L	200 - 460
PCT	0,256	%	0,09 - 0,5
MPV	8,8	fl	7,3 - 11,2

Tabela B11 - Resultados do hemograma realizado antes da quarta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	7,09	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	4,42	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,98	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,51	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,18	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	47,6	%	36,0 - 56,0
RBC	6,61	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,9	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72	fl	62,0 - 78,0
MCH	24,1	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,4	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,2	%	11,5 - 15,9
PLT	264	10^9/L	200 - 460
PCT	0,26	%	0,09 - 0,5
MPV	9,8	fl	7,3 - 11,2

Tabela B12 - Resultados do hemograma realizado antes da quinta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	20,92	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	18,04	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	0,58	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	2,01	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,29	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	49,3	%	36,0 - 56,0
RBC	6,89	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	16,4	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,6	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,8	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,2	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,1	%	11,5 - 15,9
PLT	224	10^9/L	200 - 460
PCT	0,194	%	0,09 - 0,5
MPV	8,6	fl	7,3 - 11,2

Tabela B13 - Resultados do hemograma realizado antes da sexta sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	8,45	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,44	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,19	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,58	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,24	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	44,6	%	36,0 - 56,0
RBC	6,23	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,9	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,6	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	35,6	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,8	%	11,5 - 15,9
PLT	217	10^9/L	200 - 460
PCT	0,186	%	0,09 - 0,5
MPV	8,6	fl	7,3 - 11,2

Tabela B14 - Resultados do hemograma realizado antes da sétima sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	11,63	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	8,94	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,36	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,1	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,23	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	45,7	%	36,0 - 56,0
RBC	6,39	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,6	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,5	fl	62,0 - 78,0
MCH	24,4	pg	21,0 - 28,0
MCHC	34,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,1	%	11,5 - 15,9
PLT	251	10^9/L	200 - 460
PCT	0,221	%	0,09 - 0,5
MPV	8,8	fl	7,3 - 11,2

Tabela B15 - Resultados do hemograma realizado antes da oitava sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	11,3	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	8,44	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,49	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,09	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,28	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	49	%	36,0 - 56,0
RBC	6,83	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	17,2	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,8	fl	62,0 - 78,0
MCH	25,2	pg	21,0 - 28,0
MCHC	35,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,7	%	11,5 - 15,9
PLT	260	10^9/L	200 - 460
PCT	0,229	%	0,09 - 0,5

Anexo C – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 3

Tabela C1 - Relatório citológico: nódulo.

Amostra	PAAF de nódulo na face posterior da coxa direita.
Descrição	Amostra de boa celularidade e conteúdo hemático. Observam-se células redondas, compatíveis com mastócitos, que apresentam abundante quantidade de grânulos de cor púrpura no citoplasma. Presença ainda de eosinófilos e células mesenquimatosas reativas.
Conclusão	A imagem citológica é compatível com um mastocitoma, aparentemente de baixo grau (correspondente a grau histológico I de Kiupel: Camus MS, Priest HL, Koehler JW, Driskell EA, Rakich PM, Ilha MR, Krimer PM. Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. Vet Pathol. 2016 Mar 31. pii: 0300985816638721).

Tabela C2 - Resultados das análises realizadas para estadiamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	6,76	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	4,18	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,73	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,36	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,49	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	50,6	%	36,0 - 56,0
RBC	7,2	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	16,9	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	70,3	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,4	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13,1	%	11,5 - 15,9
PLT	278	10^9/L	200 - 460
PCT	0,294	%	0,09 - 0,5
MPV	10,6	fl	7,3 - 11,2
Alb	2	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	50	IU/L	0 - 130
BUN	22	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,5	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	102	mg/dL	72 - 122
GPT	35	IU/L	0 - 113
T-Pro	6	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela C3 - Relatório citológico: nódulo no dígito e linfonodo poplíteo direito.

