

MARIA MADALENA BARBOSA GOMES SAAVEDRA

**MASTOCITOMAS CUTÂNEOS E
SUBCUTÂNEOS EM CÃES:
QUATRO CASOS CLÍNICOS**

Orientadora: Professora Doutora Ana Faustino

Coorientador: Professora Dr.^a Ana Rita Serras

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2020

MARIA MADALENA BARBOSA GOMES SAAVEDRA

**MASTOCITOMAS CUTÂNEOS E
SUBCUTÂNEOS EM CÃES:
QUATRO CASOS CLÍNICOS**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 19 de Março de 2020 com o despacho reitoral nº 87/2020, com a seguinte composição de júri:

Presidente do Júri: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Rute Teixeira

Orientadora: Professora Doutora Ana Faustino

Coorientador: Professora Dr.^a Ana Rita Serras

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2020

Para as minhas queridas Mãe e Avó.

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Faustino e à Professora Dra. Ana Rita Serras que aceitaram ser minhas Orientadora e Co-Orientadora, respetivamente. Pela paciência, ajuda e disponibilidade na elaboração desta dissertação.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, onde passei os últimos anos e onde “reaprendi” a estudar.

À Professora Doutora Laurentina Pedroso pela oportunidade que me concedeu ao permitir que estagiasse no Hospital Veterinário da FMV-ULHT.

À Professora Dra. Odete Almeida e à Professora Doutora Sónia Campos pelo apoio e compreensão infindáveis naquele que considero o pior ano da minha vida.

À minha querida mãe que faleceu sem ver o meu sonho tornar-se realidade, mas que sem o seu amor e sacrifícios não teria sido possível. À minha avó, a minha companheira de sempre, para sempre.

Ao, meu marido, Miguel por acreditar mais nas minhas capacidades do que, por vezes, eu própria e por todo o apoio. Quaisquer palavras serão poucas para lhe agradecer.

À família que ganhei: Mónica, Carmen e Joaquim.

A todos os amigos que me vão aturando, mesmo quando nem tudo são rosas. Em especial ao Ricardo, à Sara e à Xana.

E, por fim, à minha Tia Luísa pela amizade incondicional.

Resumo

Os mastocitomas são as neoplasias mais comuns em cães, representando entre 13,5% e 20% das neoplasias cutâneas.

A análise citológica e a histopatológica são as técnicas auxiliares de diagnóstico e prognóstico de maior importância neste tipo de neoplasia. A citologia permite, na maioria dos casos, o diagnóstico inicial, após o qual se deve determinar qual a abordagem terapêutica mais adequada. A histopatologia permite obter um diagnóstico final e prognóstico mais preciso e determinar a necessidade de tratamento adjuvante adicional. A abordagem terapêutica e prognóstico está dependente de vários outros fatores, entre os quais: localização do tumor primário, o tamanho do tumor, estadio da doença e o seu grau histológico.

Esta dissertação tem como objetivo documentar e analisar casos práticos de mastocitomas e respectivos protocolos de atuação.

Foram, assim, escolhidos quatro casos de mastocitomas cutâneos e subcutâneos, seguidos no Hospital da FMV-ULHT, entre Janeiro e Abril de 2019.

Todos os casos foram diagnosticados inicialmente por punção por agulha fina seguida de análise citológica e foi realizado o estadiamento clínico completo da doença. Procedeu-se à excisão cirúrgica dos nódulos e histopatologia das lesões em todos os cães. O tratamento adjuvante foi variável (quimioterapia ou monitorização apenas), baseado em evidência médica e na decisão final dos tutores.

Palavras-chave: cão, mastocitomas, oncologia, neoplasias cutâneas

Abstract

Mast cell tumours are the most common neoplasias in dogs, representing between 13,5% and 20% of cutaneous neoplasias.

Cytological and histopathological analysis are the more important complementary techniques for diagnosis and prognosis of this type of lesions. Most of the times, cytology provides a inicial diagnosis that should aid in determining the most adequate therapeutic approach. Histopathology allows obtaining a final diagnosis and a more precise prognosis and determine the need for adjuvant treatment. Therapeutic approach and prognosis depends on several other factors such as primary tumour location, size of the tumour, staging and histologic grade.

This thesis aims to describe and discuss mast cell tumour cases.

Thus, four cutaneous and subcutaneous mast cell cases were chosen and followed at the FMV-ULHT Hospital, between January and April 2019.

All cases have been initially diagnosed through fine needle aspiration followed by cytology and all had a complete clinical staging of the disease. Surgical excision and histopatolhology of the nodules was performed in all dogs. Adjuvant treatment was variable (chemotherapy or monitoring only) according to medical evidence and final owner´s decision.

Key-words: dog, mast cell tumour, oncology, cutaneous neoplasia.

Abreviaturas, siglas e símbolos

AB - Antibioterapia

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AINE's - Anti-inflamatórios não esteróides

AgNORS - Regiões organizadoras nucleolares

ALP - Fosfatase alcalina

ALT - Alanina aminotransferase

ATP - Adenosina trifosfato

BID - Duas vezes ao dia (do latim, *Bis in die*)

Bpm - Batimentos por minuto

CAAF - Citologia aspirativa por agulha fina

CCNU - Lomustina

DIT- Duplicações internas em tandem

FGFR - Recetor do fator de crescimento dos fibroblastos (do inglês, *Fibroblast growth factor receptor*)

FMV-ULHT - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

H&E - Hematoxilina e eosina

IL's - Interleucinas

IM - Índice mitótico

i.m. - intramuscular

i.v. - intravenoso

MPD - Membro pélvico direito

MPE - membro pélvico esquerdo

MTD - membro torácico direito

MTE - membro torácico esquerdo

MTC - Mastocitoma

MTCC - Mastocitoma cutâneo

MTSC - Mastocitoma subcutâneo

PAAF - Punção aspirativa por agulha fina

PCR - Reação em cadeia da polimerase (do inglês, *Polymerase chain reaction*)

PDGFR - Receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas (do inglês, *Platelet-derived growth factor receptor*)

PO - Via oral (do latim, *Per os*)

RNA - Ácido ribonucleico

s.c. – subcutâneo

SCT - *Stem cell factor*, ligando do c-KIT

SID - Uma vez ao dia (do latim, *Semel in die*)

SRD - Dem raça determinada

TLR - Recetores *toll-like*

TKI's - Inibidores das tirosinas cinases (do inglês, *tyrosine kinase inhibitors*)

TNF- α - Factor de necrose tumoral α

TMS - Tempo médio de sobrevida

RC - Resposta completa

RP - Resposta parcial

Rpm - Respirações por minuto

RT - Radioterapia

VBL - Vimblastina

VEGF - Factor de crescimento do endotélio vascular (do inglês, *Vascular endothelial growth factor*)

VEGFR – Recetor para o factor de crescimento do endotélio vascular (do inglês, *Vascular endothelial growth factor receptor*)

Índice geral

Dedicatória.....	3
Agradecimentos.....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas.....	7
Índice de gráficos.....	12
Índice de figuras.....	13
Índice de tabelas.....	14
Casuística e actividades desenvolvidas durante o estágio curricular.....	16
Capítulo 1 - Revisão bibliográfica.....	19
1. Introdução.....	19
1.1. Mastócitos.....	19
1.1.1. Morfologia.....	19
1.1.2. Origem, diferenciação e função biológica.....	19
1.2. Mastocitoma.....	20
1.2.1. Epidemiologia.....	21
1.2.1.1. Incidência.....	21
1.2.1.2. Localização.....	21
1.2.1.3. Raça.....	21
1.2.1.4. Idade.....	21
1.2.1.5. Género.....	22
1.2.2. Etiologia.....	22
1.2.3. Apresentação clínica e características macroscópicas.....	22
1.2.4. Fisiologia e sinais paraneoplásicos.....	23
1.2.5. Diagnóstico.....	24

1.2.6. Estadiamente clínico.....	26
1.2.7. Prognóstico.....	27
1.2.7.1. Localização.....	27
1.2.7.2. Grau histológico.....	29
1.2.8. Marcadores de Proliferação Celular.....	30
1.2.8.1. AgNORs.....	30
1.2.8.2. Ki-67.....	31
1.2.8.3. Índice Mitótico.....	31
1.2.8.4. Padrão de expressão imunohistoquímico do c-Kit.....	32
1.2.8.5. Índice mitótico, Ki-67, AgNORs análise conjunt no Mastocitoma.....	32
1.2.9. Tratamento.....	32
1.2.9.1. Excisão cirúrgica.....	32
1.2.9.2. Radioterapia.....	34
1.2.9.3. Corticoterapia.....	34
1.2.9.4. Quimioterapia.....	35
1.2.9.4.1. Protocolo de vimblastina com prednisolona.....	35
1.2.9.4.2. Protocolo de lomustina com prednisolona.....	36
1.2.9.4.3. Protocolo de clorambucil.....	36
1.2.9.4.4. Inibidores de tirosinas cinases.....	37
1.2.9.4.4.1. Fosfato de Toceranib.....	37
1.2.9.4.4.2. Mesilato de Masitinib.....	37
1.2.9.5. Electroquimioterapia.....	38
1.2.9.6. Instilação de água desionizada.....	38
Capítulo 2 - Materiais e métodos.....	39
Capítulo 3 - Descrição dos casos clínicos.....	40
3.1. Caso clínico 1.....	40

3.2. Caso clínico 2.....	44
3.3. Caso clínico 3.....	47
3.4. Caso clínico 4.....	50
Capítulo 4 - Discussão dos casos clínicos.....	53
Capítulo 5 - Conclusão.....	63
Capítulo 6 - Bibliografia.....	64
ANEXOS.....	80
Anexo 1 - Caso clínico 1.....	81
Anexo 2 - Caso clínico 2.....	85
Anexo 3 - Caso clínico 3.....	88
Anexo 4 - Caso clínico 4.....	91

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Animais internados provenientes de diversas especialidades.....	15
Gráfico 2 - Cirurgias acompanhadas durante o estágio curricular.....	16
Gráfico 3 - Consultas de diferentes especialidades acompanhadas durante o estágio curricular.....	17

Índice de Figuras

Figura 1 - Excisão de um mastocitoma com margens de 2 cm de cada lado, incluindo uma fáscia muscular.....	30
Figuras 2 - Mastócitos na citologia do nódulo do caso clínico 1.....	38
Figura 3 - Novo nódulo detetado um mês após a cirurgia do caso clínico 2.....	42
Figura 4 - Cicatrizes cirúrgicas do MPE e do MTE do caso clínico 3.....	44
Figura 5 - Orquiectomia fechada com excisão escrotal do caso clínico 4.....	45

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Sistema de estadiamento clínico para mastocitomas proposto pela OMS.....	27
Tabela 2 - Classificação histológica dos mastocitomas cutâneos caninos proposta por Patnaik.....	28
Tabela 3 - Classificação histológica dos mastocitomas cutâneos caninos proposta por Kiupel.....	29

Anexo 1 - Caso clínico 1

Tabela I - Resultados da análise citológica dos nódulos.....	81
Tabela II - Resultados do hemograma realizado na primeira consulta oncológica.....	81
Tabela III - Resultados das análises bioquímicas realizadas na primeira consulta oncológica.....	82
Tabela IV - Resultados do hemograma realizado no dia do primeiro tratamento com vimblastina.....	82
Tabela V - Resultados do hemograma realizado no dia do último tratamento com vimblastina.....	83

Anexo II - Caso clínico 2

Tabela VI - Relatório da ecografia abdominal para estadiamento clínico.....	85
Tabela VII - Resultados do hemograma realizado no dia da primeira consulta oncológica.....	85
Tabela VIII - Resultados das análises bioquímicas realizadas no dia da primeira consulta oncológica.....	86
Tabela IX - Resultados da análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente.....	86

Anexo III - Caso clínico 3

Tabela X - Resultados da análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente noutra clínica veterinária.....	88
Tabela XI - Resultados do hemograma realizado no dia da ecografia abdominal para estadiamento clínico.....	88
Tabela XII - Resultados das análises bioquímicas realizadas no dia da ecografia abdominal para estadiamento clínico.....	89
Tabela XIII - Relatório da ecografia abdominal para estadiamento clínico.....	90

Anexo IV - Caso clínico 4

Tabela XIV - Resultados da análise citológica dos nódulos.....	91
Tabela XV - Resultados do hemograma realizado na consulta pré-cirúrgica.....	91
Tabela XVI - Resultados das análises bioquímicas realizadas na consulta pré-cirúrgica.....	92
Tabela XVII - Resultados da análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente.....	92
Tabela XVIII - Resultados da análise citológica dos novos nódulos.....	93
Tabela XIX - Resultados do hemograma realizado na consulta pré-cirúrgica (2ª cirurgia).....	94
Tabela XX - Resultados das análises bioquímicas realizadas na consulta pré-cirúrgica (2ª cirurgia).....	95
Tabela XXI - Resultados da análise citológica dos novos nódulos (3º).....	95
Tabela XXII - Relatório de Histopatologia da 2ª cirurgia.....	96

Casuística e atividades desenvolvidas durante o estágio curricular

O estágio foi realizado no âmbito da disciplina de Estágio Curricular, com vista à conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, na Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT).

O estágio decorreu no Hospital de Pequenos Animais da FMV-ULHT, em Lisboa, no período compreendido entre janeiro e abril de 2019, sob orientação da Dr.^a Ana Rita Serras. Por ser um hospital universitário, pude participar ativamente nas diversas áreas do hospital. O horário de trabalho semanal teve a duração de 40 horas, divididas em três turnos - manhã, intermédio e tarde, perfazendo um total de 640 horas em várias áreas: 439 horas no internamento, 142 horas em procedimentos cirúrgicos e anestesia, e 59 horas na realização de consultas.

No internamento, tive a oportunidade de acompanhar 273 animais de diversas especialidades e desempenhei as seguintes tarefas: realização de exames físicos e monitorização dos animais, administração de medicação, recolha de amostras (sangue e urina) para a realização de exames complementares de diagnóstico e auxílio na realização de exames complementares de diagnóstico, como radiografias ou ecografias (Figura 1).

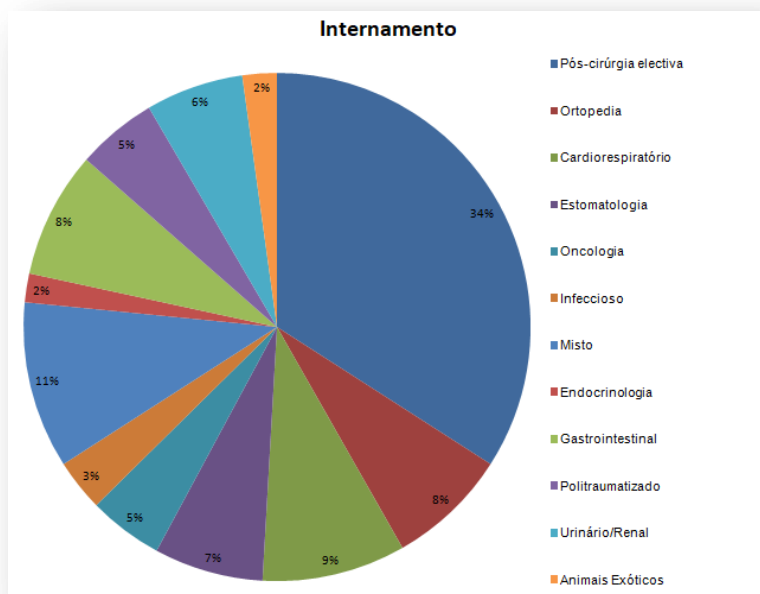


Gráfico 1. Animais internados provenientes de diversas especialidades.

Nos procedimentos cirúrgicos tive a possibilidade de desempenhar as seguintes tarefas: tricotomia, colocação de cateter, flebotomia para a realização de análises pré-anestésicas, auxílio na seleção dos fármacos a utilizar e cálculo das respectivas doses, ajudante de cirurgia, circulante ou ajudante de anestesia. Assisti a procedimentos cirúrgicos diversos, tais como: resolução de entrópio, enucleação, ablação total do canal auditivo, recessão da cabeça do fêmur, exérese de massas, esplenectomia, colonopexia, cesariana, ovariectomia, orquiectomia, entre outras (Figura 2).

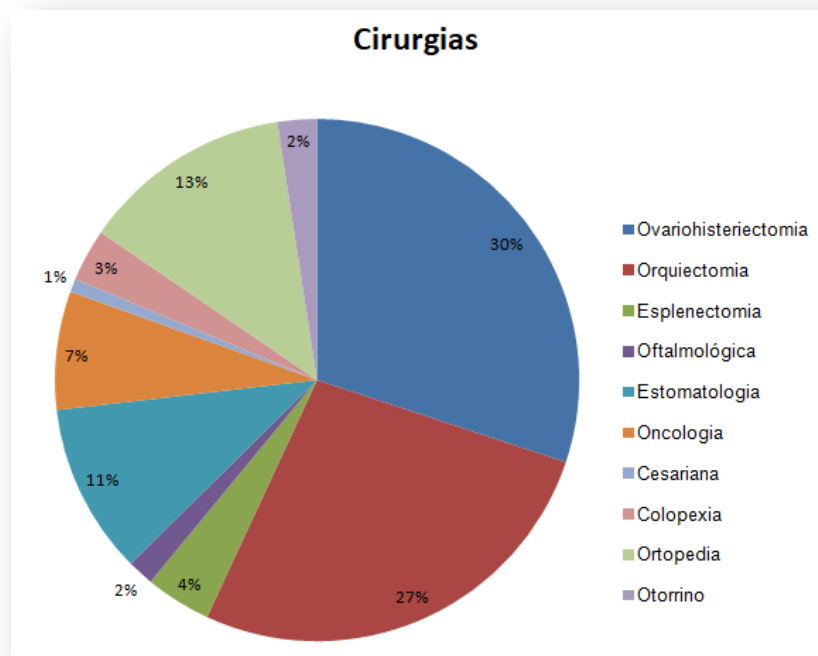


Gráfico 2. Cirurgias acompanhadas durante o estágio curricular.

Durante as consultas desempenhei as seguintes tarefas: recolha da história clínica do animal, realização de anamnese e do exame físico do paciente. Nos casos em que foi necessária a realização de exames complementares de diagnóstico, fazia a recolha de amostras de sangue e radiografava o paciente. Tive ainda a possibilidade de discutir os casos clínicos, os diagnósticos diferenciais e o tratamento a instituir com o Médico Veterinário responsável pela consulta. Durante o estágio acompanhei 129 consultas de diferentes áreas, nomeadamente: consultas de urgência em que acompanhei casos de atropelamentos, ingestão de substâncias tóxicas, dispneias, quedas e partos distócicos; consultas de ortopedia em que pude avaliar casos de displasia de cotovelo e anca, rutura do ligamento cruzado cranial, fraturas ósseas e luxação da patela; consultas de nefrologia/urologia em que acompanhei casos de insuficiência renal crónica e aguda, cálculos renais e uretrais, e cistites; e consultas consideradas mistas ou gerais que se

revelaram casos de endocrinologia, como hipotireoidismo/hipertireoidismo, hiperadrenocorticismo e diabetes *mellitus*. Na área das doenças infecciosas e parasitárias acompanhei casos de leishmaniose canina, leptospirose, babesiose, erliquiose, peritonite infecciosa felina, parvovirose, leucemia felina e imunodeficiência felina, entre outros. Na área de cardiologia acompanhei, entre outros, casos de cardiomiopatia dilatada e hipertrófica, e casos de disfunções valvulares. Em gastroenterologia acompanhei casos de gastrite, colangiohepatite, fecaloma, corpo estranho gástrico, pancreatite crônica e enterites, entre outros. Em dermatologia acompanhei casos de atopia e dermatite por alergia à picada de pulga e dermatofitose. Nas consultas de oncologia, acompanhei casos de histiocitomas, mastocitomas cutâneos e subcutâneos, hemangiossarcomas, sarcomas e adenocarcinoma das glândulas apócrinas dos sacos anais, entre outros. Nas consultas de cuidados primários acompanhei diversas vacinações, desparasitações, emissão de boletins sanitários e colocação de *microchip*. Nas consultas de exóticos acompanhei animais de diferentes espécies, como furões, aves, répteis e roedores, de modo a ficar com uma ideia das principais doenças de cada uma das espécies (Figura 3).

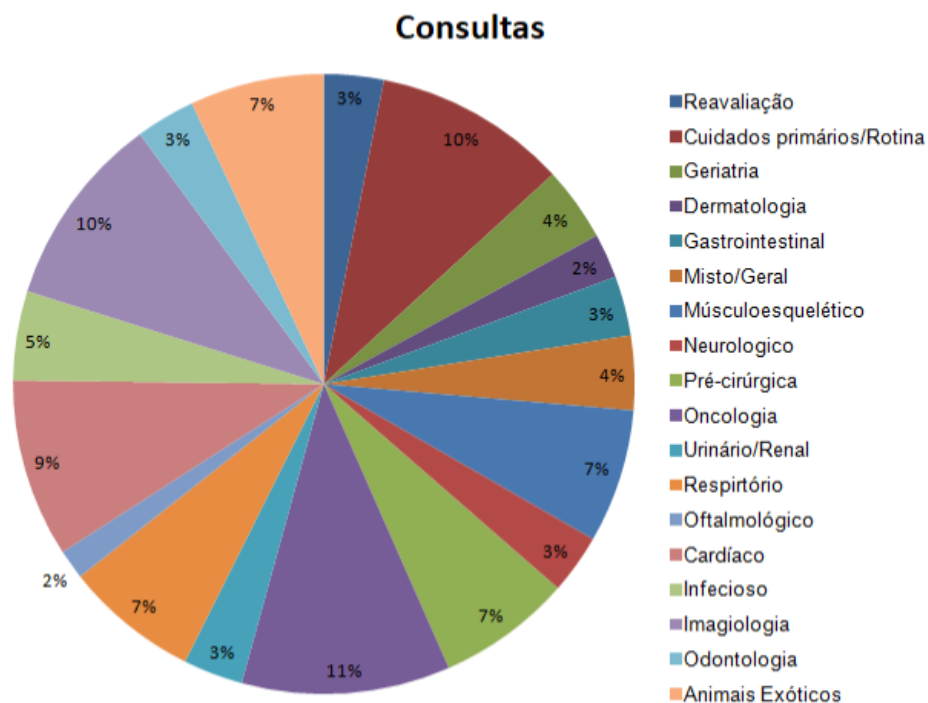


Gráfico 3. Consultas de diferentes especialidades acompanhadas durante o estágio curricular.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Introdução

A esperança média de vida dos animais, em geral, e dos animais domésticos, em particular, tem vindo a aumentar. De facto, os tutores preocupam-se cada vez mais com a saúde e bem-estar dos seus animais, proporcionando-lhes uma melhor qualidade de vida (Withrow, 2007). Com este aumento na esperança média de vida, tem-se verificado um aumento na incidência de doenças oncológicas (Withrow, 2007), constituindo a principal causa de morte nos animais domésticos (Dobson *et al.*, 2002; Withrow *et al.*, 2006). As neoplasias cutâneas e subcutâneas são as mais comuns nos cães (Withrow, 2007). Os nódulos cutâneos dividem-se em neoplásicos e não neoplásicos. Por sua vez, os nódulos neoplásicos são classificados como benignos ou malignos, de acordo com o seu comportamento biológico (Withrow *et al.*, 2007; Nelson & Couto, 2015).

