

ANA RITA SANTOS ROQUE RODRIGUES

**QUIMIOTERAPIA E TERAPIA MOLECULAR NO
TRATAMENTO DE MASTOCITOMAS CANINOS:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Orientadora: Professora Doutora Andreia Santos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2015

ANA RITA SANTOS ROQUE RODRIGUES

**QUIMIOTERAPIA E TERAPIA MOLECULAR NO
TRATAMENTO DE MASTOCITOMAS CANINOS:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Membros do júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso
Arguente: Professora Doutora Justina Prada Oliveira
Orientadora: Professora Doutora Andreia Santos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2015

**A compaixão para com os animais é
das mais nobres virtudes da natureza
humana.**

(Charles Darwin)

Dedicatória

Dedico este trabalho a todas as pessoas que me apoiaram durante todo o meu percurso, ficarei para sempre grata pela ajuda que me concederam.

Agradecimentos

À Doutora Andreia Santos, por todos os ensinamentos, orientação e conselhos, pela sua simpatia constante que pautou a sua orientação, incentivando sempre o meu trabalho.

Ao Doutor Luís Lima Lobo, pelos conhecimentos transmitidos durante o estágio curricular e pela ajuda na decisão do tema desta dissertação de Mestrado.

Ao Professor Paulo Gomes por me ter ajudado na componente estatística deste trabalho.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, em especial a todos os docentes pelos conhecimentos que me transmitiram ao longo destes 6 anos.

Aos Médicos Veterinários do Hospital Veterinário do Porto pelo exemplo de profissionalismo e por me terem transmitido princípios e conhecimentos tão valiosos durante o meu estágio curricular.

A todos os meus colegas e estagiários, pela partilha de experiências, conhecimento e amizade.

A toda a minha família. Com um agradecimento especial aos meus pais, pela confiança que sempre depositaram em mim, pelos valores, determinação e educação que me transmitiram e por me terem dado a liberdade de concretizar este sonho. Às minhas avós por toda a força que me têm dado desde que iniciei este meu percurso académico.

Ao Jorge por estar sempre presente durante todo meu percurso, pelos conselhos e perseverança que me deu e por acreditar sempre em mim ao longo de todo este tempo.

A todas as minhas amigas, tanto da Faculdade como da infância, que também desempenharam um papel muito importante neste percurso que fiz até aqui.

Sem todas estas pessoas, a realização deste sonho não seria possível. Desejo apenas, que esta dissertação e a sua defesa possam estar ao vosso patamar, visto que a mim ainda me cabe percorrer um longo caminho.

A todos, um enorme agradecimento.

Resumo

Quimioterapia e terapia molecular no tratamento de mastocitomas caninos: Revisão Sistemática.

O mastocitoma cutâneo canino é considerado uma das neoplasias de pele mais frequentes no cão. Esta revisão sistemática incluiu ensaios clínicos randomizados e estudos prospectivos publicados entre 1997 e 2013, tendo-se analisado no total 13 artigos (898 cães) sobre quimioterapia e terapia molecular no tratamento de mastocitomas cutâneos caninos, com o objectivo de avaliar a eficácia e segurança dos diferentes tipos de protocolo em cães com mastocitomas de grau histológico II e III, com ou sem evidência de metastização.

Os estudos destes dois grupos de tratamento foram comparados quanto à sua validade, avaliação dos participantes, características dos participantes e neoplasias, avaliação dos resultados e ainda em relação aos seus efeitos adversos.

O protocolo de quimioterapia com maior eficácia emprega a administração alternada de lomustina, vinblastina e prednisolona, mas um terço dos doentes apresentam efeitos adversos moderados a severos.

Dos inibidores de tirosinas-cinases, o fosfato de toceranib foi o que apresentou uma maior taxa de eficácia clínica. A sua toxicidade assemelha-se à dos protocolos de quimioterapia, pelo que a sua utilização deve ser igualmente monitorizada.

No conhecimento do autor esta é a primeira revisão sistemática realizada em Portugal sobre a eficácia clínica e segurança destes dois grupos de tratamentos do mastocitoma cutâneo canino.

Palavras-chave: Mastocitoma cutâneo canino, Revisão Sistemática, Quimioterapia, Terapia Molecular, Efeitos Adversos.