Amostra	Descrição	Conclusão
A - 1 lâmina de citologia de nódulo cutâneo localizado no dígito do membro posterior esquerdo, com cerca de 1 cm de diâmetro	Visualizam-se gotas de gordura macroscópica. Microscopicamente, as lâminas de ambas as localizações têm escassa celularidade, sendo constituídas por adipócitos sem alterações morfológicas. Não se observam elementos representativos de gânglio linfático em B.	A lâmina citológica contém apenas gordura, o que pode ser resultado de um crescimento benigno do tecido adiposo (lipoma) ou de uma colheita não representativa, do panículo adiposo subcutâneo. A distinção deve ser feita clinicamente, de acordo com o local de punção (punção do centro do nódulo *vs* do tecido adjacente ao nódulo). Se o diagnóstico de lipoma não se enquadrar com a suspeita clínica, recomenda-se repetição da citologia.
B - 3 lâminas de citologia de linfonodo poplíteo direito.		A imagem citológica é indicativa de uma colheita da gordura peri-ganglionar ou lipoma. A distinção deve ser feita clinicamente, de acordo com o local de punção (punção do tecido adjacente ao nódulo vs do centro do nódulo).

Tabela C4 - Ecografia abdominal de estadiamento.

Fígado	De tamanho aparentemente normal sem alterações na lobulação, parênquima de ecogenicidade normal comparativamente ao baço, sem alterações focais ou difusas. Sem sinais de congestão ou presença de vasos suspeitos. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Distendida, sem alterações focais ou difusas com expressão ecográfica. Conteúdo anecoico sem sedimento. Ducto biliar sem ectasia ou tortuosidade.
Baço	Normodimensionado com contornos regulares, cápsula íntegra em toda a extensão observada, ecogenicidade e ecoestrutura adequada comparativamente os restantes órgãos parenquimatosos. Não evidencia lesões focais com expressão ecográfica. Sem presença de congestão.
Aparelho Gastrointestinal	Estômago moderadamente distendido, parede mantendo a estratificação em 5 camadas com espessura média de 4,7 mm (ligeiro espessamento difuso), não apresentando espessamentos focais nas porções observadas.
Pâncreas	Os segmentos observados apresentam uma espessura normal, contornos regulares, ducto pancreático não dilatado, gordura mesentérica envolvente com ecogenicidade homogénea.
Rins	Normodimensionados com um eixo maior de 60 mm, de contornos regulares, ecogenicidade da cortical mantida e com diferenciação corticomedular preservada. Sistema pielocalicial sem ectasia e sem reforço ecoico. Ureter colapsado (normal).
Bexiga	Pouco distendida, de localização intra-abdominal. Parede sem alterações focais ou difusas. Conteúdo anecoico, sem produção de sedimento. Não foram observadas estruturas pontuais com produção de sombra acústica.
Glândulas Adrenais	Normodimensionadas, de contornos regulares, com ecoestrutura normal e sem evidência de alterações focais ou envolvimento dos vasos adjacentes.
Peritoneu	Sem adenomegalia mesentérica ou ilíaca, sem reatividade focal ou difusa e sem líquido livre.
Conclusões	A relevância das conclusões do exame ecográfico deve ser dada em conjunto com o restante quadro clínico. Aparelho gastrointestinal: Achado sem significado clínico, enterite, doença intestinal inflamatória. valorizar apenas se clinicamente justificável.

Tabela C5 - Resultado das análises realizadas na consulta pré-cirúrgica.

	Resultado	Unidade	Intervalo
ALKP	<50	IU/L	0 - 130
BUN	26	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,3	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	112	mg/dL	72 - 122
GPT	42	IU/L	0 - 113
T-Pro	5,4	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela C6 - Relatório histopatológico.

Amostra	Recebido 1 contentor com uma amostra conservada em formol. Retalho cutâneo com 6cm x 3cm que apresenta lesão ulcerada elevada com 1,4cm de diâmetro. Após secção apresenta cor branca e consistência firme. Margem lateral de 1cm e margem profunda de 0,5cm. 1C2FCR
Descrição microscópica	Retalho cutâneo que apresenta um nódulo dérmico a subcutâneo bem demarcado mas não capsulado. Observa-se a proliferação de células redondas a ovóides dispostas em toalha. As células apresentam citoplasma granuloso basófilo e um núcleo redondo central. A atipia celular é baixa e as figuras de mitose são raras. Entre as células identificam-se eosinófilos. Margem lateral de 1 cm e margem profunda de 0,5 cm.
Conclusão	Mastocitoma cutâneo Grau II de Patnaik Baixo grau de Kiupel

Anexo D – Exames complementares de diagnóstico realizados no caso clínico 4

Tabela D1 - Relatório citológico: nódulo escrotal.