1.1. Os Mastócitos

Os mastócitos são células amplamente estudadas pela comunidade médica e que sempre a fascinaram. O seu interesse inicial deveu-se sobretudo à capacidade de corar dos seus grânulos citoplasmáticos, ricos em proteases e proteoglicanos, que conduziram ao seu reconhecimento por Paul Ehrlich, em 1877 (Ehrlich, 1877).

1.1.1. Morfologia

Os mastócitos, na sua forma madura, são células grandes, globulosas, mononucleadas (8 a 20 µm de diâmetro), com núcleo esférico e em posição central, com forma variável (redondo, oval, poligonal ou fusiforme) (Arok, 2004). O núcleo é de difícil visualização na citologia, pois os grânulos citoplasmáticos dos mastócitos coram fortemente pelo azul de toluidina, devido às suas propriedades metacromáticas (Junqueira e Carneiro, 2008).

Os mastócitos são a terceira célula mais comum da derme, podendo ser encontrados junto das vénulas pós-capilares. A concentração de mastócitos é variável, podendo atingir 60 mastócitos por campo ótico de grande ampliação, dependendo da zona do corpo de onde provém a amostra da derme analisada (Souza *et al.*, 2009).

1.1.2. Origem, diferenciação e função biológica

Os mastócitos fazem parte de um conjunto de mecanismos imunológicos, humorais e celulares, desempenhando uma função parácrina (Bensignor *et al.*,

1996a). Estes têm a sua origem em células precursoras hematopoiéticas da medula óssea (células estaminais CD34+). Enquanto células imaturas, circulam no sangue e maturam pela ação de citocinas específicas em duas populações distintas (Junqueira e Carneiro, 2008):

- Mastócitos da mucosa - presentes na mucosa intestinal e nos pulmões. Aquando da diferenciação das populações de mastócitos são regulados por várias interleucinas que derivam das células T.

- Mastócitos do tecido conjuntivo - presentes na cavidade peritoneal e na pele, e cuja diferenciação é induzida pelo *stem cell factor* (SCT, ligando do c-kit), interleucinas (ILs)-3, 4, 5 e 9, e pelo fator de crescimento nervoso (NGF) (Brown *et al.*, 2008).

O fator mais importante para a diferenciação dos mastócitos é a relação entre o recetor de membrana c-kit e o seu ligando SCT (Huang *et al.*, 1990). Este fator não só intervém na diferenciação dos mastócitos, como também na sua sobrevivência e proliferação (Nilsson *et al.*, 1994).

Como células de ação parácrina, os mastócitos desempenham múltiplas funções fisiológicas de grande importância, tais como sentinela dos processos inflamatórios, resposta imunológica inata, adquirida e participação nas reações auto-imunes (Misdorp, 2004; Withrow *et al.*, 2013, Junqueira & Carneiro, 2013). Os mastócitos apresentam vários recetores na superfície com ação estimuladora e inibidora, preparando-os para responder a vários estímulos (Tizard, 2009). Entre estes recetores encontram-se: recetores de afinidade IgE, recetores de SCF (c-kit), IgG (CD64, CD16), recetores de neuropéptidos, opioides, proteínas de complemento e recetores *toll-like* (TLR 1, 2, 3, 4, 6, 7 e 9). Dependendo do tipo de estimulação dos TLR são libertados diferentes mediadores, de modo a que os mastócitos distingam os diferentes agentes patogénicos e gerem respostas específicas (libertação de citocinas, mediadores de inflamação ou quimiocinas) (Tizard, 2009).

1.2. Mastocitoma

O mastocitoma (MTC) é uma neoplasia maligna da derme (mastocitoma cutâneo - MTCC) ou do tecido subcutâneo (mastocitoma subcutâneo - MTSC), que se caracteriza pela proliferação descontrolada dos mastócitos (Blackwood *et al.*, 2012). Os mastócitos são as únicas células de origem hematopoiética que passam a maior parte da sua vida nos tecidos. O número de mastócitos dos tecidos é, normalmente,

constante (Garriga *et al.*, 1988), sendo regulado em grande parte pelo SCF, que mantém um equilíbrio entre o número de mastócitos provenientes dos precursores hematopoieticos e o número de mastócitos que vão morrendo (Metcalf *et al.*, 1995). O aumento do número de mastócitos é, habitualmente, acompanhado por uma disfunção multissistêmica importante (Metcalf *et al.*, 1995).

1.2.1. Epidemiologia

1.2.1.1. Incidência

O MTC é considerado por vários autores como a neoplasia maligna mais comum em cães, representando entre 13,5% a 20% das neoplasias cutâneas (Hottendorf & Nielsen, 1968; Patnaik *et al.*, 1984; Simoes *et al.*, 1994; Dobson & Scase, 2007; Silva *et al.*, 2014; Fonseca-Alves *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2015).

1.2.1.2. Localização

As regiões do corpo mais frequentemente afetadas pelo MTC são o tronco e a região inguinal (Hottendorf & Nielsen, 1966; Dobson & Scase, 2007; Silva *et al.*, 2014). Alguns autores dividem as regiões da seguinte forma: tronco, região perineal e genital em 55% dos casos (Furlani *et al.*, 2008), membros em 25% dos casos (Govier, 2003), e cabeça e tábua do pescoço com menor incidência (10 a 16% dos casos) (Kiupel *et al.*, 2005).

1.2.1.3. Raça

Existe predisposição racial para o desenvolvimento desta patologia. Entre as raças mais comumente afetadas encontram-se: Boxer (Furlani *et al.*, 2008; Pukay, 1984, Silva *et al.*, 2014; Fonseca *et al.*, 2015), Boston Terrier, Buldogue Inglês (Simoes *et al.*, 1994), Labrador, Cocker Spaniel, Golden Retriever, Shar-Pei e Teckel (Deleck *et al.*, 2008). Embora o Boxer seja a raça com maior predisposição, normalmente estes animais desenvolvem mastocitomas de grau I ou II de Patnaik (Bostock, 1986). Apesar da predisposição, observa-se uma elevada prevalência de MTC em animais sem raça determinada (SRD) (Welle *et al.*, 2008; Warland & Dobson, 2013).

1.2.1.4. Idade

Existe uma predisposição para o desenvolvimento do MTC em cães seniores (8 e 9 anos de idade, em média) (Patnaik, 1984; Simoes *et al.*, 1994; Dobson & Scase, 2007, Silva *et al.*, 2014). Os animais seniores têm, por norma, o sistema imunitário mais debilitado, falhando na vigilância e permitindo o desenvolvimento de neoplasias

(Withrow & Vail, 2006). Apesar desta predisposição, esta neoplasia pode surgir em qualquer idade.

1.2.1.5. Género

Apesar dos vários estudos realizados, nenhum deles provou a existência de uma relação entre o género do animal e a predisposição para o desenvolvimento desta doença (Patnaik, 1984; Nelson & Couto, 2015; Silva *et al.*, 2014).

1.2.2. Etiologia

A etiologia do MTC é, ainda, desconhecida (Pukay, 1984; Fonseca *et al.*, 2005). No entanto, devido à existência de uma clara predisposição racial, pensa-se que pode ter uma componente genética associada (Fonseca *et al.*, 2005). Outros autores sugerem que o desenvolvimento desta doença é de origem multifatorial (Shoop *et al.*, 2005). Os MTCs parecem derivar de uma sobreexpressão ou mutação do gene C-KIT que controla a sobrevivência, maturação, proliferação, migração, desgranulação e apoptose dos mastócitos (Casagrande *et al.*, 2013; Fonseca-Alves, 2015). Mutações no C-KIT e diferentes expressões da proteína KIT têm sido associados a um pior prognóstico e a mastocitomas de grau II e III de Patnaik (Webster *et al.*, 2006; Casagrande *et al.*, 2013). Após um estudo aprofundado deste recetor, sabe-se que ocorrem duplicações internas em tandem (DIT) nos exões 11 e 12, mutações no domínio justamembranar que levam à ativação do recetor KIT na ausência de um ligando. As DIT ocorrem mais frequentemente em neoplasias não diferenciadas e estão relacionadas com um risco aumentado de metastização e recidiva (London *et al.*, 2009; Sledge *et al.*, 2016).

Embora tenham sido descritos poucos casos de MTCs associados a dermatites crónicas ou cicatrizes, alguns autores sugerem que as inflamações cutâneas crónicas podem ser responsáveis pelo desenvolvimento do mastocitoma (Hottendorf & Nielsen, 2010).

1.2.3. Apresentação clínica e características macroscópicas

Os MTCs são conhecidos como os “grandes imitadores”, pois podem mimetizar outras lesões (Murphy, 2007). Os MTCCs e os MTSCs têm uma aparência macroscópica muito variável. Usualmente apresentam-se como nódulos únicos. Na maioria dos casos, os nódulos múltiplos ou satélite surgem como recidivas em animais que já padeceram desta patologia (Sledge *et al.*, 2016). Os MTCCs provocam uma protuberância na pele, mas não penetram na derme e raramente ulceram (Kiupel,

2017). Alguns autores referem que lesões únicas, de crescimento lento, sem ulceração e com zonas de alopecia são sugestivas de MTCC bem diferenciado. Os MTCCs pouco diferenciados apresentam-se, na maioria das vezes, como lesões de crescimento rápido, pruríticas e ulcerativas, podendo ainda apresentar lesões satélite na periferia (Blackwood *et al.*, 2012; London & Thamm, 2013). A superfície de corte varia de branca a amarela clara, mas a sua cor e a consistência dependem do grau de desgranulação dos mastócitos e da existência, ou não, de inflamação secundária (Hendrick *et al.*, 1998; Goldschmidt & Hendrick, 2002). Quanto ao tamanho, este pode variar de alguns milímetros a vários centímetros (Gross *et al.*, 2005), medindo menos de 3 cm em 56% dos casos (Bensignor *et al.*, 1996a). A presença de nódulos ulcerados e hemorrágicos é frequente em neoplasias de grandes dimensões (Goldschmidt e Hendrick, 2002).

Os MTSCs são habitualmente de consistência mole, polposa e podem ter aspeto similar a lipomas. Histologicamente, localizam-se no tecido subcutâneo e estão, habitualmente, rodeados de tecido adiposo. A maioria está subjacente à derme e epiderme (Kiupel, 2017).

1.2.4. Fisiopatologia e sinais paraneoplásicos

O MTC encontra-se frequentemente associado a sinais clínicos sistémicos. Por vezes, estas síndromes paraneoplásicas são mais graves e urgentes do que a neoplasia primária (Fox, 2002; Rhodes & Werner, 2011). Assim, as patologias mais frequentemente associadas a síndrome paraneoplásica do MTC incluem: inflamação e úlceras gastroduodenais pela libertação de grandes quantidades de histamina presente nos grânulos dos mastócitos, coagulopatias, comprometimento vascular e atraso do processo de cicatrização pela libertação de heparina (Lemarié & Hedlund, 1995; Blackwood *et al.*, 2012; Kiupel, 2017).

A elevada morbilidade dos MTCs baseia-se no facto de um mastócito normal ter 25 a 50 vezes menos histamina do que um mastócito paraneoplásico (Macy & MacEwen, 1989). Por esta razão, Ishigura *et al.* (2003), formularam uma teoria que defende que uma boa forma de monitorizar a progressão da doença é ter em conta os níveis plasmáticos de histamina em cães. A hiperhistaminemia parece ser mais frequente em animais com mastocitomas não diferenciados e sugere-se que possa levar à ocorrência de choques anafiláticos e de síncope devido à hipotensão (Brown *et al.*, 2008). A elevada libertação de histamina pode estimular os recetores de histamina H2 que se encontram nas células parietais, promovendo o aumento da

secreção de ácido clorídrico, com consequente diminuição dos níveis de gastrina e hipermotilidade gástrica (Howard *et al.*, 1969; Kiupel, 2017), o que pode originar o aparecimento de emese, hematemese, diarreia, melena, anorexia e anemia. Em muitos casos, são estes os sinais que levam os tutores a uma consulta, sem que tenham dado pelo aparecimento de uma massa ou associado a massa ao aparecimento destes sinais (O'Keefe, 1990; Rogers, 1993).

A metastização de uma neoplasia primária pode estar relacionada com o grau histológico, uma vez que, aparentemente, quanto maior o grau histológico maior a probabilidade de metastização. Numa fase inicial surge infiltração nos linfonodos responsáveis pela drenagem da região do corpo onde se encontra o mastocitoma. Posteriormente, ocorre infiltração do baço e do fígado. Embora outros órgãos possam ser afetados, um estudo recente refere que não há evidências de que os MTCs metastizem nos pulmões (Warland *et al.*, 2012). Existem também relatos de eosinofilia em cães com MTCs disseminados, como consequência do aumento da produção de IL-2 e IL-5, e casos de glomerulonefrite (Kruger *et al.*, 1996).

1.2.5. Diagnóstico

Como em qualquer situação clínica, a realização de um exame físico completo é de elevada importância. Considerando que os MTCs são de fácil metastização, é essencial fazer uma avaliação completa do animal e verificar a existência de nódulos, dando especial atenção aos linfonodos, sobretudo aos responsáveis pela drenagem da região onde se encontra o nódulo (Cian & Freeman, 2007).

Após a realização de um exame físico minucioso, a primeira abordagem diagnóstica consiste na punção do nódulo para análise citológica, por punção aspirativa por agulha fina (PAAF) (Miller *et al.*, 2013). A PAAF é o método de diagnóstico de mastocitomas mais usado em Medicina Veterinária (Pedraza, Grandi & Rocha, 2011).

Os MTCs esfoliam facilmente e como possuem grânulos metacromáticos são facilmente identificados utilizando os corantes azul de toluidina e Giemsa (Welle *et al.*, 2008). No caso dos mastócitos serem muito granulares, dificultando a observação do núcleo, pode utilizar-se a coloração de hematoxilina e eosina (H&E) (Ressel & Finotello, 2017). Em contexto clínico, a coloração mais utilizada é o Diff-Quick que pode não corar os grânulos, dificultando a correta identificação dos mastócitos. Assim, o MTC pode ser confundido com outra neoplasia das células redondas, como o

histiocitoma ou o linfoma. Esta situação pode ser contornada através do aumento do tempo de fixação para um minuto (Meuten, 2002; Withrow *et al.*, 2013).

Camus *et al.*, em 2016, propôs um novo sistema de graduação citológica, que se baseia no sistema de graduação histológica de Kiupel (abordado mais à frente), no qual os mastocitomas são considerados de alto grau se apresentarem baixa granulação ou dois dos quatro critérios seguintes: presença de figuras mitóticas, binucleação/multinucleação, anisocariose acentuada (>50%) ou pleomorfismo nuclear (Camus *et al.*, 2016). Contudo, este sistema de graduação não é consensual uma vez que existem muitas limitações na graduação citológica, entre elas: o baixo número de células que se conseguem avaliar por 10 campos de grande ampliação comparativamente com a histologia, mesmo em amostras com grande celularidade, a distribuição desigual de figuras mitóticas, células multinucleadas ou com núcleos bizarros no tumor, podendo levar a erros de amostragem aleatória mais elevados na citologia do que na histologia (Hergt *et al.*, 2016). Num estudo realizado por Hergt *et al.*, em 2016, concluiu-se que a melhor concordância entre citologia e histologia conseguiu-se através do critério de cariomegalia, não se observando a relação relativamente à presença de núcleos bizarros. O estudo mostrou que este sistema de graduação citológica não apresenta melhorias quando comparado com o sistema de graduação histológica de Kiupel, tendo um valor preditivo positivo para a identificação precisa de mastocitomas de alto grau por PAAF de 68,2% (Hergt *et al.*, 2016; Sledge *et al.*, 2016; Shaw *et al.*, 2017). No entanto, deve referir-se que este sistema de graduação citológica pode fornecer informações úteis para a tomada de decisões clínicas (Hergt *et al.*, 2016; Sledge *et al.*, 2016; Shaw *et al.*, 2017). Verificou-se, também, uma taxa mais elevada de falsos positivos na citologia do que na histologia, podendo dar origem a uma abordagem cirúrgica mais agressiva do que o necessário (Mutz *et al.*, 2017; Shaw *et al.*, 2017).

Os sistemas de Patnaik (Patnaik *et al.*, 1984) e de Kiupel (Kiupel *et al.*, 2011) são os mais utilizados para a classificação do grau histológico de MTCs. Estes sistemas são importantes na determinação do prognóstico da doença, pelo que serão descritos em detalhe no tópico prognóstico.

1.2.6. Estadiamento clínico

O estadiamento do MTC assenta em três princípios: obtenção de um diagnóstico definitivo da lesão, avaliação da presença ou ausência de metástases e

avaliação do estado geral do paciente, incluindo a avaliação da presença de síndrome paraneoplásica (Rogers, 1996).

A realização de exames complementares de diagnóstico é essencial para avaliar a disseminação da doença. Assim, para um correto estadiamento clínico deve proceder-se à realização de citologias do gânglio locorregional, ecografia abdominal, análises sanguíneas e urianálise. O conhecimento do padrão de drenagem dos linfonodos é essencial para assegurar o rastreio de todos os linfonodos satélites (North & Banks, 2009). A presença de mastócitos é comum nos linfonodos. No entanto, nos casos de metastização é habitual a observação de agregados de mastócitos neoplásicos. Em caso de dúvida, os linfonodos possivelmente afetados devem ser removidos e avaliados por histopatologia (Thamm *et al.*, 1999; Camps-Palau *et al.*, 2007).

Perante um caso de MTC de elevado grau histológico ou com critérios biológicos agressivos, devem realizar-se citologias do baço e do fígado, radiografias ao tórax e citologia da medula óssea (Finora *et al.*, 2006; Book *et al.*, 2011). A radiografia torácica permite o diagnóstico precoce de doenças concomitantes, como massas mediastínicas, doenças cardiopulmonares e derrame pleural, que possam impossibilitar algum dos tratamentos a instituir (Blackwood *et al.*, 2012).

A técnica de observação de esfregaços do “Buffy-coat” para determinar o envolvimento sistémico em cães com mastocitomas cutâneos não é consensual entre autores, pois a presença de mastócitos no sangue periférico é mais comum em situações de inflamação ou infeção, como por exemplo nos casos de pancreatite, parvovirose, pneumonia e afeções gastrointestinais, do que nos casos de mastocitomas (Welle *et al.*, 2008). No entanto, esta técnica é utilizada em gatos com mastocitomas esplénicos e que tenham sido submetidos a esplenectomia, pois após a esplenectomia há uma redução significativa dos mastócitos em circulação. O aumento do número de mastócitos em circulação pode sugerir uma progressão da doença nesta espécie (Garrett *et al.*, 2007).

A citologia da medula óssea é raramente utilizada, pois a infiltração da medula é rara, sendo quase sempre observada em animais com recidivas ou na progressão da doença (Marconato *et al.*, 2008).

O sistema proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para mastocitomas é o principal sistema utilizado para o estadiamento do mastocitoma canino (Owen, 1980) (Tabela 1).

Tabela 1. Sistema de estadiamento clínico para mastocitomas proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Adaptado de: London & Thamm, 2013.

Estadio	Descrição
I	Neoplasia restrita à derme, sem envolvimento do linfonodo regional 1. Sem sinais sistêmicos 2. Com sinais sistêmicos
II	Neoplasia restrita à derme, com envolvimento do linfonodo regional 1. Sem sinais sistêmicos 2. Com sinais sistêmicos
III	Neoplasias dérmicas múltiplas, neoplasias infiltrativas de grandes dimensões, com ou sem envolvimento dos linfonodos regionais 1. Sem sinais sistêmicos 2. Com sinais sistêmicos
IV	Qualquer neoplasia com metástases à distância ou recorrente com metástases, incluindo possível envolvimento da medula óssea, sangue periférico ou linfonodos

1.2.7. Prognóstico

O prognóstico do mastocitoma baseia-se na avaliação de diversos fatores, tais como: localização, tamanho e aparência da neoplasia, grau histológico e marcadores de proliferação celular.

1.2.7.1. Localização, tamanho e aparência da neoplasia

Os MTCCs ulcerados com prurido ou eritematosos, assim como os de tamanho superior a 3 cm, estão associados a pior prognóstico (Thamm *et al.*, 1999; Mullins *et al.*, 2006). Os MTCCs de crescimento lento que não apresentem alterações de tamanho e aspeto há mais de sete meses têm melhor prognóstico (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008). MTCs que metastizem para o fígado, o baço, o intestino ou a medula apresentam pior prognóstico, diminuindo muito o tempo de sobrevivência do animal (Takahashi *et al.*, 2000; Marconato *et al.*, 2008). Independentemente do seu

grau histológico, as lesões na região da cabeça apresentam pior prognóstico, quando comparadas com as lesões dos membros ou do tronco (Dobson & Cohen, 2007).

Os MTSCs têm sido associados a um melhor prognóstico. Estes apresentam uma taxa de metastização de aproximadamente 4% e uma taxa de mortalidade inferior a 10% (Thompson *et al.*, 2011a).

1.2.7.2. Grau histológico

O grau histológico é utilizado há décadas para prever o comportamento biológico das neoplasias, constituindo o fator de prognóstico mais relevante nos MTCs (Patnaik *et al.*, 1984; Webster *et al.*, 2008). A presença de metastização à distância no fígado e/ou no baço diminui drasticamente o tempo médio de sobrevivência (TMS) dos animais (Stefanello *et al.*, 2009), reduzindo-o para metade (Book *et al.*, 2011). A avaliação do grau histológico também é importante na seleção do tratamento a instituir (Goldschmidt & Hendrick, 2002).

Como referido anteriormente, os sistemas de Patnaik (Patnaik *et al.*, 1984) e de Kiupel (Kiupel *et al.*, 2011) são os mais utilizados para a classificação do grau histológico de MTCs (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Classificação histológica representativa dos mastocitomas cutâneos caninos adaptada de Patnaik *et al.* (1984).

Grau I	- Mastócitos bem diferenciados, restritos à derme superficial ou profunda, agrupados em "clusters" ou cordões. - Células redondas com citoplasma bem diferenciado com grânulos médios, núcleo redondo e cromatina condensada, ausência de mitoses, edema ou necrose ausentes. - Normalmente com zona de alopecia, lesão única e de crescimento lento. - Metastização em apenas 10% dos casos (Patnaik <i>et al.</i>, 1984; Blackwood <i>et al.</i>, 2012).
Grau II	- Diferenciação intermédia. Neoplasia com invasão moderada e muito celularizada da derme profunda, tecido subcutâneo e muscular. - Células redondas a ovais, com algum pleomorfismo, células binucleares raras. - Citoplasma bem diferenciado na maioria das células. Grânulos de maior diâmetro e hipercromáticos, misturados com grânulos finos e quase impercetíveis. - Núcleo redondo com cromatina dispersa, núcleo duplo em algumas células. Figuras mitóticas raras (0 a 2 por campo ótico).

	- Metastização em 5% a 22% dos casos.
Grau III	- Pouco diferenciado e de crescimento rápido, possível ulceração, prurítico e presença de nódulos satélite/metástases. - Sintomatologia sistêmica presente (linfadenomalia e sinais gastrointestinais). - Altamente infiltrativo da derme profunda, tecido subcutâneo, tecido muscular e tecidos adjacentes. - Citoplasma indistinto, núcleo redondo com um ou mais nucléolos protuberantes, 3 a 6 mitoses por campo ótico. Presença de células gigantes e multinucleadas, edema, necrose e/ou hemorragia frequentes.

Devido à subjetividade do sistema proposto por Patnaik *et al.*, Kiupel *et al.* (2011) propuseram um novo sistema para a classificação histológica dos MTCCs, dividindo-os apenas em grau I (grau baixo) e grau II (grau alto) (Tabela 3). Quando comparado com o sistema de Patnaik *et al.* (1984), o sistema proposto por Kiupel *et al.* (2011) veio trazer consistência e maior assertividade no prognóstico e na possibilidade de aparecimento de metástases (Kiupel *et al.*, 2011; Sledge *et al.*, 2016).

Tabela 3. Classificação histológica dos mastocitomas cutâneos caninos proposta por Kiupel *et al.* (2011).

Grau I (baixo)	- Bem diferenciado, melhor prognóstico (crescimento lento, menor probabilidade de aparecimento de lesões satélite ou metástases). Esperança média de sobrevida de 2 anos. - Observam-se menos de 7 figuras mitóticas, menos de 3 células multinucleadas, menos de 3 núcleos pleomórficos por campo ótico. - Cariomegalia presente.
Grau II (alto)	- Pouco diferenciado, evolução mais rápida (aparecimento de metástases ou de novas massas), pior prognóstico e menor tempo de sobrevida (4 meses). - Observam-se 7 ou mais figuras mitóticas, 3 ou mais células multinucleadas, 3 ou mais núcleos pleomórficos por campo ótico. - Cariomegalia presente.

Os MTSCs devem ser categorizados separadamente dos MTCCs e o prognóstico também depende disso. Os MTSCs não são encapsulados, a maioria é infiltrativa, alguns são bem circunscritos e muitos são a combinação destes dois modelos (Thompson *et al.*, 2011).

Até há pouco tempo, os MTSCs não eram analisados separadamente dos MTCCs, sendo classificados por muitos como MTCC de grau II de Patnaik com base na escala de graduação dos MTCCs (Patnaik *et al.*, 1984; Gross *et al.*, 2005). Não é usada uma escala de graduação dos MTSCs, mas mais de 90% dos MTSC são benignos e são controláveis apenas pela excisão cirúrgica (Newman *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2011a). No entanto, num estudo de Thompson *et al.* (2011a), 10% dos cães com esta doença morreram devido a problemas associados a estas neoplasias, 11% desenvolveram um segundo MSTSC, num local distante do primeiro, 8% dos animais apresentaram recidivas e 5% metástases.

1.2.8. Marcadores de proliferação celular

A localização, o tamanho, a aparência da neoplasia e a sua avaliação histológica podem não ser suficientes para prever o comportamento biológico de um mastocitoma ou a sua resposta a determinado tratamento. Assim, têm sido estudados marcadores de proliferação específicos, de modo a obter um prognóstico mais assertivo (Vascellari *et al.*, 2013; Garrett, 2014).

1.2.8.1. Regiões organizadoras nucleolares (AgNOR)

As regiões organizadoras nucleolares (AgNORs) são associações de proteínas nucleares com subestruturas nucleolares, envolvidas por RNA ribossomal e que demonstraram ter um bom valor prognóstico do comportamento biológico da neoplasia. A contagem das AgNORs é uma forma indireta de avaliar a proliferação celular (Webster *et al.*, 2007). Foi demonstrado que um maior número de AgNORs por núcleo poderá estar associado a um pior prognóstico (Rech *et al.*, 2004) e, que quanto menor o seu índice, menor a probabilidade de recidiva (Sledge *et al.*, 2016).

1.2.8.2. Ki-67

O Ki-67 é uma proteína celular que está presente durante as fases ativas do ciclo celular (Webster *et al.*, 2007; Vascellari *et al.*, 2013). A expressão desta proteína está directamente relacionada com a capacidade proliferativa da neoplasia podendo, por isso, se usada como fator de prognóstico independentemente do grau histológico (Scase *et al.*, 2006). Assim, a identificação do Ki-67 no núcleo é um indicador de proliferação celular (Webster *et al.*, 2007). Níveis elevados desta proteína relacionam-se com elevadas taxas de mortalidade, de recidiva e de metastização. A avaliação de Ki-67 tem-se mostrado mais exata do que a contagem de AgNORs na previsão da taxa de mortalidade em animais com MTCC e MTSC (Webster *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2011).

Um estudo de Scase *et al.* (2006), sobre o valores de Ki67 (% de células neoplásicas que expressam Ki67) em MTCCs de grau II inferiu que para um Ki-67 com valor de *cut-off* <1,8, 90% dos animais estavam vivos após um ano e 77% após 3 anos, enquanto que para um índice de marcação >1,8 apenas 43% dos animais estavam vivos e 21% após 3 anos. Outro estudo refere, ainda, que a mortalidade é até 8 vezes superior em cães com MTCCs com um índice de Ki-67 ≥ 10.6 , comparativamente a animais que apresentavam valores inferiores (Vascellari *et al.*, 2013).

1.2.8.3. Índice mitótico

O índice mitótico (IM) é o número de mitoses observadas por 10 campos óticos, numa ampliação de 400x (Blackwood *et al.*, 2012; Garrett, 2014). A avaliação do IM constitui uma forma simples e indireta de avaliar a proliferação celular (Romansik *et al.*, 2007). Este é o marcador mais estudado e usado, estando incluído no relatório histopatológico de muitos laboratórios. No entanto, não reflete a fração do crescimento total (Sledge *et al.*, 2016; Krick *et al.*, 2017). Uma contagem mitótica elevada está associada a um pior prognóstico, tendo sido publicados diferentes valores *cut-off* por dois estudos diferentes. Um dos estudos associou a diminuição do tempo médio de sobrevida nos MTCCs com a presença de >5 mitoses por 10 campos óticos (Romansik *et al.*, 2007), enquanto outro estudo diz que o IM associado a pior prognóstico é de ≥ 7 (Kiupel *et al.*, 2011). Atualmente não há concordância sobre o valor de referência que deve ser estabelecido para diferenciar MTCCs de baixo grau dos de alto grau de metastização, recorrência local e tempos de sobrevida (Krick *et al.*, 2017). No entanto, um IM com valor *cut-off* de 7 tem sido proposto como parte do novo sistema de graduação de MTCC caninos (Kiupel *et al.*, 2011).

A avaliação do IM apresenta uma vantagem quando comparada com a avaliação das AgNORs e do Ki-67, pois não precisa de técnicas de coloração especial, sendo apenas usada a coloração de H&E.

Thompson *et al.* (2011) avaliaram a correlação entre o grau histológico, o IM, o tempo de sobrevida e o desenvolvimento de metástases em MTCCs e MTSCs, e concluíram que os mastocitomas de grau II apresentaram IM mais elevado e estão relacionados com tempos de sobrevida reduzidos.

1.2.8.4. Expressão imunohistoquímica do C-KIT

O conhecimento do padrão de expressão imunohistoquímica do C-KIT é importante para complementar os fatores de prognóstico já abordados, pois a sua

localização citoplasmática pode estar relacionada com um aumento da proliferação celular, independentemente do grau histológico (Webster *et al.*, 2006; Webster *et al.*, 2008).

1.2.8.5. IM, Ki-67 e AgNOR's uma análise conjunta no MTC

Num estudo recente, que contou com 306 cães, foi demonstrado que a maioria dos MTCs não apresenta um comportamento agressivo, e que o IM pode ser considerado um fator de prognóstico e tempo de sobrevivência, tempo de recidiva, e tempo de aparecimento de metástases (Thompson *et al.*, 2010). No entanto, o IM não deve ser usado isoladamente como fator de prognóstico, uma vez que depende da seleção do campo, do plano de secção, do diâmetro de campo, da intensidade dos grânulos citoplasmáticos e da presença de necrose/células em apoptose. Todas estas variáveis contribuíam para o desacordo inter-observador. Além destes fatores, o IM deteta apenas células que estão em mitose. Um estudo indica que o índice mitótico e a expressão de Ki67 permitem aferir com eficácia o tempo de sobrevida independentemente do grau (Berlato *et al.*, 2013).

Assim, foram feitos diversos estudos que avaliaram o uso de auxiliares de proliferação celular como o Ki-67 (Abadie *et al.*, 1999; Scase, 2006), AgNOR (Bostock *et al.*, 1989; Kravis *et al.*, 1999; Scase *et al.*, 2006) que juntos avaliam não só o número de ciclos das células como também a taxa de progressão de cada ciclo, fornecendo uma melhor análise do crescimento da neoplasia.

1.2.9. Tratamento

O tratamento a implementar depende da localização da neoplasia, do grau histológico, do estadio clínico e da presença de doenças concomitantes (Couto, 2006).

1.2.9.1. Excisão cirúrgica

A excisão cirúrgica é o tratamento de eleição do MTC (Kiupel, 2017). É importante perceber se o tratamento local é suficiente, ou se é necessária a administração de tratamento adjuvante para o controlo/prevenção da metastização sistémica (London & Thamm, 2013).

Até há, relativamente, pouco tempo, as margens da excisão deviam ser amplas, com pelo menos 3 cm, e com uma fáscia muscular (Govier, 2003). No entanto, há evidências de que uma margem de 2 cm e uma fáscia muscular é suficiente para a excisão total da maioria dos MTCs de grau I ou II, devendo adaptar-se as margens ao grau histológico do MTC (Simpson *et al.*, 2004, Fulcher *et al.*, 2006). A maioria dos MTCs é recomendada para cirurgia apenas com diagnóstico por

citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), não sendo conhecido o seu grau histológico (Risselada *et al.*, 2015).

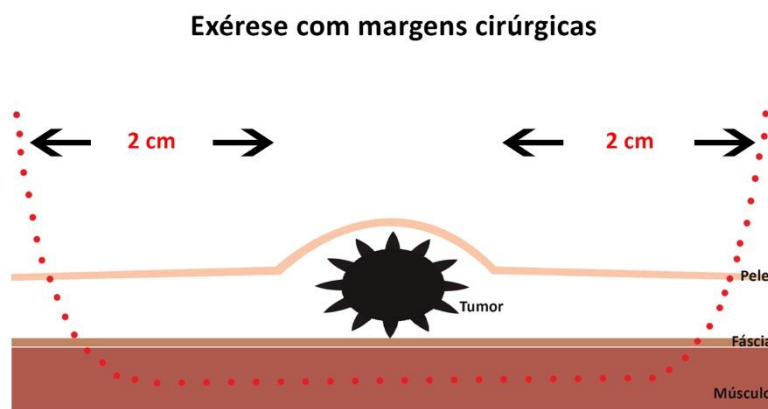


Figura 1. Excisão de um mastocitoma com margens de 2 cm de cada lado, incluindo uma fáscia muscular. Adaptado de: North & Banks, 2009.

No caso de haver evidência ou suspeita de metastização, além da exérese do nódulo com amplas margens cirúrgicas, deve fazer-se a exérese do linfonodo regional (Krick *et al.*, 2009). No entanto, está descrito que a excisão cirúrgica do mastocitoma sem amplas margens cirúrgicas e com metastização do linfonodo regional, conduz a um aumento significativo na sobrevida do animal (Miller *et al.*, 2014).

No caso de nódulos múltiplos, de grandes dimensões ou localizados nas extremidades, é recomendada a realização de uma biópsia incisional de forma a determinar o grau histológico e a planejar a cirurgia atempadamente. No caso de MTCs localizados nas extremidades, pode colocar-se a possibilidade de amputação do membro. Ainda que possa afetar o bem-estar ou a funcionalidade do animal no caso de cães de trabalho ou concurso, permite alcançar margens cirúrgicas completas e pode ser o tratamento economicamente mais viável para o proprietário (London & Thamm, 2013).

Considerando a elevada taxa de metastização no MTCC de grau III, as margens devem ser de 3 cm e deve ser aplicado um tratamento multimodal, que poderá incluir quimioterapia, radioterapia e inibidores de tirosina cinase (TKI's) (Thamm & Vail, 2007).

Durante a cirurgia, aquando da manipulação do MTC, pode ocorrer a libertação de enzimas proteolíticas e de heparina que podem aumentar o tempo de coagulação e atrasar a cicatrização da ferida cirúrgica (Hedlund, 2008). Após a

excisão da neoplasia, as margens deverão ser avaliadas por histopatologia, de modo a confirmar a ausência de células neoplásicas (Camus *et al.*, 2016; Hedlund, 2008).

1.2.9.2. Radioterapia

A radioterapia é muito eficaz no tratamento de MTC em animais, principalmente quando aplicada no período pós-cirúrgico, nos casos em que as margens cirúrgicas apresentem infiltração de mastócitos neoplásicos na análise histopatológica. A radioterapia está recomendada nos casos em que não é possível a excisão cirúrgica da neoplasia. Esta pode, também, ser aplicada no período pré-cirúrgico, com o objetivo de reduzir o tamanho da neoplasia, permitindo margens mais seguras na cirurgia (La Rue & Gillette, 2007). É também utilizada nos casos de remoção de linfonodos regionais metastizados não responsivos à quimioterapia (Donnelly *et al.*, 2013).

A radioterapia não deve ser usada isoladamente como método de tratamento, devido aos efeitos paraneoplásicos promovidos pela desgranulação dos mastócitos e pelo facto dos mastocitomas de grandes dimensões terem uma maior probabilidade de serem radio-resistentes (Dank, 2016).

A radioterapia é dispendiosa para os tutores, exige manipulação por pessoal especializado e pode ser morosa nos casos de neoplasias múltiplas (Hoseya *et al.*, 2009).

1.2.9.3. Corticoterapia

Como glucocorticoide, a prednisolona exerce atividade citotóxica contra os MTCs e o seu uso está associado a um número limitado de efeitos adversos (Stanclift & Gilson, 2008). A prednisolona atua como uma hormona, ligando-se aos recetores de glucocorticoides do núcleo, promovendo uma diminuição do número de mastócitos e a sua morte (Takahashi *et al.*, 1997; Stanclift & Gibson, 2008). As doses descritas para o uso da prednisolona situam-se entre os 0,5 mg/Kg/dia e os 2,0 mg/Kg/dia, podendo ser administrada até à redução do nódulo para a realização da cirurgia ou como tratamento coadjuvante ao quimioterápico escolhido até ao fim da quimioterapia (Garrett, 2014).

1.2.9.4. Quimioterapia

A quimioterapia é muito utilizada como tratamento para a doença sistémica, nos casos em que os bordos cirúrgicos estão infiltrados por mastócitos neoplásicos,

para evitar recidivas, ou para diminuição do volume da neoplasia antes da cirurgia. A quimioterapia é também usada nos casos em que existem metástases nos linfonodos regionais ou mais distantes, ou nos casos em que não é possível realizar radioterapia, por não estar indicada ou acessível (Costa-Casagrande *et al.*, 2008; Welle *et al.*, 2008).

A quimioterapia está indicada no tratamento de neoplasias multicêntricas, de grau II ou III, doenças em estadió clínico avançado, e em neoplasias com alto índice de malignidade/agressividade. Pode também usar-se como tratamento paliativo em neoplasias metastáticas (Carlsten *et al.*, 2012).

A escolha do tipo de quimioterapia a instituir tem que ser pensada caso a caso, tendo em conta o grau do MTC, a toxicidade da substância ativa do citotóxico, e o estado físico e hemodinâmico do animal que a vai receber (London & Thamm, 2013).

Existem diversos protocolos de quimioterapia, sendo descritos abaixo os mais utilizados atualmente.

1.2.9.4.1. Protocolo de Vimblastina com Prednisolona

A vimblastina (VBL) é um fármaco citotóxico alcaloide que bloqueia a replicação celular, inibindo a polimerização das proteínas do fuso mitótico, sendo por isso um dos quimioterápicos mais usados no tratamento de MTCs (Bailey *et al.*, 2008).

O tratamento com VBL, em conjunto com a prednisolona, deve ser iniciado duas semanas após a remoção cirúrgica do nódulo. A prednisolona deve ser administrada por via oral (PO) na dose mais elevada mencionada anteriormente (2 mg/Kg/dia). A VBL deve ser administrada em bolus intravenoso (IV) de 2,0 mg/m², uma vez por semana, durante quatro semanas consecutivas. Após esta fase inicial, a VBL deve ser administrada quinzenalmente, durante quatro tratamentos. Durante o período de tratamento com VBL deve fazer-se a redução gradual da prednisolona, até ao final do tratamento (Thamm *et al.*, 2006; Webster *et al.*, 2008; Garrett, 2014).

Como efeitos adversos deste tratamento destacam-se toxicidade em 6 a 20% dos casos, com mielossupressão e sinais gastrointestinais (Thamm *et al.*, 2006). A taxa de resposta a este protocolo é de 47% (Thamm *et al.*, 2006; Dobson, 2010). A taxa de resposta aumenta em tratamentos com doses mais elevadas, com consequente aumento da toxicidade (Bailey *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2008).

1.2.9.4.2. Protocolo de Lomustina com Prednisolona

A lomustina (CCNU) é um composto alquilante da subclasse das nitrosureias. Este protocolo é, habitualmente, um tratamento de 2ª linha, após tratamento não efetivo com o protocolo de VBL com prednisolona (Rassnick *et al.*, 1999). A dose recomendada de CCNU é de 70-90 mg/m² a cada 21 dias, num total de quatro ciclos.

Os principais efeitos secundários deste tratamento são: hepatotoxicidade, mielossupressão e sinais gastrointestinais (Rassnick *et al.*, 1999; Dobson, 2010). Um estudo com 12 cães sujeitos a este protocolo reportou a morte de dois animais por hepatotoxicidade (Hosoya *et al.*, 2009).

Este tratamento apresenta uma taxa de resposta de 44%, segundo estudos realizados por Rassnick *et al.* (1999). Outros estudos demonstram que se for aplicado um protocolo de CCNU e VBL alternadamente (um tratamento a cada duas semanas, num total de 4 a 6 ciclos) em MTCC de grau II, está descrito um aumento da taxa de resposta para 57%. No entanto, existem relatos de toxicidade em 54% dos casos com aparecimento de mielossupressão (neutropenias) (Cooper *et al.*, 2009).

Um estudo posterior de Rassnick *et al.* (2010) embora tenha demonstrado resultados animadores - 17 cães sujeitos a este protocolo, em que 29% tiveram resposta completa e 35% resposta parcial - 33% dos animais sofreram mielossupressão (neutropenia severa) e 28% hepatotoxicidade.

1.2.9.4.3. Protocolo de Clorambucilo e Prednisolona

O clorambucilo é um antineoplásico pertencente à família dos alquilantes. Este atua sobre o ADN, impedindo assim a multiplicação das células neoplásicas.

Num estudo realizado por Taylor *et al.* (2009) foi usada a associação de clorambucilo e prednisolona em 23 cães com MTC, tendo sido observada uma resposta global de 38%, sem registos de toxicidade associada à sua administração. Este protocolo consiste na administração de clorambucilo 5 mg/m² PO a cada 48 horas e prednisolona 40 mg/m²/dia PO nos primeiros 14 dias, passando posteriormente para uma dose de 20 mg/m² PO a cada 48 horas.

1.2.9.4.4. Inibidores de Tirosina-cinase

As moléculas TKIs são inibidoras competitivas que bloqueiam, de forma reversível ou irreversível, o local onde o ATP se liga à cinase.

Uma vez que as mutações do recetor KIT têm um papel fundamental no aparecimento do MTC, existem dois fármacos para uso veterinário: fosfato de

toceranib (Palladia®) e mesilato de masitinib (Masivet®). No entanto, o fosfato de toceranib está não só licenciado para tratamento de MTCs, como também de carcinomas, sarcomas, melanomas e mielomas (London, 2009).

1.2.9.4.4.1. Fosfato de Toceranib

O fosfato de toceranib é um inibidor dos recetores da família “split-cinase”, incluindo o recetor para o fator de crescimento endotelial vascular 1 e 2 (VEGFR1 e 2), o recetor C-KIT e o recetor para o fator de crescimento derivado das plaquetas α e β (PDGFR α e β), tendo um largo espectro de ação (London, 2013).

Com uma atividade antineoplásica e anti-angiogénica direta (London *et al.*, 2003), este fármaco apresenta uma atividade clínica mais alargada e mais vantagens do que os TKIs que têm apenas como alvo os recetores angiogénicos. O tratamento com fosfato de toceranib consiste na administração de 2,75-3,25 mg/Kg PO a cada 48 horas, até à remissão completa do MTC (London *et al.*, 2009).