Amostra	PAAF de nódulo no escroto
Descrição	Amostra de fraca celularidade e abundante rotura celular. Observam-se raras células redondas intactas, compatíveis com mastócitos, que apresentam abundante quantidade de grânulos de cor púrpura no citoplasma. Presença ainda de eosinófilos e grânulos provenientes de células roturadas no fundo da preparação.
Conclusão/comentários	A imagem citológica é compatível com um mastocitoma, aparentemente de baixo grau (correspondente a grau histológico I de Kiupel: Camus MS, Priest HL, Koehler JW, Driskell EA, Rakich PM, Ilha MR, Krimer PM. Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. Vet Pathol. 2016 Mar 31. Pii: 0300985816638721).

Tabela D2 - Resultados das análises realizadas para estadiamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	15,33	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	11,1	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,69	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,69	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,85	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	46,4	%	36,0 - 56,0
RBC	6,79	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,4	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	68,4	fl	62,0 - 78,0
MCH	22,7	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,2	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	13	%	11,5 - 15,9
PLT	228	10^9/L	200 - 460
PCT	0,211	%	0,09 - 0,5
MPV	9,3	fl	7,3 - 11,2
Alb	1,9	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	101	IU/L	0 - 130
BUN	11	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,1	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	93	mg/dL	72 - 122
GPT	53	IU/L	0 - 113
T-Pro	6	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela D3 - Ecografia abdominal de estadiamento.

Fígado	De tamanho aparentemente normal sem alterações na lobulação, parênquima de ecogenicidade normal comparativamente ao baço, sem alterações focais ou difusas. Sem sinais de congestão ou presença de vasos suspeitos. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Distendida, sem alterações focais ou difusas com expressão ecográfica. Conteúdo anecoico sem sedimento. Ducto biliar sem ectasia ou tortuosidade.
Baço	Ligeira esplenomegalia, mas com contornos regulares e cápsula íntegra. presença de um nódulo hiperecoico com cerca de 4mm junto ao hilo.
Aparelho Gastrointestinal	Cortes observados sem alterações dignas de registo.
Pâncreas	Os segmentos observados apresentam uma espessura normal, contornos regulares, ducto pancreático não dilatado, gordura mesentérica envolvente com ecogenicidade homogénea.
Rins	Normodimensionados com um eixo maior de 60 mm, de contornos regulares, ecogenicidade da cortical mantida e com diferenciação corticomedular preservada. Sistema pielocalicial sem ectasia e sem reforço ecoico. Ureter colapsado (normal).
Bexiga	Pouco distendida, de localização intra-abdominal. Parede sem alterações focais ou difusas. Conteúdo anecoico, sem produção de sedimento. Não foram observadas estruturas pontuais com produção de sombra acústica.
Glândulas Adrenais	Normodimensionadas, de contornos regulares, com ecoestrutura normal e sem evidência de alterações focais ou envolvimento dos vasos adjacentes.
Peritoneu	Sem adenomegalia mesentérica, ligeira linfadenomegalia do linfonodo ilíaco medial, mas sem alterações na forma ou na ecogenecidade. Sem reatividade focal ou difusa e sem líquido livre.
Conclusões	A relevância das conclusões do exame ecográfico deve ser dada em conjunto com o restante quadro clínico.

Tabela D4 - Relatório citológico: PAAFs de linfonodos inguinais, fígado e baço.