Um estudo publicado por London *et al.* (2009) refere uma resposta global de 42,8% utilizando apenas o fosfato de toceranib. Contudo, está confirmada a resistência progressiva a este medicamento, muito provavelmente devido a mutações, ao aumento de receptores KIT em relação à dose tolerável desta molécula ou à criação de novas vias de sinalização nas quais esta molécula não tem efeito (London *et al.*, 2009).

Como efeitos adversos estão relatados sinais gastrointestinais (diarreia e vômito), letargia, neutropenia e anorexia (Grant *et al.*, 2016).

1.2.9.4.4.2. Mesilato de Masitinib

O mesilato de masitinib é um inibidor do C-KIT. Este inibe os recetores tirosina-cinase de C-KIT, PDGFR α e β , e a cinase citoplasmática Lyn (London, 2009).

A dose recomendada é de 12,5 mg/Kg PO, uma vez por dia. Os efeitos secundários mais comuns são: hepatotoxicidade, proteinúria, anemia, hipoalbuminemia, neutropenia e efeitos gastrointestinais (Smrkovski *et al.*, 2013). A sua eficácia varia entre 25% e 61%.

Um estudo relatou a utilização de um protocolo de Mesilato de Masitinib com prednisolona e, embora os resultados relativos à resposta ao tratamento tenham sido animadores, com 38,5% de resposta completa e 43,6% de resposta parcial, foi reportada uma elevada toxicidade gastrointestinal e hepática (Grant *et al.*, 2016).

1.2.9.5. Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia consiste na administração sistêmica de Cisplatina (1 mg/m³) e na aplicação de carga elétrica por impulsos no nódulo em tratamento, de forma a promover a eletropermeabilização da membrana celular, tornando-a permeável à entrada das moléculas citotóxicas que vão promover a apoptose celular (Cemazar *et al.*, 2008; Kodre *et al.*, 2009).

Em Medicina Veterinária, existe um estudo no qual se conseguiu uma taxa de resposta completa de 62,5%, quatro a cinco semanas após a electroquimioterapia (Kodre *et al.*, 2009). Pode ser utilizada em MTCs isolados ou múltiplos, de graus II e III (Cemazar *et al.*, 2008).

1.2.9.6. Instilação de água desionizada

Alguns estudos descrevem a instilação de água desionizada no local da neoplasia primária, após exérese do nódulo. No entanto, esta técnica não é consensual. Brooks *et al.* (2008) levaram a cabo um estudo em que concluíram que o tratamento com solução hipotônica não diminui a taxa de recorrência e não aumenta a taxa de sobrevivência após a remoção cirúrgica de mastocitomas isolados.

Capítulo 2 - MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho teve como objetivos: estudar e descrever quatro casos clínicos de MTCCs em cães, e comparar os protocolos terapêuticos aplicados nos diferentes casos. A população em estudo abrange cães acompanhados nas consultas de oncologia e de cirurgia oncológica. Os dados foram recolhidos durante o acompanhamento das consultas, dos procedimentos cirúrgicos e de outros tratamentos realizados durante o período do estágio curricular.

No presente estudo foram incluídos todos os cães com MTCs diagnosticados por citologia ou histopatologia.

A recolha dos dados clínicos - resenha do animal, história pregressa e atual - foi feita sob supervisão dos Médicos Veterinários responsáveis pelas consultas. Todos os exames complementares de diagnóstico foram realizados com consentimento dos proprietários.

CAPÍTULO 3 - DESCRIÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS

3.1. Caso clínico 1

Resenha: Cão, não castrado, da raça Labrador Retriever, de cor amarela, com 11 anos de idade e 38,0 Kg de massa corporal.

História pregressa: O paciente vivia com os seus tutores desde os dois meses de idade, estava vacinado e desparasitado. O paciente apresentava história de uma massa no membro pélvico esquerdo (MPE), removida cirurgicamente há três anos. O animal foi sempre acompanhado noutro centro de atendimento médico-veterinário (CAMV). Os tutores referiram o aparecimento de um nódulo no mesmo local do anterior há aproximadamente um ano. O nódulo original não foi para análise histopatológica, mas os tutores referiram que tinha o tamanho aproximado de uma bola de ténis, não ulcerado. Após o aparecimento de novo nódulo, no local da cicatriz da primeira exérese, consultaram o médico veterinário habitual que desaconselhou a re-excisão do mesmo. O animal tinha história de possível osteoartrose nos MPs e os tutores referiram dificuldade em subir para o carro.

Exame físico e exames complementares de diagnóstico: No exame físico, o paciente apresentava uma condição corporal ideal (3/5). Estado mental alerta e temperamento dócil. Auscultação torácica e palpação abdominal sem alterações dignas de registo. Apresentava um nódulo no MPE dorsalmente ao joelho com cerca de 15 cm, de consistência mole, eritematoso, não ulcerado e sem edema do membro. Linfonodos regionais não palpáveis (linfonodo inguinal e poplíteo ipsilaterais). Apresentava, também, um nódulo cutâneo na região cervical ventral, com 1 cm de diâmetro, alopecico e ulcerado.

Como primeira abordagem diagnóstica, realizaram-se PAAF's a ambos os nódulos. Com estas citologias (Anexo 1 - Tabela I) obtiveram-se os diagnósticos de suspeita de MTCC de alto grau citológico no MPE (Figura 2), e quisto (com macrófagos e células epiteliais) na região cervical.

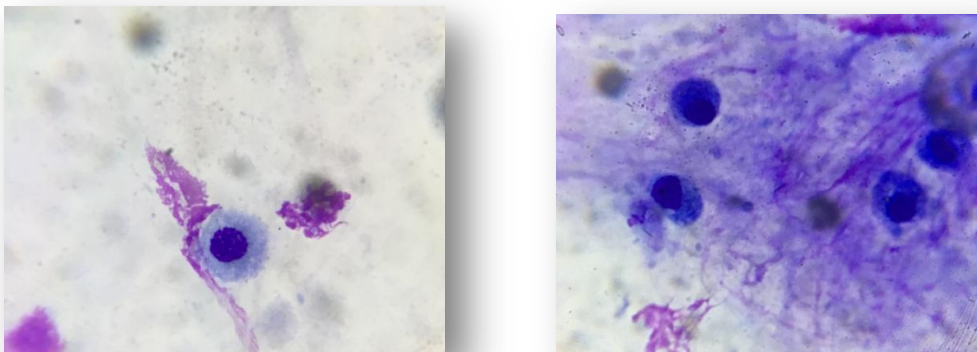


Figura 2. Mastócitos na citologia do nódulo do caso clínico 1 (originais da autora).

Recomendou-se a realização dos seguintes exames complementares para o estadiamento clínico do MTC.

Hemograma completo e análises bioquímicas: Anexo I (Tabelas II e III)

Hiperglobulinemia (7,1g/dl - Valores de referência - 2,2 - 3,5 g/dl), hiperproteinemia (9,4 g/dl – valores de referência - 4,7 - 6,9g/dl) e creatinina aumentada (3,4 mg/dl – Valores de referência - 0,8 - 1,4 mg/dl).

Ecografia abdominal com PAAF de fígado e baço:

A ecografia abdominal revelou esplenomegalia, subtilmente heterogênea, sem lesões nodulares, e prostatomegalia. Sem mais alterações dignas de registro.

O resultado da PAAF ao fígado revelou ser de uma amostra com boa celularidade e conteúdo hemático, observando-se apenas hepatócitos de aparência normal, não se observando quaisquer mastócitos. O resultado da PAAF ao baço revelou ser de uma amostra de fraca celularidade e conteúdo hemático, observando-se escassos precursores hematopoiéticos, não se observando quaisquer mastócitos.

Tratamento e evolução: Como tratamento neo-adjuvante, antes do procedimento cirúrgico, administrou-se uma dose de VBL (2mg/m², dose única) e iniciou-se a administração de prednisolona (0,5mg/kg SID) tendo-se verificado a remissão parcial do mesmo. Assim, depois de reavaliado o paciente, foi recomendada a excisão cirúrgica do MTC do MPE, com margens laterais de pelo menos 1 cm e um plano muscular, e linfadenectomia do gânglio poplíteo regional ipsilateral, com posterior análise histopatológica das peças.

O animal foi anestesiado seguindo o protocolo de pré-medicação metadona (0,3mg/Kg i.m.) e midazolam (0,2mg/Kg i.v.) com indução de propofol (4mg/kg i.v.) e manutenção com isoflurano. Conforme recomendado, procedeu-se à exérese do MTC do MPE com margens laterais de 2 cm e um plano muscular. Cirurgia com *flap*. Antes de se iniciar a sutura da ferida cirúrgica, foram trocadas as luvas, instrumentos cirúrgicos e panos de campo. O paciente teve alta com antibioterapia oral (10 dias) - amoxicilina e ácido clavulânico (25mg/Kg P.O. BID), omeprazol (1mg/Kg P.O. SID), loratadina (15mg/Kg P.O. SID) e prednisolona (2mg/Kg P.O. SID). A reavaliação foi agendada para quatro dias após a cirurgia.

Quatro dias após a cirurgia, o paciente apresentou-se à consulta confortável, mas com sensibilidade na zona da ferida cirúrgica. O *flap* encontrava-se viável na sua totalidade. As suturas foram retiradas 15 dias após a cirurgia.

O resultado da análise histopatológica revelou que se tratava de um MTSC infiltrativo. Na análise histopatológica foi descrito um nódulo subcutâneo com proliferação de mastócitos em toalha. As células apresentavam baixa atipia e não foram identificadas mitoses (IM=0). O número de eosinófilos entre as células era reduzido. Nas zonas em que foi possível identificar os limites da neoplasia, observou-se infiltração do estroma vizinho. A margem limpa em profundidade tinha 0,3 cm com camada muscular, mas sem margens laterais.

O paciente iniciou o protocolo VBL/prednisolona (bolus intravenoso (i.v.) de 2,0 mg/m² VBL, uma vez por semana, durante quatro semanas consecutivas, passando depois para administração quinzenal de VBL, durante mais quatro tratamentos e prednisolona na dose de 2 mg/Kg/dia PO, durante duas semanas, baixando-se posteriormente a dose para 1 mg/Kg/dia durante duas semanas, seguidamente diminuiu-se a frequência (dias alternados) mantendo a dose de 1mg/Kg a cada 48 horas até ao final do tratamento (8 tratamentos de VBL no total), um mês e uma semana após a cirurgia.

Antes de cada tratamento foi feito um hemograma de controlo, o exame físico e avaliado o *feedback* dos tutores em relação ao estado do paciente.

Na primeira sessão de tratamento o hemograma não apresentava alterações (tabela IV em Anexo I), e ao exame físico não apresentou alterações dignas de registo, não havendo sinais de recidiva no local da sutura. No período pós-administração IV da primeira sessão de tratamento com VBL, os tutores relataram não ter havido efeitos secundários.

Apenas após o segundo tratamento com VBL, o paciente demonstrou efeitos gastrointestinais (vômitos, diarreia e anorexia) que foram tratados com fluidoterapia e AB. Até ao final do tratamento com VBL não foram relatados, pelos tutores, mais episódios de efeitos secundários. No entanto, durante o tratamento quimioterápico o paciente experienciou possível cistite com hematúria que foi seguida e explorada com mais exames complementares de diagnóstico.

Seis semanas após o final do tratamento quimioterápico, o paciente apresentou-se à consulta de reavaliação oncológica. Não foram observadas alterações no local da sutura nem sinais de recidiva

Até à consulta de reavaliação oncológica, um mês depois, voltou a ter episódio de hematúria e cistite, realizou-se uma ecografia abdominal que revelou prostatomegalia, compatível com hiperplasia benigna da próstata, e espessamento da bexiga. Prescreveu-se acetato de oseterona (Ypozane®), na dose 0,25 mg/Kg PO 7 dias consecutivos, semestralmente.

O paciente voltou, ainda, para reavaliação um mês depois, um total de oito meses desde o diagnóstico, onde se constatou que continuava sem alterações nem evidências de recidiva. Não há mais registos na ficha desde essa data.

3.2. Caso clínico 2

Resenha: Cadela, cruzada de Labrador Retriever, 10 anos de idade, esterilizada, 34,0 Kg de massa corporal.

História pregressa: Animal vivia com o tutor desde cachorro, sem história pregressa de outras patologias, apresentou-se à consulta devido ao aparecimento de dois nódulos cutâneos. O tutor não conseguiu indicar a data de aparecimento dos mesmos. Um dos nódulos tinha ulcerado e sangrado há alguns dias.

Exame físico e exames complementares de diagnóstico: Ao exame físico, o animal apresentava condição corporal 4/5 (excesso de peso), estado mental alerta e temperamento dócil e amigável. Auscultação torácica e palpação abdominal sem alterações dignas de registro. O animal apresentava dois nódulos cutâneos. Um com 4,5 cm de diâmetro no membro torácico esquerdo (MTE) ulcerado e alopecico; e outro nódulo com 9 cm de diâmetro no MPE (na zona da coxa) alopecico. Linfonodos regionais não palpáveis. Como primeira abordagem diagnóstica realizaram-se PAAF's aos nódulos e radiografia torácica, para pesquisa de outros problemas que pudessem inviabilizar a abordagem terapêutica. Nesta consulta iniciou-se loratadina (5-15 mg P.O. SID), omeprazol (1mg/Kg P.O. SID) e prednisolona (2mg/Kg P.O. SID), tendo sido marcados os limites macroscópicos da lesão com um marcador. O plano seria instituir pelo menos 5 dias de prednisolona pré-cirurgia de forma a reduzir o tamanho dos nódulos para facilitar a excisão.

À radiografia não foram detetadas alterações dignas de registro.

A análise da citologia foi compatível com o aparente diagnóstico de MTCC de alto grau (correspondente a grau histológico II de Kiupel, Camus *et al.*, 2016), em ambos os nódulos.

Recomendou-se a realização de uma ecografia abdominal para estadiamento clínico, e realização de hemograma e análises bioquímicas. Uma vez que, posteriormente, na ecografia abdominal não foram detetados alterações compatíveis com metástases (Anexo II - Tabela VI), recomendou-se a excisão cirúrgica dos nódulos.

Hemograma e análises bioquímicas: Anexo II (Tabelas VII e VIII)

Hipoalbuminemia (1,8 g/dl – Valores de referência - 2,2 - 3,5 g/dl), e Trombocitose ($534 \times 10^9/l$ – Valores de referência - $200 - 460 \times 10^9/l$).

Seguiu-se, então, para cirurgia. No dia da cirurgia o tutor referiu que notava uma diminuição do tamanho dos nódulos. A anestesia seguiu o protocolo de pré-anestesia metadona (0,3 mg/Kg i.m.) e midazolam (0,2 mg/Kg i.v.), com indução de propofol (4 mg/Kg i.v.) e manutenção de isoflurano. Cirurgia excisional marginal do MTCC do MTE. E cirurgia excisional marginal do MTCC do MPE. Antes de se iniciar a sutura da ferida cirúrgica, foram trocadas as luvas, instrumentos cirúrgicos e panos de campo. As peças cirúrgicas foram enviadas para análise histopatológica.

O animal teve alta com loratadina e omeprazol (nas doses descritas anteriormente), e prednisolona que foi reduzida para 1mg/Kg PO SID, e amoxicilina e ácido clavulânico (25mg/Kg P.O. BID, 10 dias consecutivos). A primeira reavaliação pós-cirúrgica realizou-se quatro dias pós-cirurgia. A ferida cirúrgica encontrava-se a cicatrizar de forma adequada, o tutor fez desinfecção diária com clorexidina, além da medicação prescrita na alta.

Voltou para reavaliação aos oito dias pós-cirúrgicos: sutura do MPE continuava a cicatrizar bem, mas a sutura do MTE apresentava-se exsudativa. Manteve-se AB por mais cinco dias e marcou-se reavaliação para daí a oito dias. Nessa reavaliação retiraram-se as suturas do MPE, mas o MTE apresentava deiscência de pontos pelo que se colocaram dois agrafos e voltou-se à AB que já tinha cessado há três dias.

Resultados da análise histológica:
(Anexo II - Tabela IX)

MTE - MTCC - Alto grau de Kiupel, Grau III de Patnaik (12 mitoses por campo ótico, IM >10, margens laterais de 0,2 cm e sem margens em profundidade).

MPE - MTCC - Baixo grau de Kiupel, Grau II de Patnaik (não se observaram mastócitos mitóticos IM 0, margens laterais de 0,5 cm e de 1,5 cm em profundidade).

O tutor optou por não prosseguir com protocolo de quimioterapia ou radioterapia adjuvante. Pelo que se instituíram apenas consultas de reavaliação mensais.



Figura 3 - Novo nódulo detetado um mês após a cirurgia do caso clínico 2 (original da autora).

Na reavaliação oncológica de um mês pós-cirúrgico encontrou-se um novo nódulo, desta vez no membro torácico direito (MTD), com cerca de 3 cm de diâmetro, ao nível do antebraço, brando ao toque, sem aderências aos tecidos subjacentes, sem inflamação e não prurítico. O tutor optou por não fazer mais PAAF's. Dois meses após a cirurgia, a paciente apresentava múltiplos nódulos no MTE. Continuava, no entanto, a fazer a medicação (loratadina, omeprazol e prednisolona). Esta consulta foi três meses após o diagnóstico. Posteriormente a esta consulta não há mais dados relativos a este caso na ficha clínica.

3.3. Caso clínico 3

Resenha: Cão macho inteiro, SRD, 9 anos de idade, 15,3 Kg de massa corporal.

História pregressa: Adotado pelos tutores há seis anos. O paciente tinha sido anteriormente diagnosticado com Leishmaniose (data desconhecida), mas segundo os tutores encontrava-se controlada. Há dois anos surgiu um nódulo no MTE (região escapular). Na altura fizeram PAAF à qual, segundo os tutores, o resultado veio inconclusivo. Posteriormente, surgiu um novo nódulo no MPE, na face lateral da coxa. Os tutores referiram que o nódulo da escápula não tinha sofrido alterações em dois anos, era de consistência muito rija, sem sinais de dor, prurido ou alopecia, e o da coxa era de consistência mole, quente e doloroso ao toque, sem prurido ou alopecia. Os tutores tinham levado o animal a um CAMV onde realizaram PAAFs aos dois nódulos e cujos resultados foram compatíveis com MTC bem diferenciados em ambos os nódulos. Fizeram, então, excisão cirúrgica dos dois MTC que foram enviados para histopatologia em Janeiro de 2019 e, os resultados da histopatologia foram iguais para ambas as peças cirúrgicas: MTCC de baixo grau de Kiupel, IM baixo, sem invasão dos vasos linfáticos, com amplas margens, Anexo III - Tabela X). O laboratório sugeriu avaliação do padrão de expressão CD117/KIT. Os resultados da imunomarcação foram iguais para os dois nódulos, sendo: marcação positiva para 98% dos mastócitos presentes na lesão do tipo I e II e de intensidade forte. Sendo a conclusão do estudo: padrão de marcação do tipo II (focal perinuclear) e tipo III (citoplasmático difuso) o que revela uma distribuição aberrante do recetor C-KIT.

Exame físico e exames complementares de diagnóstico: O animal apresentou-se à consulta de oncologia no Hospital da FMV-ULHT para que os tutores obtivessem uma segunda opinião. Ao exame físico o paciente apresentava-se alerta e de temperamento afável. As mucosas encontravam-se rosadas e hidratadas, 38,6°C, a arfar, 140 bpm, cicatrizes das cirurgias bem cicatrizadas e sem evidências de recidiva, palpação abdominal sem alterações. Propôs-se aos tutores fazer-se ecografia abdominal com sedação para PAAFs de baço, fígado, e linfonodos poplíteo e pré-escapular para estadiamento, e hemograma pré-sedação. Após estadiamento, avaliar-se-iam os possíveis planos a seguir.



Figura 4. Cicatrizes cirúrgicas do MPE e do MTE do caso clínico 3. (originais da autora).

Exames complementares de diagnóstico

Hemograma completo e bioquímicas: Anexo III (Tabelas XI e XII).

Trombocitopenia ligeira ($131 \times 10^9/l$ - valores de referência - $200 - 460 \times 10^9/l$).

Ecografia abdominal: Anexo III (Tabela XIII).

Pâncreas - Lesão hipoecóica, aparentemente quística, com 7 mm de tamanho máximo e encapsulada, na porção caudal do lobo direito.

Baço – Lesão focal (diagnósticos diferenciais: hiperplasia nodular, neoplasia (primária ou metastática), hematoma, necrose, abscesso, granuloma, quisto), hipoecóico.

Citologia de fígado, baço, e linfonodos locais:

Baço - Observaram-se linfócitos de pequenas dimensões e um aumento dos linfócitos de médias dimensões; células de grandes dimensões em pequeno número. Não se observaram agentes infecciosos ou células neoplásicas.

Nódulo no baço - Observaram-se linfócitos de pequenas dimensões e um aumento dos linfócitos de médias dimensões; células de grandes dimensões em pequeno número. Visualizaram-se ainda células plasmáticas, neutrófilos não degenerados e macrófagos activados. Não se observaram agentes infecciosos ou células neoplásicas.

Fígado - Observaram-se apenas hepatócitos de aparência normal.

Linfonodos Poplíteo e pré-escapular - Observaram-se linfócitos de pequenas dimensões e um aumento dos linfócitos de médias dimensões; células de grandes dimensões em pequeno número. Visualizaram-se, ainda, células plasmáticas, neutrófilos não degenerados e macrófagos activados. Não se observaram agentes infecciosos ou células neoplásicas.

Recomendou-se, apenas, a monitorização com ecografia abdominal e exame físico, a cada três meses até perfazer um total de 18 meses. O paciente, no entanto, não apresenta mais reavaliações descritas na ficha clínica.

3.4. Caso clínico 4

Resanha: Cão, da raça Boxer, macho inteiro, 2 anos, 30,0 Kg de massa corporal.

História pregressa: cão que está com os tutores desde os três meses de idade, protocolos vacinal e de desparasitação interna e externa atualizados, sem nada a relatar exceto o aparecimento de quatro nódulos cutâneos umas semanas antes da consulta.

Exame físico e exames complementares de diagnóstico: O paciente apresentou-se à primeira consulta com múltiplos nódulos cutâneos. Quatro nódulos: um no MTE, um na região dorsal esquerda, um no esterno e um no escroto. Fizeram-se PAAF's a todos os nódulos que revelaram tratar-se de MTCs (Anexo 4 - Tabela XIV), sendo apenas o do escroto suspeito de alto grau e os restantes suspeitos de baixo grau. Assim, propôs-se aos tutores a excisão cirúrgica dos nódulos, antes da qual se faria uma ecografia abdominal com citologia de baço e fígado para estadiamento e, caso esta não apresentasse alterações compatíveis com metástases. Todos os nódulos apresentavam dimensões de 1 a 2 cm de diâmetro, não aderentes, não ulcerados, não dolorosos, e de consistência branda. Foi prescrita Loratadina (10 mg P.O. SID), e Omeprazol (1 mg/Kg P.O. SID). À ecografia abdominal o fígado apresentava dimensões normais, contornos regulares e ecogenecidade mantida, parênquima homogêneo, não se observaram alterações focais ou difusas, o baço apresentava-se normodimensionado, de contornos regulares e ecogenecidade mantida, não se evidenciando lesões focais esplênicas, não se encontraram alterações dignas de registo em nenhum órgão, nem compatíveis com metástases e marcou-se a cirurgia, instituindo, também, prednisolona.



Figura 5 – Orquiectomia fechada com excisão escrotal. (original da autora).

Na consulta pré-cirúrgica, fizeram-se análises sanguíneas (hemograma e painel bioquímico) nas quais não se detetaram alterações (Anexo IV - Tabelas XV e XVI). No entanto, detetaram-se mais nódulos cutâneos no escroto, aos quais não se fizeram PAAFs. A cirurgia foi marcada para dois dias depois.

Na cirurgia, procedeu-se à exérese dos nódulos com as seguintes margens: MTC escrotais - orquiectomia fechada com excisão escrotal; MTC esternal e dorso - 2

cm de margens laterais e um plano anatómico profundo (músculo); MTC MTE - 1 cm de margens laterais e um plano anatómico profundo (músculo). A cirurgia decorreu sem ocorrências dignas de registo. Antes de se iniciarem as suturas das feridas cirúrgicas, foram trocadas as luvas, instrumentos cirúrgicos e panos de campo, bem como foram igualmente trocados quando se mudava o local da cirurgia entre nódulos. No período pós-cirúrgico foi prescrito meloxicam (dose inicial e única 0,2 mg/Kg via subcutânea, pós-cirurgia, e 0,1 mg/Kg P.O. durante 3 dias), AB com amoxicilina e ácido clavulânico (25 mg/Kg P.O. BID), além da medicação já instituída.

A análise histopatológica das peças cirúrgicas revelou que os MTCCs do esterno, dorso e MTE eram de grau II de Patnaik e baixo grau de Kiupel, e que os MTCCs escrotais eram de grau II de Patnaik mas de alto grau de Kiupel (Anexo IV - tabela XVII).

Na consulta de doze dias pós-cirurgia foram detetados mais quatro novos nódulos, localizados na região inguinal esquerda, no calcâneo direito, no joelho direito e coxa direita (nódulo intramuscular) aos quais foram feitas PAAF's e foram marcados com um marcador. Todos se revelaram MTC (Anexo IV - Tabela XVIII), exceto o nódulo da coxa cuja análise foi inconclusiva porque a amostra recolhida só continha sangue. Iniciou-se mesilato de masitinib (11mg/Kg), durante seis meses, e quando a doença estivesse estabilizada, far-se-ia a remoção cirúrgica destes nódulos. Iniciou-se, também, prednisolona (2mg/Kg PO SID) e deveria continuar, entretanto, a loratadina, omeprazol.

Aos 19 dias pós-cirúrgicos, fez-se a reavaliação e remoção das suturas. As suturas apresentavam-se bem cicatrizadas e os nódulos anteriormente marcados encontravam-se mais pequenos. Foi marcada reavaliação para daí a 15 dias. Consulta essa a que o paciente não compareceu, tendo voltado para nova consulta dois meses pós-cirurgia. Nesta consulta de reavaliação, o paciente tinha aumentado o peso, 33,0 Kg. Estava ainda a fazer a medicação previamente instituída: omeprazol, loratadina, mesilato de masitibib e prednisolona, que foi reduzida para uma dose de 1mg/kg PO SID (esta dose voltaria a ser reduzida para 0,5mg/KG PO SID 15 dias depois). Os tutores referiram que mantinha apetite, sem vômitos ou diarreia. As incisões cirúrgicas encontravam-se bem cicatrizadas, a ferida cirúrgica da zona escrotal apresentava um pequeno eritema. Os nódulos que apareceram no período pós-cirúrgico mantiveram o tamanho e não tinham ulcerado, nem apresentavam eritema ou dor ao toque. O nódulo da coxa era impercetível. Sem alterações nas análises sanguíneas (hemograma e bioquímicas) e na ecografia abdominal. Nesta altura o plano passou

por se manter o mesilato de masitinib mais um mês seguido da remoção cirúrgica dos MTCCs, mantendo a restante medicação.

O paciente esteve presente em nova consulta de controle no mês seguinte, constatando-se um aumento de 700 g na massa corporal (33,7 Kg). As análises sanguíneas (hemograma e bioquímicas) encontravam-se dentro dos parâmetros normais.

Dois meses depois voltou para controle, fez análises sanguíneas que revelaram não ter alterações dignas de registro. A dose de prednisolona foi reduzida para 0,5mg/Kg PO em dias alternados.

Três meses depois voltou para novo controle, fizeram-se análises sanguíneas, sem alterações dignas de registro (Anexo IV - Tabelas XIX e XX). O mesilato de masitinib foi suspenso e marcou-se a cirurgia de exérese dos MTCs para uma semana depois, não tendo sido identificadas quaisquer alterações dos nódulos já existentes. O propósito desta cirurgia seria remover os nódulos presentes seguido de quimioterapia adjuvante com VBL/prednsiolona.

Aquando da anestesia, encontraram-se quatro novos nódulos, um segundo no joelho, um no dorso, um na coxa direita e um na pálpebra, aos quais se fizeram citologia, que revelou serem MTCC os nódulos do joelho e pálpebra (Anexo IV - Tabela XXI). O MTCC da pálpebra não foi removido pois precisaria de uma blefaroplastia e essa cirurgia teria que ser planeada antecipadamente. Uma vez mais, antes de se iniciar a sutura da ferida cirúrgica foram trocadas as luvas, instrumentos e panos de campo. O relatório histopatológico revelou que três dos nódulos excisados nesta cirurgia eram MTSC (nódulos do MPD - coxa e calcâneo, e nódulo na zona inguinal esquerda), e o nódulo no MPD (joelho) era um MTCC grau I de Patnaik e baixo grau de Kiupel. Foi proposto aos tutores iniciar o protocolo quimioterápico VBL/prednisolona adjuvante, mantendo a loratadina e o omeprazol no período pós-cirúrgico. Dez dias após a cirurgia, o paciente iniciou a primeira dose de VBL, tendo os tutores desistido posteriormente.

Três semanas após a última excisão dos mastocitomas, houve deiscência da sutura no joelho pelo que teve de fazer reconstrução da sutura. A partir desta data não há mais registros do paciente na ficha clínica.

CAPÍTULO 4 - DISCUSSÃO DOS CASOS CLÍNICOS

Na presente dissertação foram analisados quatro casos de MTCs, três cutâneos e um subcutâneo. Três dos casos clínicos pertencem a raças ou cruzamentos de raças que os autores referem como tendo maior predisposição para o desenvolvimento de MTCs, como o Labrador Retriever e o Boxer (Welle *et al.*, 2008; Villamil *et al.*, 2011; Warland & Dobson, 2013). Apenas o animal do caso clínico 3 não tinha raça definida. Mas, apesar da predisposição racial, segundo alguns autores, cães sem raça definida mostram ter uma elevada prevalência de MTC (Welle *et al.*, 2008; Warland & Dobson, 2013).

Os MTCs descritos nestes casos, apresentaram-se diversificados quer em localização quer em aspeto, incluindo nódulos cutâneos e subcutâneos. Todos os casos apresentaram-se à consulta apenas com o aparecimento de nódulos como queixa principal, um dos casos apresentou-se à consulta para obter uma segunda opinião médica.

Segundo a literatura, os MTCs são mais comuns na região torácica (50-60%) e depois nos membros (25-40%) (Welle *et al.*, 2008). No entanto, também foram encontrados noutras localizações, como no escroto e na pálpebra no caso clínico 4. Segundo alguns autores, há cerca de 10% de probabilidade de que o MTC se localize na cabeça e pescoço (Northrup, & Gieger, 2005), sendo o escroto, o períneo e a base da cauda menos afetados (Welle *et al.*, 2008). Tumores localizados nas zonas inguinal, perineal ou escrotal eram considerados de pior prognóstico comparativamente a MTCs noutras localizações (Turnel *et al.*, 1988), mas, outros estudos concluíram que quando os MTCs nestas localizações são tratados adequadamente, os tempos de sobrevida e de recidiva são equivalentes aos de outras áreas cutâneas (Cahalane *et al.*, 2004).

Embora haja mais sistemas de classificação todos derivam da mesma informação recolhida, sendo alguns um pouco mais precisos que outros na previsão do prognóstico de cada caso (Begg *et al.*, 2000). O objetivo de se sistematizar o estadiamento clínico é única e exclusivamente para que haja uma linguagem universal, facilitando a comunicação entre os clínicos, de modo a definir um plano terapêutico mais preciso (Houette *et al.*, 2016).

O sistema de classificação de grau histológico mais usado para MTCC é o sistema de Patnaik, que os classifica em três graus: de grau I ao grau III. (Scarpa *et al.*, 2016). Os MTCCs de grau I são bem diferenciados e o tratamento aconselhado passa somente pela excisão cirúrgica, uma vez que a probabilidade de metastização é

muito baixa (Welle et al., 2008); os MTCCs de grau III são, normalmente, mal diferenciados, de comportamento agressivo e invasivo e com altas taxas de metastização (acima dos 50%), assim sendo é necessário margens cirúrgicas alargadas e quimioterapia co-adjuvante (Scarpa et al., 2016). Os MTCCs de grau II têm um comportamento biológico menos previsível, e devem estabelecer-se outros fatores de prognóstico como o padrão de expressão imunohistoquímico de C-KIT, das proteínas AgNOR e a imunomarcação de ki-67 (Blackwood et al., 2012).

Todos os animais foram avaliados pré-cirurgicamente, com exceção do caso clínico 3 em que não houve cirurgia, de modo a determinar o risco anestésico associado a cada um deles e possíveis complicações intra e pós-cirúrgicas. A avaliação passou por um exame físico completo, análises sanguíneas, citologias aspirativas dos nódulos para diagnóstico e ecografia abdominal para estadiamento da doença.

À exceção do caso clínico 3, que já trazia diagnóstico definitivo feito (por PAAF também), todos os casos em estudo foram inicialmente diagnosticados por PAAF. Idealmente, deve ter-se o diagnóstico definitivo antes da excisão cirúrgica de um nódulo, uma vez que, normalmente, os MTCs precisam de margens mais alargadas do que outro tipo de nódulos cutâneos (Dank, 2016). Apesar de os tutores dos animais em estudo terem aceitado fazer quase todos os exames complementares de diagnóstico prescritos, alguns deles não seguiram o tratamento pós-cirúrgico, nomeadamente os protocolos quimioterápicos propostos no caso clínico 2.

Um dos exames que é decisivo no prognóstico é a PAAF aos gânglios linfáticos regionais, independentemente de haver ou não alteração à palpação (Kiupel, 2017), mas este não foi feito em nenhum dos casos clínicos estudados. No entanto no caso clínico 1 foi retirado o gânglio regional (poplíteo). Outro dos exames complementares mais importantes é a ecografia abdominal, uma vez que ocorre metastização frequente para os linfonodos intrabdominais, assim como para o fígado e baço (Book et al., 2011), podendo comprometer a cirurgia. Todos os casos clínicos aqui representados fizeram este exame, não havendo evidência de metastização intra-abdominal em nenhum dos casos. Um dos casos fez ecografia abdominal após a cirurgia e histopatologia, no seguimento da segunda opinião e como fator de prognóstico adicional.

Em nenhum dos casos foi realizado o esfregaço do “*Buffy-coat*” para pesquisa de mastocitemia. Na literatura o uso deste teste não é consensual uma vez que no caso dos cães, estes podem ter mastócitos em circulação devido a outras causas

como, por exemplo, doenças alérgicas, e não devido a metastização de mastocitomas (Blackwood *et al.*, 2012).

Todo, e qualquer, tumor tem um potencial maligno, devendo recorrer-se a exames citológicos e histológicos para uma melhor decisão terapêutica (Kiupel, 2017). Em todos os casos estudados, a excisão cirúrgica foi sempre o tratamento escolhido como primeira abordagem terapêutica, tal como defendido na literatura (Kiupel, 2017).

Quanto aos cuidados durante a cirurgia, especialmente no que diz respeito ao material, panos de campo, luvas e instrumentos cirúrgicos, foram sempre trocados antes do encerramento dos defeitos cirúrgicos e sempre que se mudou de local a intervencionar (de um mastocitoma para outro, no caso de mastocitomas múltiplos), como está descrito e é recomendado na literatura (Boston & Henderson, 2014).

No caso clínico 1 administrou-se, numa prespectiva neo-adjuvante, uma dose de VBL/prednisolona de modo a reduzir o tamanho do nódulo, para posterior exérese. A prednisolona foi prescrita também neo-adjuvante, nos três casos em que o tratamento cirúrgico foi feito no hospital da FMV-ULHT, na tentativa de citoredução e redução de edema peri-tumoral (casos clínicos 1, 2 e 4) o que poderia hipoteticamente facilitar a cirurgia. Assim, e como a literatura refere, pode recorrer-se à administração de prednisolona ou quimioterapia com VBL neoadjuvante (Blackwood *et al.*, 2012), de modo a diminuir o volume do nódulo, facilitando a obtenção de margens cirúrgicas satisfatórias (Stanclift & Gilson, 2008). Desde os anos 60 do século passado, que uma margem circular de 3 cm em redor do tumor tem sido recomendada para a extirpação do MTC, e a margem profunda recomendada deve incluir pelo menos uma fáscia muscular (London & Séguin, 2003). Alguns estudos demonstram que para a maioria dos MTCs de grau I e II uma margem lateral de 2 cm e uma margem profunda de um plano fascial é suficiente (Simpson *et al.*, 2004; Fulcher *et al.*, 2006). Um estudo mais recente defende que para MTCs de grau I e II, uma margem lateral de 1 cm e uma margem profunda de 0,44 cm, era suficiente para não haver recidiva de MTC (Schultheiss *et al.*, 2011). Outros artigos sugerem que estas margens não devem ser consideradas no caso de MTCs de grau III, uma vez que estes são mais invasivos localmente, devendo ser excisionados com uma margem lateral mínima de 3 cm e um plano fascial profundo. No entanto, o risco de recidiva é elevado, sendo aconselhado um tratamento multimodal (Thamm & Vail, 2007). Segundo estas especificações de margens, pode-se concluir que nem todos os MTCs descritos foram excisados com as margens recomendadas, como por exemplo o do caso clínico 2, cujo MTC do MTE de alto grau de Kiupel e grau III de Patnaik foi excisado com margens laterais

histopatológicas de 0,5 cm. No entanto a região anatómica não permitia margens mais extensas, excepto caso fosse considerada amputação do membro, o que o tutor rejeitou. O MTCC de grau III de Kiupel tem um comportamento clínico agressivo e oferece dificuldade na excisão cirúrgica com margens seguras (Withrow & Vail, 2006). Em casos de MTCCs localizados nas extremidades a amputação é uma opção terapêutica que pode levar a um défice funcional ou estético, afetando diretamente o bem-estar ou a função do animal, no caso de cães de trabalho ou de concurso, mas que, no entanto, permite a obtenção de margens cirúrgicas completas, e pode ser o tratamento mais económico para o proprietário (London & Thamm, 2013).

Em todos os casos descritos, as peças cirúrgicas excisadas foram enviadas para análise histopatológica para se chegar a um diagnóstico definitivo e para perceber se a cirurgia foi ou não curativa (Liptak, 2009b). Strafezzi *et al.*, (2010) consideraram, num estudo, a graduação histopatológica um ótimo indicador de prognóstico, por ser possível estabelecer uma relação entre a graduação histológica, a morte associada ao tumor e o tempo de sobrevida cirúrgico - a mortalidade aumenta proporcionalmente ao grau histológico, assim sendo, quanto maior o grau histológico menor o tempo de sobrevida.

Os MTCCs foram graduados pelos critérios de Patnaik *et al.* (1984), tendo sido avaliada a quantidade de citoplasma, forma celular, diferenciação celular, forma e coloração do núcleo, número de nucléolos e figuras mitóticas, permitindo a diferenciação em um dos três graus histológicos. As margens cirúrgicas foram, também, avaliadas como Thamm & Vail (2007) recomendam. O MTSC do caso clínico 1, em citologia deu compatível com MTC de alto grau de Kiupel, revelando-se subcutâneo à histologia. Segundo Warland *et al.* (2012), os MTSCs parecem ter um comportamento similar aos MTCCs de grau II de Patnaik, mas possivelmente com menor capacidade metastática. Cerca de 90% dos MTSCs são menos agressivos sendo a excisão cirúrgica curativa (Newman *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2011). No entanto, consideram-se mais agressivos MTSCs que apresentem um ou mais critérios seguintes: apresentar mais de quatro mastócitos por 10 campos óticos de observação, mastócitos multinucleados, crescimento infiltrativo (o caso no MTSC do caso clínico 1), idade avançada ao diagnóstico (também o caso clínico 1) pode estar perante um MTSC agressivo e o tempo de sobrevida pode estar encurtado (Thompson *et al.*, 2011). O índice mitótico é um elemento de avaliação de inúmeras histopatologias e por esse motivo deveria ser incluído em todos os relatórios histopatológicos (Blackwood *et al.*, 2012). Segundo Romansik *et al.*, o índice mitótico tem aparentemente uma relação directa com a graduação histológica proposta por Patnaik *et al.*, 1984, ajudando assim

a melhor classificar os MTCC de grau dúbio, além de ser um método simples e económico. Segundo alguns autores, a histopatologia deve ser acompanhada por imunohistoquímica de KIT, análise de mutação no receptor C-KIT e marcadores de proliferação celular como AgNORs e ki-67, de maneira a tornar mais acertada a previsão do comportamento biológico e prognóstico dos MTCs, uma vez que são factores de prognóstico adicionais (Webstar *et al.*, 2008). A análise da mutação C-KIT e a localização do KIT podem ser mais informativas em neoplasias histologicamente “ambíguas” (Thamm *et al.*, 2019). As mutações C-KIT podem ser mais informativas na identificação de tumores com grau histológico baixo, mas provavelmente mais agressivos, enquanto a localização do KIT da membrana poderá identificar tumores com menos probabilidade de apresentar doença progressiva (Thamm *et al.*, 2019). Nenhum marcador de prognóstico deve ser considerado 100% negativo ou positivo, todos eles acarretam diferentes taxas de risco. Comorbilidades, heterogeneidade da doença, influências genéticas, variações à intolerância a efeitos adversos e opções de tratamento escolhidas poderão ter um impacto diferente em cada paciente (Thamm *et al.*, 2019).

A quimioterapia pós-cirúrgica está, também, indicada quando as margens cirúrgicas não são seguras ou apresentam ainda doença oncológica microscópica (casos 1 e 2), quando o tumor é de grau III de Patnaik (caso 2) ou se existir sinal de metastização local ou distante (Blackwood *et al.*, 2012; Garrett, 2014), assim três dos casos clínicos apresentados estavam recomendados para quimioterapia pós-cirúrgica (casos 1, 2 e 4).

No caso clínico 1 sendo que o nódulo subcutâneo se encontrava na zona da cicatriz do nódulo extirpado anteriormente do qual não se tem diagnóstico mas que poderia ser um MTCC, ou seja seria uma segunda abordagem cirúrgica, toda a cicatriz cirúrgica deve ser tomada como tumoral, logo as margens teriam que ser ainda mais extensas (Ehrhart & Culp, 2012; Farese & Withrow, 2013). No entanto, devido à localização do MTSC, a obtenção de margens cirúrgicas limpas seria impossível sem a amputação do membro, que o dono rejeitou. Assim, o nódulo foi removido marginalmente já com o plano de realizar quimioterapia adjuvante caso as margens estivessem incompletas ou a histopatologia fosse sugestiva de elevado risco de metastização.

Após excisão marginal com margens incompletas laterais foram apresentadas as seguintes hipóteses de tratamento aos tutores: Protocolo VBL/prednisolona (Thamm *et al.*, 2006); Protocolo de clorambucil (Taylor *et al.*, 2009); Protocolo Fosfato

de Toceranib (Palladia®) (London *et al.*, 2009). Foi ainda apresentada uma última hipótese que seria vigilância apenas. Os tutores optaram por iniciar o protocolo VBL/prednisolona.

Antes de se considerar o protocolo com fosfato de toceranib poderia ter-se avaliado se o paciente apresentava ou mutações não C-KIT. No entanto é controverso, pois London (2011) demonstrou que o fosfato de toceranib pode ser usado em tumores sem mutações em C-KIT por apresentar, também, atividade anti-angiogénica pelo bloqueio de VEGFR e PDGFRβ. De acordo com Blackwood *et al.* (2012), a terapêutica com inibidores de tirosina-cinases não está indicada como opção terapêutica de primeira linha. A sua utilização deve ser considerada depois das opções terapêuticas iniciais falharem ou não restarem mais alternativas.

Relativamente ao caso clínico 2 foi feita inicialmente uma radiografia torácica. Num estudo levado a cabo por Warland *et al.* (2012) não foram observadas metástases pulmonares, sugerindo que as radiografias torácicas têm um valor reduzido no estadiamento de MTCs. No entanto, pode argumentar-se que as radiografias torácicas são importantes na pesquisa de comorbilidades que possam inviabilizar os tratamentos a serem instituídos.