Amostra	Descrição	Conclusão
A - 2 lâminas de citologia de linfonodo inguinal direito B - 1 lâmina de citologia de linfonodo inguinal esquerdo	As lâminas têm elevada celularidade e leve fundo hemático, sendo constituídas por uma população celular mista. Observam-se frequentes mastócitos, isolados ou em pequenos grupos, com pouca quantidade de grânulos citoplasmáticos e evidente anisocitose e anisocariose. Raras células binucleadas e multinucleadas. Estão também presentes frequentes células linfóides maturas. Ocasionais grânulos magenta extra-celulares.	A imagem microscópica é compatível com metástase linfonodal de mastocitoma, citologicamente pouco diferenciado.
C - 3 lâminas de citologia de fígado	Uma lâmina apresenta apenas um conteúdo amorfo com detrito vegetal e uma população bacteriana mista. As duas restantes amostras têm escassa celularidade sobre um leve fundo hemático. Estão presentes apenas raros grupos de hepatócitos sem sinais de atipia. Sem evidentes mastócitos.	Imagem citológica sem alterações de relevo. Negativo para metástase de mastocitoma. A primeira amostra descrita em C representa uma punção de conteúdo digestivo.
D - 3 lâminas de citologia de baço	Amostras com escassa a moderada celularidade sobre um fundo hemático. A população celular é maioritariamente constituída por ocasionais linfócitos e plasmócitos, assim como raros precursores eritróides. Raríssimos mastócitos granulares imersos no estroma esplénico.	

Tabela D5 - Resultados das análises realizadas no primeiro internamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	27,03	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	23,25	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	2,43	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,81	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,54	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	55,8	%	36,0 - 56,0
RBC	8,04	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	18,4	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	69,4	fl	62,0 - 78,0
MCH	22,9	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14	%	11,5 - 15,9
PLT	223	10^9/L	200 - 460
PCT	0,207	%	0,09 - 0,5
MPV	9,3	fl	7,3 - 11,2
Alb	2	g/dL	2,2 - 3,5
ALKP	1057	IU/L	0 - 130
BUN	18	mg/dL	6,0 - 25,0
Creat	1,5	mg/dL	0,8 - 1,4
Glu	82	mg/dL	72 - 122
GPT	559	IU/L	0 - 113
T-Pro	5,9	g/dL	4,7 - 6,9

Tabela D6 - Relatório histopatológico: escroto, testículos e linfonodos inguinais.

Amostra	**Descrição macroscópica**	**Descrição microscópica**	**Conclusão**
1 - Escroto e testículos	A (1): Peça de orquiectomia bilateral que mede na sua totalidade 8x7x3 cm revestida por retalho cutâneo com 8x7 cm onde se observa lesão ulcerada com 2x2 cm. Em secção de um dos testículos o parênquima apresenta-se homogéneo (A1); o testículo contralateral também se apresenta homogéneo (A2). Em secção do escroto identifica-se lesão heterogénea e difusa com 2x1 cm que dista 2 cm da margem cirúrgica mais próxima (A3). 3CVF CR	A1 e A2: Testículos que apresentam ligeira atrofia da linha germinativa e presença de espermatídeos multinucleados no lúmen dos tubos seminíferos. A3: Escroto no qual se observa lesão ulcerada de limites mal definidos caracterizada pela proliferação de células redondas num estroma de colagénio. As células apresentam um núcleo central e moderada quantidade de citoplasma acidófilo que por vezes apresenta fraca granulação basófila. O pleomorfismo é discreto e as figuras de mitose são raras. Margem cirúrgica de 2cm.	A1 e A2: Testículos com ligeira atrofia e degenerescência testicular A3: Mastocitoma escrotal Comentários: Os graus de Kiupel e Patnaik apenas se aplicam aos mastocitomas cutâneos, pelo que não podem ser aplicados aos mastocitomas escrotais. A presença de metástases nodais indica tratar-se de um mastocitoma agressivo.
2 - Linfonodo inguinal direito	B (2): Peça de linfadenectomia com 4x2x0,8 cm. Em secção a superfície coincidente com a margem apresenta-se heterogénea. 1C1F CR	B e C: Linfonodos que apresentam a sua arquitetura alterada devido à presença de agregados de mastócitos nos seios medulares e seios peritrabeculares.	B e C: Linfonodos metastizados (HN3).
3 - Linfonodo inguinal esquerdo	C (3): Peça de linfadenectomia com 3x2x0,8 cm. Em secção a superfície coincidente com a margem apresenta-se heterogénea. 1C1F CR		