Neoplasias ulceradas e de tamanho >3 cm estão, frequentemente, associados a um maior grau histológico e a um pior prognóstico (Gross *et al.*, 2005; Thamm & Vail, 2007). A paciente, do caso clínico 2, tinha um nódulo ulcerado e maior >3 cm no MTE que se revelou ser de grau III de Kiupel. A principal causa de ulceração de um nódulo é a sua dimensão. Assim, ou o tumor é muito agressivo, cresce rapidamente e evolui para nódulo ulcerado, ou o tumor aumenta gradualmente de tamanho, mas os tutores do animal só vão a uma consulta veterinária quando o tumor já se encontra ulcerado (Welle *et al.*, 2008). Como os nódulos já apresentavam com um tamanho considerável, iniciou-se prednisolona como tratamento neoadjuvante para auxiliar na redução do tamanho do tumor, de modo a obter margens mais limpas na excisão cirúrgica (Dobson, 2010).

Os MTCCs que não foram excisados com margens completas têm uma maior probabilidade de recidiva e/ou metastização e apresentam uma taxa de mortalidade mais alta do que os casos em que houve excisão completa dos MTCCs (Ozaki *et al.*, 2007). Nos casos estudados apenas dois dos MTCCs do caso clínico 4 foram excisados com margens seguras, o do esterno e o do dorso.

Relativamente ao caso clínico 2, embora tenham sido apresentadas várias hipóteses de quimioterapia adjuvante, o tutor não aceitou nenhuma das alternativas.

Na consulta de acompanhamento, dois meses pós-cirurgia, embora a paciente continuasse a fazer prednisolona, loratadina e omeprazol, apresentava vários nódulos cutâneos no MTE. Está indicado administrar-se, profilaticamente, fármacos que reduzam ou inibam a acidez gástrica como, por exemplo, inibidores da bomba de prótons e antagonistas dos receptores H_2 da histamina; e antagonistas dos receptores de H_1 da histamina para evitar efeitos da síndrome paraneoplásica resultante da desgranulação dos mastócitos (Bailey *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2010; Miller *et al.*, 2014). Em todos os casos descritos que fizeram a excisão cirúrgica no hospital da FMV-ULHT (casos 1, 2 e 4) foi administrado omeprazol, um inibidor da bomba de prótons, e loratadina, um anti-histamínico antagonista dos receptores de H_1 da histamina, como descrito na literatura.

O caso clínico 3 é um caso interessante. É um pedido de segunda opinião sobre o tratamento adjuvante, uma vez que foram excisionados dois MTCs histologicamente classificados como de baixo grau de Patnaik, com margens completas, quer em profundidade, quer em margens laterais e baixo IM. O laboratório sugeriu a avaliação do padrão de expressão do C-KIT, que revelou marcação positiva para 98% dos mastócitos presentes na lesão e de padrão de marcação do tipo II e tipo III, revelando uma distribuição aberrante do receptor C-KIT, que está associado na literatura a um pior prognóstico. Estão descritos três padrões distintos de expressão C-KIT em mastocitomas: marcação membranar (padrão I), marcação focal perinuclear (padrão II) e marcação citoplasmática difusa (padrão III) (Kiupel *et al.*, 2004; Sledge *et al.*, 2016; Kiupel, 2017). A expressão aberrante de C-KIT (padrão II e III) tem sido associada a um pior prognóstico em MTCC, estando também bastante associada a um aumento do risco de recidiva local e diminuição do tempo de sobrevida (Casagrande *et al.*, 2003; Kiupel *et al.*, 2004; Sledge *et al.*, 2016; Kiupel, 2017). O padrão de marcação C-KIT é considerado um dos parâmetros de prognóstico mais úteis em MTC caninos cutâneos e subcutâneos (Giantin *et al.*, 2012; Thompson *et al.*, 2016). Normalmente, e segundo a literatura, num MTCC de baixo grau, estadio 1, excisado com margens limpas e um IM baixo, como é o caso, devia apenas fazer reavaliações periódicas para avaliação de recorrência local, mas um painel de indicador de prognóstico pode ser adicionado uma vez que 5% a 15% dos MTCs de baixo grau podem comportar-se de forma mais agressiva, devendo ser discutida a relação custos/benefícios com os tutores (London & Thamm, 2013; Kiupel, 2017). Neste caso, os colegas pretendiam instituir quimioterapia, pois estavam perante MTCs de baixo grau, mas com padrão de C-KIT aberrante. Assim, os tutores decidiram pedir uma segunda opinião, pois não queriam submeter o seu animal a um tratamento quimioterápico agressivo,

considerando que o animal era geriátrico e estava aparentemente bem. Os MTCs que demonstram um comportamento biológico benigno, como era o caso (baixo grau de Kiupel e IM baixo), tendem a expressar um padrão de C-KIT membranar (padrão I), enquanto os mais agressivos são mais propensos a exibir uma redistribuição citoplasmática deste recetor (padrão II e III). Vários estudos foram desenvolvidos com o objetivo de determinar se as mutações de C-KIT são, por si só, um fator de prognóstico a ter em conta. No entanto, está documentada a forte associação com o grau histológico do MTC e o IM, não sendo clara que a presença da mutação C-KIT represente um fator de prognóstico independente (Downing *et al.*, 2002; Webster *et al.*, 2007; Horta *et al.*, 2018). Um prognóstico, negativo ou positivo, deve ser determinado com base na avaliação de diversos fatores de prognóstico e não na avaliação isolada de apenas um fator (Thamm *et al.*, 2019). Assim, e como descrito na bibliografia, avaliou-se não só o padrão de C-KIT aberrante dos MTCs deste caso clínico, mas também o seu grau histológico, o seu IM, o comprometimento dos linfonodos locais, o estado de saúde geral do animal, a evidência de recidivas locais, e a história de MTC com tempo superior a dois anos. Sem evidências de prognóstico negativo, propôs-se, como apoiado pela literatura, reavaliações periódicas a cada três meses até perfazer um total de 18 meses, e depois disso semestralmente. As reavaliações passam pela realização de um exame físico completo com especial atenção à zona de sutura, avaliação dos linfonodos locais e PAAF de qualquer novo nódulo cutâneo. Segundo um estudo de Warland *et al.*, 2012, MTCs não tendem a desenvolver metástases à distância sem envolvimento prévio dos linfonodos locais. Ainda que a classificação do grau histológico prediga o correcto comportamento biológico em 90 a 95% dos MTCs caninos, nenhum é completamente preciso e o estadiamento continua a ser o melhor fator de prognóstico para MTCs (Kiupel, 2017).

O caso clínico 4, mais um animal de uma das raças com maior predisposição para o desenvolvimento de MTC, um Boxer. Não há uma propensão sexual ou de idade, os MTCs tendem a aparecer com a idade avançada sendo que 9 anos é a média de idades em que costumam aparecer (Kiupel, 2017), no entanto, este é um caso de um cão jovem adulto de apenas 2 anos de idade. Os MTCCs são lesões habitualmente solitárias (90% dos casos) mas em Boxers, Pugs e Golden Retrievers é comum aparecerem lesões múltiplas (Kiupel, 2017).

Em MTCC múltiplos, cada MTC deve ser avaliado e graduado individualmente uma vez que não há associação de pior prognóstico com MTC múltiplos (Murphy *et al.*, 2006; O'Connell *et al.*, 2011). Os MTCCs neste caso (caso clínico 4) encontravam-se em várias localizações, desde o tórax aos membros pélvicos e à zona escrotal e

inguinal. Os Boxers, assim como os Pugs, têm maior incidência de MTCC nos membros pélvicos (Kiupel, 2017) e, segundo Thamm & Vail (2007), os nódulos localizados na região inguinal/perineal são descritos como estando associados a um pior prognóstico, quando comparados com nódulos localizados noutras regiões, pelo que as lesões localizadas nestas áreas devem ser consideradas como de risco elevado de recidiva ou metastização. Apenas os MTCCs com localização no escroto eram de grau II de Patnaik mas de alto grau Kiupel, que foram removidos por castração fechada em bloco. Todos os outros eram grau II de Patnaik e baixo grau de Kiupel. No entanto, a bibliografia consultada refere uma taxa de recidiva que varia entre os 10% e os 50% nos tumores de grau II de Patnaik (Séguin *et al.*, 2001). Propôs-se aos tutores iniciar o protocolo quimioterápico VBL/prednisolona, como descrito na bibliografia, mantendo a loratadina e o omeprazol como anteriormente. Os tutores aceitaram, mas fizeram apenas um ciclo de tratamento com VBL e, tendo posteriormente desistido.

Em casos de mastocitomas pode ser considerada a electroquimioterapia, usada em casos de MTCC múltiplos em que as cirurgias são muito invasivas ou em casos que a excisão não fosse possível com margens limpas ou os tutores não quisessem continuar com os tratamentos cirúrgicos (Lowe *et al.*, 2016). A electroquimioterapia requer anestesia geral (Spugnini *et al.*, 2012). Pode ser usada em tumores cutâneos e subcutâneos, independentemente do seu grau histológico (Cezamar *et al.*, 2009). É considerado um método seguro e com efeitos secundários mínimos em tumores superficiais (Sersa *et al.*, 2008). No entanto, um possível efeito secundário no caso dos MTCs é a desgranulação dos MTs em 32% dos casos (Kodre *et al.*, 2009), que nos casos de MTCs múltiplos podem ter um efeito nefasto. Poderia ter sido considerada a electroquimioterapia no MTC da pálpebra, uma vez que se encontrava num local que comprometia a estética do animal.

Ainda neste caso, devido ao aparecimento de vários nódulos cutâneos, iniciou-se o tratamento com mesilato de masitinib, um inibidor de tirosina-cinase que pode ser perpetuado no tempo sem necessidade de interrupções prolongadas como acontece com os quimioterápicos convencionais (London, 2014), com o objetivo de citorredução e estabilização da doença para posterior excisão cirúrgica. A sua aplicação no tratamento dos MTCs foi inicialmente descrita por Liao *et al.* (2002), que demonstraram a capacidade destas moléculas em inibir o KIT e consequentemente a proliferação dos mastócitos neoplásicos. Idealmente, e segundo a Agência Europeia de Medicamentos (2008), o mesilato de masitinib está indicado para o tratamento de MTCCs caninos não extirpáveis e com mutação confirmada de receptor de tirosina-

cinase, podendo ser considerado teste para a presença da mutação C-KIT antes de se iniciar o tratamento. Neste caso clínico não houve confirmação da existência desta mutação, mas estudos mais recentes referem que se verifica que 15% a 40% dos MTCs caninos apresentam mutações no KIT e que beneficiam de tratamento com TKI's (Elliot, 2017). O mesmo autor refere que são candidatos a este tratamento os animais com MTCCs de grau II ou III, não extirpáveis cirurgicamente, com tumores recorrentes em que a cirurgia e a radioterapia foram recusadas pelos tutores ou não são apropriadas, e com tumores que recidem ou metastizam mesmo com a terapêutica apropriada (Elliot, 2017).

Estudos demonstram que os MTCCs de baixo e alto grau de Kiupel têm, respetivamente, um TMS de aproximadamente dois anos vs. 180 dias, uma probabilidade de sobrevivência aos 12 meses de 95% vs. 24%, metastização nos gânglios linfáticos avaliada por PAAF em 15% vs. 30% dos casos e metastização à distância de 2% vs. 11% dos casos (Kiupel, 2011; Vascellari, *et al.*, 2013; Stefanello *et al.*, 2015; Camus *et al.*, 2016).

As questões relacionadas com os tutores são de extrema importância, uma vez que os tutores são fundamentais no acompanhamento do animal em tratamento. Assim, é da responsabilidade do médico veterinário informá-los sobre o diagnóstico, prognóstico, opções terapêuticas mencionando os respetivos prós e contras, e custos, de modo a que os tutores possam decidir em consciência. Todos os tutores dos casos descritos foram informados. Um tutor informado torna-se colaborante na realização dos tratamentos instituídos e na monitorização do animal (Couto, 2014).

Independentemente da decisão que o tutor toma ou da terapêutica que se institui, o médico veterinário deve tentar manter a qualidade de vida do animal e, se possível, proporcionar-lhe a máxima longevidade possível (North & Banks, 2009). É comum iniciar-se um tratamento com uma intenção curativa e, posteriormente, mudar-se para tratamento paliativo (Frimberger & Moore, 2017).

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÃO

As doenças oncológicas corresponderam a 11% das consultas e 7% das cirurgias acompanhadas durante o estágio no Hospital Veterinário da FMV-ULHT. Com o aumento da esperança média de vida dos animais de companhia e com a sua crescente importância no seio das famílias, a tendência é para que a Oncologia se torne uma área da Medicina Veterinária cada vez mais importante, e que por conseguinte haja cada vez mais um maior desenvolvimento nas áreas do diagnóstico e tratamento destas doenças.

O MTC é uma das neoplasias mais comuns em cães e foi, de facto, a mais observada durante o estágio.

Acompanhei vários casos de MTC com diferentes apresentações, cutâneos e subcutâneos, várias dimensões, localizações e comportamentos biológicos. Estiveram, também representadas algumas das raças com maior predisposição para o desenvolvimento de MTC, como o Boxer e o Labrador Retriever.

O método da citologia aspirativa é um método fiável e pouco invasivo de se obter um diagnóstico inicial de MTC. No entanto, a análise histológica realizada pós-excisão do MTC é fundamental, permitindo determinar a gradação histológica, considerada essencial para a seleção do tratamento a instituir. O tratamento cirúrgico, quando exequível, continua a ser o tratamento de primeira escolha nos casos de MTCs.

Dos casos relatados, nem todos os pacientes tiveram um diagnóstico precoce, em que os nódulos estavam presentes há vários meses. Um diagnóstico e estadiamento precoce permite uma terapia com maior sucesso, melhorando o prognóstico dos pacientes. Alguns dos pacientes não tiveram, também, a oportunidade de continuar o tratamento pós-cirúrgico.

A decisão médica e terapêutica está dependente não só dos clínicos, mas também dos tutores. Alguns dos tutores optaram por tratamento adjuvante, outros não o completaram, ou rejeitaram o tratamento. Quanto às reavaliações, e dado o facto de que todos estes casos tinham um veterinário generalista habitual, deixaram de comparecer às consultas de Oncologia no hospital da FMV-ULHT, não havendo mais dados disponíveis relativamente a estes casos clínicos.

CAPÍTULO 6 - BIBLIOGRAFIA

Abadie JJ, Amardeilh MA, Delverdier ME: Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *J Am Vet Med Assoc* 215:1629– 1634, 1999.

Amsellem, P. (2011). Complications of reconstructive surgery in companion animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 41(5),995-1006.

Arok, M. (2004). "Similitudes et différences entre les mastocytes et le polynucléaire basophile." *Rev. Fr. Allergol.* 44: 23-36.

Bailey D, Rassnick K, Kristal O, Chretin J & Balkman C (2008). Phase I Dose Escalation of Single-Agent Vinblastine in Dogs. *J Vet Inter Med*, 22, 1397–1402.

Bensignor, E., Delisle, F. ,Devauchelle, P. (1996a). "Les mastocytomes du chien." *Le Point Veterinary* 27(173): 925-32.

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*. doi:10.1111/vco.12029.

Bergers, G. ,Coussens, L. (2000). "Extrinsic regulators of epithelial tumor progression: metalloproteinases." *Cur Opin Genet Dev* 10: 120-27.

Blackwood, L. (2010). Where do TKIs fit in? *British Small Animal Veterinary Congress 8-11th April 2010*.

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. *Vet Comp Oncol*, 10(3),1-29.

Book A, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R & Matton J (2011). Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet Rad & Ultras*, 52;5, 548–554.

Bostock, D. E. (1986). Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *The British veterinary journal*, 142(1), 1–19.

Bostock DE, Crocker J, Harris K, Smith P: Nucleolar organizer regions as indicators of post-surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumours. *Br J Cancer* 59:915–918, 1989.

Boston, S. & Henderson, R.A., Jr. (2014). Role of surgery in multimodal cancer therapy for small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 44(5),855-70.

Brocks, B. A., Neyens, I. J., Teske, E., & Kirpensteijn, J. (2008). Hypotonic Water as Adjuvant Therapy for Incompletely Resected Canine Mast Cell Tumors: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Veterinary Surgery* , 37, 472–478.

Brown, J. M., Wilson, T. M., Metcalfe. D. D. (2008). The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 38(1), 4–18.

Cahalane, A. K., Payne, S., Barber, L. G., Duda, L. E., Henry, C. J., Mauldin, G. E., Moore, A. S. (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(3), 401–8.

Camps-Palau, M. A., Leibman, N. F., Elmslie, R., Lana, S. E., Plaza, S., McKnight, J. A., ... Bergman, P. J. (2007). Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997-2004). *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(3), 156–67. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00125.x

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*, 1–7.

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 Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 135–41. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00851.x

Casagrande TAC, Barros LMO, Fukumasu H, Cogliati B, Chaible LM, Dagli MLZ, Matera JM (2013) “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, 1–10.

Casagrande T, Barro L, Fukumasu H, Cogliati B, Chaible L, Dagli M et al., (2013). 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. *Vet Comp Onc*, 13;1: 1-10; DOI: 10.1111/vco.12010.

Cemazar, M., Tamzali, Y., Sersa, N., Tozon, N., Mir, L., Miklavcic, D., et al. (2008). Electrochemotherapy in Veterinary Oncology. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 826–831.

Cian, F., & Freeman, K. (2007). *Veterinary Cytology - Dog, Cat, Horse and Cow*. (F. Cian & K. Freeman, Eds.). UK: Manson Publishing.

Cooper M, Tsai X & Bennett P (2009). Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Vet comp onc*, 7 (3), 196-206.

Costa-Casagrande, T. A., Elias, D. S., Melo, S. R., & Matera, J. M. (2008). Estudo retrospectivo do mastocitoma canino no serviço de Cirurgia de pequenos animais – hospital veterinário da Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da universidade de São Paulo. *Archives of Veterinary Science*, , 13, 176-183.

Couto, C. G. (2006). Neoplasias selecionadas em cães e gatos. Em R. W. Nelson & C. G. Couto (Eds.), *Medicina Interna de Pequenos Animais (3a)*. Rio de Janeiro: Elsevier Mosby.

Daleck C.R., De Nardi A.B. & Rodaski S. 2008. *Oncologia em cães e gatos*. Roca, São Paulo. 612p.

Dank G (2016). Review of the Treatment of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Isr J Vet Med*, 71 (2), 3-9.

Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., & Wood, J. L. (2002). "Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs." *Journal of Small Animal Practice*, 43, 240-246.

Dobson, & Cohen. (2006). Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2, 132-141.

Dobson J (2010). Clinical staging and the TNM classification in: *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology (3rd Edition)* British Small Animal Veterinary Association, pp. 20-30.

Dobson, J. M., & Scase, T. J. (2007). Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 48(8), 424–431. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00366.x>

Donnelly L, Mullin C, Balko J, Goldschmidt M, Krick E, Hume C et al., (2013). Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised caninemast cell tumours. *Vet Comp Onc*, 13, 1, 70–76.

Downing, S., Chien, M., Kass, P., Moore, P., London, C. (2002). "Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs." *AJVR* 63(12): 1718-23.

Ehrhart, N. & Culp, W.T.N. (2012). Principles of surgical oncology. In S.T. Kudnig & B. Séguin (1^aEd.) *Veterinary Surgical Oncology* (pp. 3-14). 2121 State Avenue, Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.

Ehrlich, P. (1877). "Beiträge zur kenntniss der quilin-färbung und ihrer verivendung in der mikroskopischen technik." *Alch Mikros Anat* 13: 263-67.

Elliott, J. (2017). New drug therapies for treating cancer in dogs and cats. In *Practice*, 39(1), 2–9. <https://doi.org/10.1136/inp.j55>

Farese, J.P. & Withrow, S.J. (2013). Surgical Oncology. In W. MacEwen's (1^aEd.) *Small Animal Clinical Oncology* (pp. 149-156). 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Finora, K., Leibman, N. F., Fettman, M. J., Powers, B. E., Hackett, T. A., & Withrow, S. J. (2006). Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and of dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4(3), 178–83. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00107.x

Fonseca-Alves, C. E., Bento, D. D., Torres-Neto, R., Werner, J., Kitchell, B., Laufer-Amorim, R. (2015). Ki67/KIT double immunohistochemical staining in cutaneous mast cell tumors from Boxer dogs. *Research in Veterinary Science*, 102, 122-126.

Fox, L. E. (2002). *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management*.

Fulcher R, Ludwig L, Bergman P, Newman S, Simpson A & Patnaik A (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumours in dogs. *J Amer Vet Med Assoc*, 228: 210-215.

Furlani J.M., Daleck C.R., Vicenti F.A.M., De Nardi A. B., Pereira G.T., Santana A.E., Eurides D. & Silva L.A.F. 2008. Mastocitoma Canino: estudo retrospectivo. *Ciênci. Anim. Bras* 9(1): 242-250.

Garrett L (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary Medicine: Res and Rep*, 5, 49–58.

Garrett, L. D., Craig, C. L., Szladovits, B., & Chun, R. (2007). Evaluation of buffy coat smears for circulating mast cells in healthy cats and ill cats without mast cell tumor–related disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* , 231, 1685–1687.

Garriga, M., Friedman. ,Metcalf, D. (1988). "A survey of the number and distribution of mast cells in the skin of patients with mast cell disorders." *J Allergy Clin Immunol* 82: 425-30.

Giantin M, Vascellari M, Morello EM, Capello K, Vercelli A, Granato A, Lopparelli RM, Nassuato C, Carminato A, Martano M, Mutinelli F, Dacasto M (2012) "C-KIT Messenger RNA and Protein Expression and Mutations in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Correlations with Post-surgical Prognosis" *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 24, 116–126

Goldschmidt, M. ,Hendrick, M. (2002). Tumors of the Skin and Soft Tissues. *Tumors in Domestic Animals*. D. Meuten. Ames, Blackwell: 45-117.

Govier S.M. 2003. Principles of treatment for mast cell tumors. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 18:103-106.

Grant J, North S & Lanore D (2016). Clinical response of masitinib mesylate in the treatment of canine macroscopic mast cell tumours. *J Small Anim Prac*, 57, 283–290.

Grier, R. L., Di Guardo, G., Myers, R., & Merkley, D. F. (1995). Mast cell tumour destruction in dogs by hypotonic solution. *Journal of Small Animal Practice*, 36, 385–388.

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: Mast cell tumors. In: *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*, ed. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, and Affolter VK, 2nd ed., pp. 853–865. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 2005.

Halsey CHC, Thamm DH, Weishaar KM, Burton JH, Charles JB, Gustafson DL, Avery AC, Ehrhart EJ (2017) "Expression of Phosphorylated KIT in Canine Mast Cell Tumor" *Veterinary Pathology* 54, 387-394

Horta, R.S., Lavalle, G.E., Costa, M.P., Moura, L.L., Marcinowska, A., & Araújo, R.B.. (2017). Outcome of adjuvant chemotherapy with lomustine, vinblastine and chlorambucil on management of canine mast cell tumour of high to intermediate risk. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(6), 1426-1436. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9172>

Hedlund, C. S. (2008). Cirurgia dos sistemas Reprodutivo e Genital. Em C. S. Hedlund, A. L. Johnson, K. S. Schulz, H. B. Seim, M. D. Willard, A. Bahr, & G. L. Carroll (Eds.), *Cirurgia de Pequenos Animais* (3.a ed., pp. 702–774). Elsevier Mosby.

Hendrick, M., Mahaffey, E., Moore, F., Vos, J., Walder, E. (1998). *Histological Classification of Mesenchymal Tumors of Skin and Soft Tissues of Domestic Animals*. Washington, Armed Forces Institute of Pathology.

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>

Hottendorf, G. H., & Nielsen, S. W. (1966). *Pathologic Survey of 300 extirpated canine mastocytomas*. Connecticut.

Hottendorf, G. H., Nielsen, S. W. (2010). Pathologic Survey of 300 Extirpated Canine Mastocytomas. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 14(3), 272–281.

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. *Veterinary Pathology*, 6(2), 146–158.

Hosoya, K., Kisseberth, W. C., Alvarez, F. J., Lara-Garcia, A., Beamer, G., Stromberg, P. C., et al. (2009). "Adjuvant CCNU (Lomustine) and Prednisone Chemotherapy for Dogs With Incompletely Excised Grade 2 Mast Cell Tumors". *Journal of the American Animal Hospital Association* , 45 , 14-18.

Houette, A., Gilain, L., Mulliez, A., Mom, T. & Saroul, N. (2016). Prognostic value of two tumour staging classifications in patients with sinonasal mucosal melanoma. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*, 133(5),313-317.

Huang, E., Nocka, K., Beier, D. R., Chu, T.-Y., Buck, J., Lahm, H.-W. et al. (1990). The hematopoietic growth factor KL is encoded by the SI locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell*, 63(1), 225–233.

Ishiguro, T., Kadosawa, T., Takagi, S., Kim, G., Ohsaki, T., Bosnakovski, D. et al. (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.

Jaffe, M. H., Hosgood, G., Kerwin, S. C., Hedlund, C. S., & Taylor, H. W. (2000). Deionised water as an adjunct to surgery for the treatment of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of Small Animal Practice*, 41, 7–11.

Junqueira C e Carneiro J (2008) *Tecido conjuntivo em Histologia Básica*. (11^o Ed., 95-99) Guanara Koogan S.A.

Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013). *Histologia Básica*. (J. Carneiro & L. C. Junqueira, Eds.), *Histologia Básica* (12a). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Kitamura, Y., Kasugai, T., Arizono, N., Matsuda, H. (1993). Development of mast cells and basophils: processes and regulation mechanisms. *The American journal of the medical sciences*, 306(3), 185–191.

Kiupel M, Webster JD, Kaneene JB, 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, 371-377

Kiupel M., Webster J.D., Miller R. & Kaneene J. (2005). Impact of tumor location and multiple Synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Med.* 52:280-286.

Kiupel M, Webster J, Bailey K, Best S, DeLay J, Detrisac S et al., (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Vet Patho*, 48: 147-155.

Kiupel M (2017). Mast Cell Tumors in Meuten D: Tumors in Domestic Animals (5^aEd. 176-195). John Wiley & Sons, Inc.

Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cör, A., & Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy Compared to Surgery for Treatment of Canine Mast Cell Tumours In Vivo, 23, 55-62.

Kravis LD, Vail DM, Kisseberth WC, Ogilvie GK, Volk LM: Frequency of argyrophilic nucleolar organizer regions in fineneedle aspirates and biopsy specimens from mast cell tumors in dogs. J Am Vet Med Assoc 209:1418–1420, 1999.

Krick E, Billings A, Shofer F, Watanabe S & Sorenmo K (2009). Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. Vet Comp Onc, 7, 130-138.

Krick EL, Kiupel M, Durham AC, Thaiwong T, Brown DC, Sorenmo KU (2017) "Investigating Associations Between Proliferation Indices, C-kit, and Lymph Node Stage in Canine Mast Cell Tumors" Journal of the American Animal Hospital Association 53, 258-264

LaRue, S., & Gillette, E. (2007). Radiation Therapy. In S. Withrow, & D. Vail, Small Animal Clinical Oncology (4 ed., 193-210). Philadelphia: Saunders.

Lemarié, J. R., Lemarié, L. S., Hedlund, S. C. (1995). The Compendium on Continuing Education for the Animal Health Technician. Veterinary Learning Systems Co.

Liptak, J.M. (2009b). The Principles of Surgical Oncology: Surgery and Multimodality Therapy. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, 31(9),1-14.

London A (2013). Kinase dysfunction and kinase inhibitors. Vet Derm, 24, 181–40.

London C & Thamm D (2013). Mast Cell Tumors In Withrow J, Vail D, Page L et al Withrow and Macewen's: Small Animal Clinical Oncology (5^a Ed., 335-355). Elsevier Health Sciences - Saunders.

London, C., Hannah, A. L., Zadovaskaya, R., Chien, M., Kollias-Baker, C., Rosenberg, M., et al. (2003). "Phase I Dose-Escalating Study of SU11654, a Small Molecule Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, in Dogs with Spontaneous Malignancies". Clinical Cancer Research , 9, 2755–2768.

London C, Malpas P, Woof-Folis S, Boucher J, Rusk A, Rosenberg M et al., (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. Clin Canc Res, 15 (11): 3856-3865.

London, C. (2010). Mast Cell Cancer. In D. J. Weiss, & K. J. Wardrop, Schalm's Veterinary Hematology (6^a ed., 483-490). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.

London, C. A., & Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 33(3), 473–489. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(03\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(03)00003-2).

Macy, D., MacEwen, E. (1989). Mast cell tumors. Veterinary oncology. Philadelphia: JB Lippincott, 156–165.

Maglennon GA, Murphy S, Adams V, Miller J, Smith K, Blunden A, Scase TJ: Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 6:268–274, 2008.

Marconato, L., Bettini, G., Giacoboni, C., Romanelli, G., Cesari, A., Zatelli, A., et al. (2008). Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1001–1007.

Metcalfe, D., Mekori, J., Rottem, M. (1995). "Mast cell ontogeny and apoptosis." *Exp Dermatol* 4: 227- 30.

Meuten, D.J. (2002). *Tumors in domestic animals*. 4.ed. Iowa: Iowa State Press, pp.485-486.

Meuten, D. J. (2016). *Tumors in Domestic Animals*. Fifth ed. Wiley: Blackwell, pp. 01-1000.

Meuten DJ (2017) "Appendix" in *Tumors in Domestic Animals*, 5^a Ed, Wiley Blackwell, Iowa, 948-955

Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., & Muller, G. H. (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (7nd ed.). Elsevier Mosby.

Miller R, Lelyveld S, Warland J, Dobson J & Foale R (2014). A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Onc*, doi: 10.1111/vco.12116.

Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *The Veterinary quarterly*, 26(4), 156–69. <https://doi.org/10.1080/01652176.2004.9695178>

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., Smith, K., Blunden, A., & Brearley, M. (2004). Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. The Veterinary record, 154, 743-746.

Murphy, S. (2007). Mast Cell Tumors. BSAVA Manual of Canine and Feline oncology. L. B. Dobson JM. Gloucester, British Small Animal Veterinary Association: 161-67.

Mutz ML, Boudreaux BB, Royal A, Merchant S, Pucheu-Haston C, Griffith EH, Gieger TL (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 4, 421-428

Nelson, R. W., Couto, C. G. (2015). *Medicina interna de pequenos animais*. Elsevier (medicina).

Nelson R, Couto C, Davidson A, DiBartola S, Hawkins E, Lappin M et al., (2014). Selected Neoplasms in: Dogs and Cats in Small Animal Internal Medicine. (5ªEd.,1191-1200) Elsevier Mosby.

Newman SJ, Mrkonjich L, Walker KK and Rohrbach BW (2007). Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. Journal of Comparative Pathology; 136: 231–239.

Newman, S.J., Mrkonjich, L., et al. (2007) Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. *J Comp Pathol* 136:231–239.

Nilsson, G., Butterfield, J. H., Nilsson, K., Siegbahn, A. (1994). Stem cell factor is a chemotactic factor for human mast cells. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 153(8), 3717–23.

Northrup, N. C., Howerth, E. W., Harmon, B. G., Brown, C. A., Carmicheal, K. P., Garcia, A. P., et al. (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, 561-564.

North S & Banks T (2009). Mast Cell Tumour In: S. North, & T. Banks, Introduction to Small Animal Oncology (1ª ed., 183-196). Saunders - Elsevier.

O'Keefe, D. A., Couto, C. G., Burke-Schwartz, C., Jacobs, R. M. (1987). Systemic Mastocytosis in 16 Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1(2), 75–80.

O'Keefe, D. A. (1990). Canine Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(4), 1105–1115.

Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., Narama, I. (2007). "Prognostic significance of surgical margin, ki-67 and cyclin protein expression in grade II canine cutaneous mast cell tumor." *J Vet Med Sci* 69(11):1117-21.

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*, Vol. 21, pp. 469-474.

Pedraza, F., Grandi, F., & Rocha, N. S. (2011). The need for cytologic/histologic correlation studies to establish a cytologic grading system for canine mast cell tumors in veterinary medicine. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(3), 280–281. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00352.x>

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), 1436–41.

Pukay, B. P. (1984). Disseminated Mastocytosis in a Dog. *Canadian Veterinary Journal*, 25, 351-352.

Rassnick, K. M., Moore, A. S., Williams, L. E., London, C. A., Kintzer, P. P., Engler, S. J., et al. (1999). Treatment of Canine Mast Cell Tumors with CCNU (Lomustine). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13, 601–605.

Rassnick K, Bailey D, Flory A, Balkman C, Kiselow M, Intile M, Intile J et al., (2008) Efficacy of Vinblastine for Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med* 2008;22:1390–1396. 64

Rassnick K, Bailey D, Russell D, Flory A, Kiselow M, Intile J et al., (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. *Vet Comp Onc*, 8: 138–152.

Rech, R. R., Graça, D. L., Kommers, G. D., Sallis, E. S., Raffi, M. B., & Garmatz, S. L. (2004). "Mastocitoma cutâneo canino. Estudo de 45 casos". *Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecia*, 56, 441-448.

Ressel, L., & Finotello, R. (2017). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours: is haematoxylin and eosin staining better than May-Grünwald–Giemsa? *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(3), 667–668. <https://doi.org/10.1111/vco.12234>

Rhodes, K. H., Werner, A. H. (2011). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Small Animal Dermatology*. John Wiley & Sons.

Risselada M, Mathews K & Griffith E (2015). Surgically planned versus histologically measured lateral tumor margins for resection of cutaneous and subcutaneous mast cell tumors in dogs: 46 cases (2010–2013). *J Amer Anim Hospital Assoc*, 247(2), 184-189.

Robinson, W. P., Elliott, J., Baines, S. J., Owen, L., & Shales, C. J. (2017). Intramuscular mast cell tumors in 7 dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 58(9), 931–935.

Rogers, K. S. (1993). Common questions about diagnosing and treating canine mast cell tumors. *Veterinary Medicine*.

Rogers, K. S. (1996). Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 26(1), 87–102. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(96\)50008-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(96)50008-2).

Romansik E, Reilly C, Kass P, Moore P & London C (2007). Mitotic Index is Predictive of Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Patho*, 44: 335-341.

Scarpa, F., Sabattini, S. & Bettini, G. (2016). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol*, 14(3), 245-51.

Scase TJ, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A, Murphy S: Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Intern Med* 20:151–158, 2006.

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), 1464–9.

Séguin, B., Leibman, N. F., Bregazzi, V. S., Ogilvie, G. K., Powers, B. E., Dernell, W. S., ... 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), 1120–3.

Shaw T, Kudnig ST, Firestone SM (2017) "Diagnostic Accuracy of Pre-Treatment Biopsy for Grading Cutaneous Mast Cell Tumours in Dogs" *Veterinary and Comparative Oncology*, 1-6

Shoop S, Marlow S, Church D, English K, McGreevy P, Stell A et al., (2015). Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Can Gen Epid*, 2, 1–19.

Silva, A. L. D. A., Queiroz, R. P., Szabó, M. P. J., Medeiros, A. A. (2014). Grau de malignidade do mastocitoma cutâneo canino quanto à localização segundo as classificações de Patnaik et al. (1984) e Kiupel et al. (2011). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 21 (3), 183-187.

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. <https://doi.org/10.1177/030098589403100602>

Simpson, A., Ludwig, L., Newman, S., Bergman, P., Hottinger, H. ,Patnaik, A. (2004). "Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs." *J Am Vet Med Assoc* 224(2): 236-40.

Sledge D, Webster J & Kiupel M (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Vet J*, 215, 43–54.

Smrkovski O, Essick L, Rohrbach B & Legendre A (2013). Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Onc*, DOI: 10.1111/vco.12053.

Souza, T. M., Figuera, R. a., Kommers, G. D., Barros, C. S. L. (2009). Aspectos histológicos da pele de caes e gatos como ferramenta para dermatopatologia. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 29(2), 177–190.

Stanclift R & Gilson S (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Amer Vet Med Assoc*, 232, 53–62.

Stefanello, D., Valenti, P., Faverzani, S., Bronzo, V., Fiorbianco, V., Pinto da cunha, N., ... 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>

Strefezzi, R. D., Kleeb, S. R., Xavier, J. G., & Dias, J. L. (2010). Avaliação da proliferação celular como indicador prognóstico para mastocitomas cutâneos caninos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30, 559-565.

Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Mochizuki, M., Matsunaga, S., Nishimura, R., et al. (1997). "Inibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumour.". *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 995-1001.

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

Taylor F, Gear R, Hoather T & Dobson J (2009). Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. *J Small Anim Pract*, 50: 284–289.

Thamm, D., Mauldin, E., & Vail, D. (1999). "Prednisolone and Vinblastine Chemotherapy for Canine Mast Cell Tumour - 41 cases (1992-1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13, 491-497.

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

Thamm, D. H.; Avery, A. C.; Berlato, D.; Bulman-Fleming, J; Clifford, C. A.; Hershey, A. E.; Intele, J. L.; Jones, P. D.; Kamstock, D. A.; Liptak, J.M.; Pavuk, A.; Peaurai, J.; Powell, R.; Rissertto, K; Valli, V.O.; Webster, J. D.; 2019 *Prognostic and predictive significance of kit protein expression and c-Kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the oncology-pathology working group*. *Vet comp. oncol.* 17: 451-455.

Thamm, D., & Vail, D. M. (2007). Mast Cell Tumour. In D. Thamm, D. M. Vail, & M. E. Withrow SJ (Ed.), *Small animal clinical oncology*. (4^a ed., 402-424). Missouri: Saunders.

Thompson J, Pearl D, Yager J, Best S, Coomber B, Foster R, et al., (2011a). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. *Veterinary Pathology*, 48(1), 156-168.

Thompson J, Yager J, Best S, Pearl D, Coomber B, Torres R et al., (2011b). Canine subcutaneous mast cell tumors: cellular proliferation and KIT expression as prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48(1):169–181.

Thompson JJ, Morrison JA, Pearl DL, Boston SE, Wood GA, Foster RA, Coomber BL (2016) "Receptor Tyrosine Kinase Expression Profiles in Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors" *Veterinary Pathology* 53, 545-558

Tizard, I. R. (2009). *Immunología veterinaria*. Elsevier Health Sciences.

Turrel, J. M., Kitchell, B. E., Miller, L. M., & Théon, A. (1988). Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(8), 936–40.

Vargas, T. H. M., Pulz, L. H., Barra, C. N., Kleeb, S. R., Xavier, J. G., Catão-Dias, J. L., Fukumasu et al. (2015). Immunohistochemical Expression of the Pluripotency Factor OCT4 in Canine Mast Cell Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 5, 1-5.

Vascellari M, Giantin M, Capello K, Carminato A, Morello M, Vercelli A, et al., (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: Association with grading and prognosis. *Vet Path* 50, 110–121.

Villamil, J. A., Henry, C. J., Bryan, J. N., Ellersieck, M., Schultz, L., Tyler, J. W., et al., (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol. 239, Nº 7, pp. 960-965.

Warland J., Amores-Fuster I., Newbury W., Brearley M. and Dobson J. (2012), The utility of staging in canine mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*. Vol. 12, issue 4, pp. 249-318.

Warland, J., & Dobson, J. (2013). Breed predispositions in canine mast cell tumour: A single centre experience in the United Kingdom. *The Veterinary Journal* , Vol. 197, pp. 496-498.

Webster J, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kaneene J, Miller R, Resaub J & Kiupel M (2006). The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Neopl Press Inc*, 2; 8, 104-111.

Webster, J. D., Yuzbasiyan, 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, 298–308.

Webster J, Yuzbasiyan-Gurkan V, Thamm D, Hamilton E & Kiupel M (2008). Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Vet Res*, 4: 32, 1-8.

Welle, M. M., Bley, C. R., Rüfenacht, S., & Howard, J. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis,clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology* , 19, 321–339.

Welle, M. M., Bley, C. R., Rüfenacht, S., & Howard, J. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis,clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology* , 19, 321–339.

Withrow, S. J., Vail, D. M. (2006). *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier Science Health Science Division. http://vetcancersociety.org/Consensus_CCMC

Withrow, S.J. (2007). Why worry about cancer in pets. *In*: Withrow, S.J.; Macewen, E.G., *Small animal clinical oncology*. 4. Ed., Missouri: Saunders, pp. XV, XVI.

Withrow, S., Vail, D., & Page, R. (2013). *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology* (5^a Ed.). St. Louis: Elsevier, Saunders.

ANEXOS

ANEXO I - CASO CLÍNICO 1

Tabela I. Resultados da análise citológica dos nódulos.

Amostra	Descrição	Conclusão
Massa cutânea no MPE	Amostra de boa celularidade e conteúdo hemático. Observam-se células redondas, compatíveis com mastócitos, que apresentam fraca a abundante quantidade de grânulos de cor púrpura no citoplasma; anisocitose e anisocariose marcadas; binucleação. Presença ainda de raros eosinófilos e células mesenquimatosas reactivas.	A imagem citológica é compatível com um mastocitoma, aparentemente de alto grau (correspondente a grau histológico II 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). Recomenda-se exame histopatológica para confirmação do grau tumoral. O estadiamento deve ser feito através de punção dos gânglios linfáticos regionais e avaliação de possíveis metástases viscerais (particularmente no fígado e baço), entre outros meios complementares de diagnóstico.
Líquido de massa cutânea no pescoço (2 lâminas directas e de sedimento)	Amostra de boa celularidade. Observa-se material amorfo basófilo claro, macrófagos vacuolizados com material fagocitado e raros agregados de células epiteliais sem atipia evidente que apresentam contornos poligonais, núcleos redondos sem nucléolos e anisocitose e anisocariose ligeiras.	A imagem citológica sugere a presença de uma lesão quística benigna ou um quisto benigno.

Tabela II. Resultados do hemograma realizado no dia da primeira consulta oncológica.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	41,5	%	36 - 56
RBC	5,62	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	12,9	g/dl	11 - 19
MCV	73,8	fl	62 - 78
MCH	23,0	pg	21 - 28
MCHC	31,1	g/dl	30 - 38
RDW%	13,2	%	11,5 - 15,9
PLT	360	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,287	%	0,09 - 0,5
MPV	8,0	fl	7,3 - 11,2
WBC	6,64	10 ⁹ /l	6 - 17

NEU#	4,25	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	1,51	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	0,47	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,41	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,00	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	63,9	%	52 - 81
LYN%	22,7	%	12 - 33
MON%	7,2	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	6,2	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; L (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela III. Resultados das análises bioquímicas realizadas no dia da primeira consulta oncológica (16/11/18).

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
Globulinas	7,1 H	g/dl	2,5 - 4,5
Albumina	2,3	g/dl	2,2 - 3,5
BUN	20	mg/dl	6 - 25
Creatinina	3,4 H	mg/dl	0,8 - 1,4
Glucose	119	mg/dl	72 - 122
GPT	45	IU/L	0 - 113
T-Pro	9,4 H	g/dl	4,7 - 6,9

Tabela IV. Resultados do hemograma realizado no dia do primeiro tratamento com vimblastina.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	45,1	%	36 - 56
RBC	5,96	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	14,0	g/dl	11 - 19
MCV	75,7	fl	62 - 78
MCH	23,5	pg	21 - 28
MCHC	31,0	g/dl	30 - 38

RDW%	13,6	%	11,5 - 15,9
PLT	397	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,3	%	0,09 - 0,5
MPV	7,6	fl	7,3 - 11,2
WBC	7,54	10 ⁹ /l	6 - 17
NEU#	5,44	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	1,10	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	0,78	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,22	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,0	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	72,2	%	52 - 81
LYN%	14,6	%	12 - 33
MON%	10,2	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	3,0	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; L (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela V. Resultados do hemograma realizado no dia do último tratamento com vimblastina.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	37,8	%	36 - 56
RBC	5,34	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	12,8	g/dl	11 - 19
MCV	70,7	fl	62 - 78
MCH	24,0	pg	21 - 28
MCHC	33,9	g/dl	30 - 38
RDW%	13,2	%	11,5 - 15,9
PLT	369	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,3	%	0,09 - 0,5
MPV	8,2	fl	7,3 - 11,2
WBC	9,12	10 ⁹ /l	6 - 17

NEU#	6,45	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	1,59	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	0,80	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,28	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,0	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	70,7	%	52 - 81
LYN%	17,4	%	12 - 33
MON%	8,8	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	3,1	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; L (low) - valor abaixo do intervalo de referência

ANEXO II - CASO CLÍNICO 2

Tabela VI. Relatório da ecografia abdominal para estadiamento clínico.