Tabela D7 - Resultados do hemograma realizado antes da primeira sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	13,87	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	10,49	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,88	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,53	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,95	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0,02	10^9/L	0 - 0,12
HCT	40,5	%	36,0 - 56,0
RBC	5,65	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13,5	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,7	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,9	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,3	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	15	%	11,5 - 15,9
PLT	371	10^9/L	200 - 460
PCT	0,311	%	0,09 - 0,5
MPV	8,4	fl	7,3 - 11,2

Tabela D8 - Resultados do hemograma realizado antes da segunda sessão de quimioterapia.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	11,69	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	8,21	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,55	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,17	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,76	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	40,2	%	36,0 - 56,0
RBC	5,53	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	13	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72,8	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,3	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,6	%	11,5 - 15,9
PLT	361	10^9/L	200 - 460
PCT	0,309	%	0,09 - 0,5
MPV	8,6	fl	7,3 - 11,2

Tabela D9 - Resultados do hemograma realizado antes da primeira sessão de quimioterapia do segundo protocolo.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	9,37	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	6,63	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,46	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,29	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,99	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	43,2	%	36,0 - 56,0
RBC	5,97	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14,3	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72,4	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,9	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,1	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,3	%	11,5 - 15,9
PLT	315	10^9/L	200 - 460
PCT	0,272	%	0,09 - 0,5
MPV	8,6	fl	7,3 - 11,2

Tabela D10 - Resultados do hemograma realizado antes da segunda sessão de quimioterapia do segundo protocolo.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	5,37	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	3,85	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,37	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,05	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,7	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	43,5	%	36,0 - 56,0
RBC	6,06	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14,2	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,7	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,4	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,7	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,4	%	11,5 - 15,9
PLT	339	10^9/L	200 - 460
PCT	0,297	%	0,09 - 0,5
MPV	8,8	fl	7,3 - 11,2

Tabela D11 - Resultados do hemograma realizado antes da terceira sessão de quimioterapia do segundo protocolo.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	6,61	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	4,49	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,67	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,14	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,31	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	44,8	%	36,0 - 56,0
RBC	6,23	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	14,5	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	71,8	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,3	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,4	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,6	%	11,5 - 15,9
PLT	367	10^9/L	200 - 460
PCT	0,309	%	0,09 - 0,5
MPV	8,4	fl	7,3 - 11,2

Tabela D12 - Resultados do hemograma realizado antes da quarta sessão de quimioterapia do segundo protocolo.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	6,97	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	5,04	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,26	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	0,12	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,55	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	46,4	%	36,0 - 56,0
RBC	6,43	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	15,1	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	72,2	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,5	pg	21,0 - 28,0
MCHC	32,5	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,3	%	11,5 - 15,9
PLT	335	10^9/L	200 - 460
PCT	0,283	%	0,09 - 0,5
MPV	8,5	fl	7,3 - 11,2

Tabela D13 - Resultados das análises realizadas no segundo internamento.

	Resultado	Unidade	Intervalo
WBC	29,35	10^9/L	6,0 - 17,0
NEU#	26,71	10^9/L	3,62 - 11,32
LYN#	1,18	10^9/L	0,83 - 4,69
MON#	1,17	10^9/L	0,14 - 1,97
EOS#	0,29	10^9/L	0,04 - 1,56
BAS#	0	10^9/L	0 - 0,12
HCT	48	%	36,0 - 56,0
RBC	6,93	g/dL	5,1 - 8,5
HGB	16,2	10^12/L	11,0 - 19,0
MCV	69,3	fl	62,0 - 78,0
MCH	23,4	pg	21,0 - 28,0
MCHC	33,8	g/dL	30,0 - 38,0
RDW%	14,4	%	11,5 - 15,9
PLT	364	10^9/L	200 - 460
PCT	0,339	%	0,09 - 0,5
MPV	9,3	fl	7,3 - 11,2

Tabela D14 - Relatório citológico: PAAF do edema inguinal.

Amostra	PAAF de nódulo inguinal – 2 lâminas
Descrição	Amostra de boa celularidade, elevado conteúdo hemático e gordura livre. Observam-se macrófagos e células fusiformes com atipia marcada (anisocitose, anisocariose e múltiplos nucléolos aberrantes).
Conclusão/comentários	A imagem citológica é compatível com a presença de células mesenquimatosas reativas ou neoplásicas. Recomenda-se exérese da massa e envio para análise histopatológica.