Fígado	Fígado de dimensões normais, contornos regulares, ecogenicidade mantida, parênquima homogêneo, não se observando alterações focais ou difusas com tradução ecográfica. Segmentos observados dos grandes vasos, veia porta e veias suprahepáticas normais. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Distendida, de parede fina e conteúdo líquido anecogênico
Baço	Baço normodimensionado, de contornos regulares, com ecogenicidade mantida, de ecoestrutura homogênea, não se evidenciando lesões focais esplênicas com expressão ecográfica.
Aparelho gastrointestinal	Todo o trato gastrointestinal observado, apresentou conteúdo e peristaltismo variável, manutenção da integridade das 5 camadas, sem espessamentos difusos ou alterações focais.
Pâncreas	Toda a extensão observada não acusou alterações ecográficas.
Rins	Rins normodimensionados, contornos regulares, ecogenicidade da cortical mantida e com diferenciação corticomedular preservada. Ausência de ectasia do sistema pielocalicial bem como não se detectam sinais de litíase ou massas.
Bexiga	Bexiga com muito pouco conteúdo, de contornos regulares com conteúdo anecogênico. Não é observado nenhum espessamento focal ou difuso da parede, nem evidência de litíase ou lesões parietais com projeção endoluminal.
Glândulas adrenais	Apenas observada a adrenal esquerda que não acusou alterações ecográficas.
Peritôneo	Sem adenomegalia mesentérica, gânglios ilíacos médios sem alterações ecográficas.
CONCLUSÕES	Exame ecográfico sem alterações dignas de registro. (Ecografia inserida numa abordagem oncológica a mastocitoma cutâneo: não foram visualizadas alterações compatíveis com metástases).

Tabela VII. Resultados do hemograma realizado no dia da primeira consulta oncológica.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	47,4	%	36 - 56
RBC	6,28	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	14,7	g/dl	11 - 19
MCV	75,6	fl	62 - 78
MCH	23,4	pg	21 - 28
MCHC	31,0	g/dl	30 - 38
RDW%	11,6	%	11,5 - 15,9
PLT	534 H	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,49	%	0,09 - 0,5
MPV	9,2	fl	7,3 - 11,2

WBC	10,06	10 ⁹ /l	6 - 17
NEU#	7,72	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	0,94	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	1,11	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,29	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,0	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	76,8	%	52 - 81
LYN%	9,3 L	%	12 - 33
MON%	11,1	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	2,8	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; L (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela VIII. Resultados das análises bioquímicas realizadas no dia da primeira consulta oncológica.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
Globulinas	3,5	g/dl	2,5 - 4,5
Albumina	1,8 L	g/dl	2,2 - 3,5
BUN	<5 L	mg/dl	6 - 25
Creatinina	1,0	mg/dl	0,8 - 1,4
Glucose	99	mg/dl	72 - 122
GPT	37	IU/L	0 - 113
T-Pro	5,3	g/dl	4,7 - 6,9
ALP	62	IU/L	0 - 130

H (high) - valor acima do intervalo de referência; L (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela IX. Análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente.

Amostra	A - MTE – Recebido fragmento cutâneo de 4,5cm x 4cm x 1,5cm. Presença de lesão nodular ulcerada com 4,3cm de diâmetro. Após seção apresenta arquitetura heterogênea, cor branca com múltiplos focos castanhos e
----------------	--

	consistência firme. Sem margens profundas; Margem lateral: 0,2cm.
	B - MPE – Recebido fragmento cutâneo de 11cm x 6cm x 4,5cm. Presença de lesão nodular de 9cm de diâmetro. Após seção, apresenta características idênticas à lesão descrita anteriormente. Margem profunda: 1,5cm; Margem lateral 0,5cm para cada lado.
Descrição microscópica	A - Neoplasia dérmica a subcutânea, não capsulada e mal demarcada. Observa-se a proliferação de células ovóides dispostas em toalha compacta. As células apresentam atipia elevada e anisocariose. As células apresentam citoplasma ligeiramente granular e um núcleo grande com a cromatina fina reticulada. O núcleo varia de redondo a reniforme, e identificam-se mais de 3 células binucleadas. Identificaram-se 12 figuras de mitose. Entre as células identificam-se eosinófilos. Margens laterais de 0,2 cm e sem margens em profundidade. B - Nódulo dérmico a subcutâneo mal demarcado. Observa-se a proliferação de células ovóides em cordões. As células apresentam citoplasma granuloso basófilo e um núcleo ovóide central. A atipia celular é baixa e não se identificam mitoses. Entre as células identificam-se eosinófilos. Margens laterais de 0,5 cm e de 1,5 cm em profundidade com tecido adiposo.
Conclusão	A - Mastocitoma cutâneo. Alto grau de Kiupel, Grau III de Patnaik B - Mastocitoma cutâneo. Baixo grau de Kiupel, Grau II de Patnaik

ANEXO III - CASO CLÍNICO 3

Tabela X. Resultados da análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente noutra clínica veterinária.

Amostra	A - MTE - Escápula - retalho com 7x4x1,3 cm, com lesão de 1 cm de diâmetro.
	B - MPE - Coxa - retalho com 6x4x0,9 cm, com lesão com 1 cm de diâmetro.
Descrição microscópica	A - O fragmento corresponde a retalho cutâneo revestido por epiderme intacta mas com hiperplasia. A ocupar a derme profunda e panículo superficial, sem infiltração do panículo profundo, surge neoplasia de células redondas, bem delimitada e pouco infiltrativa. Está completamente incluída na peça cirúrgica com distância à margem profunda de 1 cm e às laterais >2 cm. As células estão dispostas em toalha contínua, com densidade celular elevada, inseridas em estroma fibroso abundante. Correspondem a mastócitos com anisocitose e anisocariose apenas discretas, com núcleos geralmente centrais e citoplasma amplo e rico em granações. O IM é baixo e não se observa invasão dos vasos linfáticos por células neoplásicas. A neoplasia está, ainda, associada a importante infiltrado inflamatório, de natureza linfóide à periferia e eosinofílico na neoplasia.
	B - Identifica-se retalho cutâneo com lesão cujas características são muito semelhantes às descritas em A . A distância à margem profunda de 0,5 cm e às laterais >1,5 cm.
Diagnóstico	Mastocitoma multifocal. De acordo com os critérios citomorfológicos aqui observados parecem corresponder a neoplasias de baixo grau (segundo Kiupel <i>et al.</i> , 2011). Para melhor determinação de prognóstico poderá ser avaliado padrão de expressão de CD117/KIT.
Recomendações/ Comentários	As margens são amplas, o que favorece o prognóstico. No entanto, por se tratar de neoplasia multifocal deve ser considerada a possibilidade de que poderão surgir lesões de novo. Recomenda-se manutenção de vigilância das zonas de extirpação (A e B) e restante superfície cutânea do paciente.

Tabela XI. Resultados do hemograma realizado no dia da ecografia abdominal para estadiamento clínico.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	54,7	%	36 - 56
RBC	7,38	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	18,0	g/dl	11 - 19
MCV	74,1	fl	62 - 78
MCH	24,4	pg	21 - 28

MCHC	32,9	g/dl	30 - 38
RDW%	12,4	%	11,5 - 15,9
PLT	131 L	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,15	%	0,09 - 0,5
MPV	11,4 H	fl	7,3 - 11,2
WBC	9,81	10 ⁹ /l	6 - 17
NEU#	5,81	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	2,3	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	1,16	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,54	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,0	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	59,2	%	52 - 81
LYN%	23,5	%	12 - 33
MON%	11,8	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	5,5	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; **L** (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela XII. Resultados das análises bioquímicas realizadas no dia da ecografia abdominal para estadiamento clínico.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
Globulinas	4,2	g/dl	2,5 - 4,5
Albumina	2,5	g/dl	2,2 - 3,5
BUN	15	mg/dl	6 - 25
Creatinina	1,3	mg/dl	0,8 - 1,4
Glucose	94	mg/dl	72 - 122
GPT	65	IU/L	0 - 113
T-Pro	6,7	g/dl	4,7 - 6,9
ALP	<50	IU/L	0 - 130

Tabela XIII. Relatório da ecografia abdominal para estadiamento clínico.

Fígado	Fígado de tamanho aparentemente normal sem alterações na lobulação, parênquima de ecogenicidade normal comparativamente ao baco, sem alterações focais ou difusas. Sem sinais de congestão ou presença de vasos suspeitos. Não se observa ectasia das vias biliares intrahepáticas.
Vesícula Biliar	Parede com espessura média de 2mm, sem alterações focais ou difusas com expressão ecográfica. Conteúdo anecoico, sem sedimento. Ducto biliar sem ectasia ou tortuosidade.
Baço	Baco normodimensionado, com contornos regulares, cápsula íntegra em toda a extensão observada, ecogenicidade e ecotextura adequada comparativamente aos restantes órgãos parenquimatosos. Apresenta uma lesão focal, hipoecóica, com cerca de 1.2 x 0.9 cm. Sem presença de congestão.
Aparelho gastrointestinal	Estômago moderadamente distendido, parede mantendo a estratificação em 5 camadas, não apresentando espessamentos focais ou difusos nas porções observadas. Nos segmentos intestinais observados a parede mantém a estratificação em 5 camadas, não apresentando espessamentos focais ou difusos. Peristaltismo e conteúdo variável.
Pâncreas	Segmentos pancreáticos observados apresentavam uma espessura normal, contornos regulares, ducto pancreático não dilatado. Gordura mesentérica envolvente com ecogenicidade homogênea. Lesão hipoecóica, aparentemente quística ou pseudo quística, com 7 mm de tamanho máximo e encapsulada, na porção caudal do lobo direito.
Rins	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	Bexiga parcialmente distendida, de localização intrabdominal. 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.
CONCLUSÕES	Do exame ecográfico as alterações relevantes foram: Baco - focal, hipoecoico, hiperplasia nodular, neoplasia (primária ou metastática), hematoma, hematopoeise extramedular, necrose, enfarte, abscesso, granuloma, quisto. Pâncreas – Lesão compatível com quisto ou pseudoquisto, com origem neoplásica ou não.

ANEXO IV - CASO CLÍNICO 4

Tabela XIV. Resultados da análise citológica dos nódulos.

Amostra e descrição	1 - Nódulo tórax dorsal - 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 reactivas.
	2 - Nódulo no esterno - Igual a 1
	3 - Nódulo no cotovelo - Igual a 1
	4 - Nódulo no escroto - Amostra de boa celularidade e conteúdo hemático. Observam-se células redondas, compatíveis com mastócitos, que apresentam fraca a moderada quantidade de grânulos de cor púrpura no citoplasma; anisocitose e anisocariose ligeiras; binucleação. Presença ainda de eosinófilos e células mesenquimatosas reactivas.
Conclusão	1 - 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).
	2 - Igual a 1
	3 - Igual a 1
	4 - A imagem citológica é compatível com um mastocitoma, aparentemente de alto grau (correspondente a grau histológico II 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 XV. Resultados do hemograma realizado na consulta pré-cirúrgica.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	52	%	36 - 56
RBC	6,76	10 ¹² /L	5,1 - 8,5
HGB	16,2	g/dl	11 - 19
MCV	77,0	fl	62 - 78
MCH	24,0	pg	21 - 28

MCHC	31,2	g/dl	30 - 38
RDW%	12,5	%	11,5 - 15,9
PLT	209	10 ⁹ /l	200 - 460
PCT	0,21	%	0,09 - 0,5
MPV	10,1	fl	7,3 - 11,2
WBC	9,93	10 ⁹ /l	6 - 17
NEU#	7,06	10 ⁹ /l	3,62 - 11,32
LYN#	1,56	10 ⁹ /l	0,83 - 4,69
MON#	0,70	10 ⁹ /l	0,14 - 1,97
EOS#	0,61	10 ⁹ /l	0,04 - 1,56
BAS#	0,0	10 ⁹ /l	0 - 0,12
NEU%	71,1	%	52 - 81
LYN%	15,7	%	12 - 33
MON%	7,0	%	2 - 13
BAS%	0,0	%	0 - 1,3
EOS%	6,2	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; **L** (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela XVI. Resultados das análises bioquímicas realizadas na consulta pré-cirúrgica.

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
ALP	62	IU/L	0 - 130
BUN	13	mg/dl	6 - 25
Creatinina	1,2	mg/dl	0,8 - 1,4
Glucose	93	mg/dl	72 - 122
GPT	69	IU/L	0 - 113
T-Pro	5,8	g/dl	4,7 - 6,9

H (high) - valor acima do intervalo de referência; **L** (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela XVII. Resultados da análise histológica dos nódulos excisados cirurgicamente.

Amostra	1 - Escroto com 3-4 nódulos - Escroto com 8x6 cm onde se identificam
----------------	--

Recebidos quatro contentores com várias amostras conservadas em Formalina. "Massas não aderentes, com consistência branda/ média de localização cutânea	várias estruturas elevadas, a maior mede 1,5x1 cm e a mais próxima dista 1,2 cm da margem lateral. Em secção observam-se nódulos amarelos epidérmicos, o maior com 0,7 cm de espessura e o mais próximo dista 1,2 cm da margem profunda.
	2 - Nódulo Cotovelo MTE - Retalho cutâneo que mede 5x3,5 cm. Em secção observa-se nódulo dérmico branco algo fibroso com espessura de 0,3 cm que dista 0,6 cm da margem lateral e 1 cm da margem profunda (fáscia muscular).
	3 - Nódulo esternal - Retalho cutâneo com 5,5x4 cm. Em secção observa-se nódulo dérmico amarelo que mede 2,5x0,6 cm e dista 1,1 cm da margem lateral e 1,5 cm da margem profunda (fáscia muscular).
	4 - Nódulo dorsal - Retalho cutâneo com 6x5 cm centrado por estrutura alopecica ligeiramente elevada que mede 1x1 cm. Em secção observa-se lesão epidérmica com espessura de 0,6 cm que dista 1,5 cm da margem lateral e 2,5 cm da margem profunda (fáscia muscular).
Descrição microscópica	1 - Nódulos (5) não capsulados, localizados quer na derme quer na submucosa escrotal compostos pela proliferação de mastócitos em toalha. As células apresentam atipia moderada a elevada com núcleos grandes com a cromatina fina e anisocariose. O citoplasma é pouco granular. Contam-se 5 mitoses em 10 campos de observação (obj 40x FN 22). Não se identificam células binucleadas. Entre os mastócitos identificam-se raros eosinófilos. Margens superiores a 1 cm lateralmente e em profundidade.
	2 - Nódulo na derme profunda não capsulado mas bem demarcado composto pela proliferação de mastócitos em cordões num estroma laxo. As células apresentam atipia moderada com citoplasma pouco granular e um núcleo grande com a cromatina fina. Conta-se uma mitose por 10 campos de observação (obj 40x FN 22). Os eosinófilos são raros. Margens de 0,5 lateralmente e de 0,9 cm com faixa de tecido muscular.
	3 - Nódulo na derme profunda não capsulado e irregular composto pela proliferação de mastócitos em toalha. As células apresentam atipia moderada com citoplasma pouco granular e um núcleo grande com a cromatina fina. Conta-se uma mitose por 10 campos de observação (obj 40x FN 22). Os eosinófilos são raros. Margens de 1 lateralmente e de 1,3 cm com faixa de tecido muscular.
	4 - Nódulo dérmico não capsulado mas bem demarcado, composto pela proliferação de mastócitos em cordões num estroma laxo. As células apresentam atipia baixa a moderada com citoplasma pouco granular e um núcleo grande com a cromatina fina. Conta-se menos de uma mitose por 10 campos de observação (obj 40x FN 22). Os eosinófilos são raros. Dista 1,4 cm da margem lateral e 2,3 cm da margem profunda (fáscia muscular).
Diagnóstico	1 – Mastocitoma Grau II de Patnaik, Alto grau de Kiupel
	2 - Mastocitoma Grau II de Patnaik, Baixo grau de Kiupel
	3 - Mastocitoma Grau II de Patnaik, Baixo grau de Kiupel
	4 - Mastocitoma Grau II de Patnaik, Baixo grau de Kiupel

Tabela XVIII. Resultados da análise citológica dos novos nódulos.

Amostra e descrição	1 - Nódulo na região inguinal esquerda - 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 reactivas.
	2 - Nódulo no Calcâneo direito - Igual a 1.

	3 - Nódulo no Joelho Direito - Igual a 1.
	4 - Nódulo intramuscular na coxa direita - Amostra de fraca celularidade. Observa-se apenas conteúdo hemático e células epiteliais escamosas de aparência normal. Não se observa qualquer mastócito.
Conclusão	1 - 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).
	2 – igual a 1.
	3 – igual a 1.
	4 - Imagem citológica não conclusiva devido à sua celularidade. Recomenda-se recolha de nova amostra e/ou análise histopatológica.

Tabela XIX. Resultados do hemograma realizado na consulta pré-cirúrgica (2ª cirurgia).

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
HTC	51,7	%	36 – 56
RBC	7,12	10 ¹² /L	5,1 – 8,5
HGB	17,1	g/dl	11 – 19
MCV	72,6	fl	62 – 78
MCH	24,0	pg	21 – 28
MCHC	33,1	g/dl	30 – 38
RDW%	12,6	%	11,5 – 15,9
PLT	220	10 ⁹ /l	200 – 460
PCT	0,24	%	0,09 – 0,5
MPV	11,0	fl	7,3 – 11,2
WBC	10,90	10 ⁹ /l	6 – 17
NEU#	7,62	10 ⁹ /l	3,62 – 11,32
LYN#	1,93	10 ⁹ /l	0,83 – 4,69
MON#	0,80	10 ⁹ /l	0,14 – 1,97
EOS#	0,54	10 ⁹ /l	0,04 – 1,56
BAS#	0,01	10 ⁹ /l	0 – 0,12
NEU%	69,9	%	52 – 81

LYN%	17,8	%	12 – 33
MON%	7,4	%	2 – 13
BAS%	0,0	%	0 – 1,3
EOS%	4,9	%	0,5 - 10

H (high) - valor acima do intervalo de referência; **L** (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela XX. Resultados das análises bioquímicas realizadas na consulta pré-cirúrgica (2ª cirurgia).

Parâmetro	Resultado	Unidade	Intervalo de referência
Albumina	2,6	g/dl	2,2 - 3,5
ALP	77	IU/L	0 - 130
BUN	15	mg/dl	6 - 25
Creatinina	1,2	mg/dl	0,8 - 1,4
Glucose	100	mg/dl	72 - 122
GPT	29	IU/L	0 - 113
T-Pro	5,7	g/dl	4,7 - 6,9

H (high) - valor acima do intervalo de referência; **L** (low) - valor abaixo do intervalo de referência

Tabela XXI. Resultados da análise citológica dos novos nódulos (3º).

Amostra e descrição	1 - Nódulo no dorso - Amostra de moderada celularidade e moderado conteúdo hemático. Observa-se uma população de células mesenquimatosas isoladas ou em agregados que apresentam: núcleos arredondados, de cromatina grosseira, com nucléolos evidentes e citoplasma com granulação negra negro-esverdeada; anisocitose e anisocariose moderadas. Verifica-se a presença de melanófagos.
	2 - Nódulo coxa direita - Amostra de fraca celularidade. Observa-se apenas conteúdo hemático. Não se observa qualquer mastócito.
	3 - Nódulo Joelho direito (mais recente) - 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.
	4 - Nódulo Pálpebra olho direito - Igual a 3.

Conclusão	1 - A imagem citológica sugere a presença de um melanoma. Aguarda-se resultado de histopatologia.
	2 - Imagem citológica não conclusiva devido à sua celularidade.
	3 - 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).
	4 - Igual a 3.

Tabela XXII – Relatório de Histopatologia da 2ª cirurgia:

Amostra Recebidos 4 frascos com 1 amostra cada, todas onservadas em formol.	1- Massa calcâneo membro posterior direito- Retalho cutâneo de 3,5cm x 3,5cm x 0,7cm. Presença de lesão subcutânea com 1,5cm x 1,5cm x 0,3cm. Após seção, apresenta arquitetura homogênea, cor branca e consistência firme. Margem profunda: 0,1cm; Margem lateral: 0,9cm.
	2 – Massa na virilha esquerda - Retalho cutâneo de 4cm x 3cm x 2,2cm. Presença de lesão subcutânea de 1cm x 1cm x 0,5cm de forma discoide. Após seção, apresenta arquitetura heterogênea, cor castanha com focos hemorrágicos e consistência firme. Margem profunda: 1,7cm; Margem Lateral: 1cm.
	3 – Massa coxa direita - Retalho cutâneo de 4cm x 2,5cm x 4cm. Presença de lesão subcutânea de 1cm x 0,5cm x 0,3cm de forma discoide. Após seção, apresenta arquitetura heterogênea, cor castanha com focos hemorrágicos e consistência firme. Margem profunda: 3,5cm; Margem Lateral: 1,5cm
	4 – Massa joelho direito – Retalho cutâneo de 2cm x 1cm x 0,5cm. Macroscopicamente sem alterações
Descrição microscópica	1 - Nódulo subcutâneo não capsulado mas bem demarcado composto por mastócitos em cordões num estroma laxo edematoso. As células apresentam baixa atipia e não se identificam mitoses. Entre as células identificam-se eosinófilos. Margem profunda de 0,1 cm em tecido adiposo e margem lateral de 1 cm.
	2 - Retalho cutâneo que apresenta ao nível do tecido adiposo subcutâneo, a proliferação não capsulada mas bem demarcada de mastocitos. As células apresentam bom grau de diferenciação e não se identificam mitoses. Entre os mastócitos identificam-se eosinófilos. Margem profunda com 1,7cm de tecido adiposo e margem lateral com 1cm.
	3 - Retalho cutâneo que apresenta ao nível do tecido adiposo subcutâneo, a proliferação não capsulada mas bem demarcada de mastocitos. As células apresentam bom grau de diferenciação e não se identificam mitoses. Entre os mastócitos identificam-se eosinófilos. Margem profunda com 3,5 cm de tecido adiposo e margem lateral com 1,5 cm.
	4 - Nódulo dérmico superficial não capsulado mas bem demarcado composto por mastócitos. As células são bem diferenciadas e não se identificam mitoses. Entre os mastócitos identificam-se eosinófilos. Margens de 1 cm lateralmente e de 1 cm em profundidade com tecido adiposo.
Diagnóstico	1 – Mastocitoma subcutâneo circunscrito
	2 - Mastocitoma subcutâneo circunscrito
	3 - Mastocitoma subcutâneo circunscrito
	4 – Mastocitoma cutâneo grau I de Patnaik e baixo grau de Kiupel