Abstract

Chemotherapy and small molecule tyrosine kinase inhibitors for treatment of canine mast cell tumours: Systematic Review

Mast cell tumors represent one of the most common cutaneous tumours in the dog. This systematic review included randomized controlled trials and prospective clinical trials published between 1997 and 2013. Thirteen studies, enrolling 898 dogs, about chemotherapy and small molecule tyrosine kinase inhibitors were included in this systematic review on the treatment of mast cell tumours, in order to evaluate the efficacy and safety of different types of protocols in dogs with grade II /III tumours with or without metastasis.

These two groups of studies were compared with regard to validity, subjects' assessment, subjects and tumours characteristics, outcomes assessment and adverse drug events.

The most efficient protocol included the administration of lomustine, vinblastine and prednisolone, however one third of the dogs exhibited mild to severe adverse events.

In the group of tyrosine kinase inhibitors, toceranib phosphate demonstrated the higher clinical efficacy. However, patients receiving toceranib phosphate should be closely monitored, as they would be for conventional cytotoxic therapy due to the toxicity related events.

To the best knowledge of the author this was the first systematic review in Portugal about clinical efficacy and safety of these two options of canine cutaneous mast cell tumours treatment.

Keywords: Canine cutaneous mast cell tumours, Systematic review, Chemotherapy, Small molecule tyrosine kinase inhibitors, Adverse effects.

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AEM – Agência Europeia de Medicamentos

AgNORs - Regiões organizadoras nucleolares argirófilas

ALP – Fosfatase alcalina

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

ARN – Ácido ribonucleico

ATP – Adenosina trifosfato

BID – Duas vezes ao dia

BUN - Ureia

CCNU - *1-[2-chloroethyl] 3-cyclohexyl-1-nitrosurea* (Lomustina)

DE – Doença estável

DR – Duração de resposta

ECRC – Ensaio clínico randomizado e controlado

ECRCC - Ensaio clínico randomizado controlado e cego

FCEA – Fase cega e de estudo aberto

GLR – Gânglios linfáticos regionais

Gy – Gray

IL – Interleucina

ILD – Intervalo livre de doença

ILP – Intervalo livre de progressão

IM – Índice mitótico

ITT – Intenção-de-tratar

IV – Via intravenosa

MBE – Medicina Baseada na Evidência

n – Número de observações

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PCNA – Antígeno proliferativo celular nuclear

PD – Progressão de doença

PDGFR – Receptor para o factor de crescimento derivado das plaquetas

PO – Via *per os*

QID – Quatro vezes ao dia

QOD- A cada 48 horas

RBO – Resposta biológica observada

RC – Resposta completa

RECIST – *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*

RGC – Resposta global confirmada

RP – Resposta parcial

RS – Revisão sistemática

RTC – Receptores de tirosinas-cinases

SC – Via subcutânea

SCF – *Stem cell factor*

SID – Uma vez por dia

TID – Três vezes ao dia

TDE – Taxa de doença estável

TPD – Taxa de progressão de doença

TRBO – Taxa de resposta biológica observada

TRC – Taxa de resposta completa

TRG – Taxa de resposta global

TRP – Taxa de resposta parcial

TS – Taxa de sobrevida

TSG – Tempo de sobrevida global

VEGFR – Receptor para o factor de crescimento do endotélio vascular

Índice Geral

Introdução	17
I – Mastocitomas caninos	17
1.1 Mastocitoma cutâneo canino.....	17
1.2 Epidemiologia do mastocitoma cutâneo canino	17
1.3 Etiopatogenia.....	18
1.4 Apresentação clínica	19
1.5 Apresentação nas formas cutânea/subcutânea e visceral.....	20
1.6 Síndromes paraneoplásicas	21
1.7 Diagnóstico	22
1.7.1 Avaliação citológica e histológica.....	22
1.7.2 Estadiamento clínico	23
1.8 Prognóstico	26
1.8.1 Género, faixa etária e predisposição racial.....	27
1.8.2 Taxa de crescimento e tamanho tumoral	27
1.8.3 Localização e número de tumores apresentados	27
1.8.4 Estadiamento clínico	28
1.8.5 Sinais sistémicos.....	28
1.8.6 Recidivas locais.....	29
1.8.7 Factores de prognóstico: histopatológicos e imunohistoquímicos	29
1.9 Modalidades terapêuticas.....	33
1.9.1 Mastocitomas de grau I e II sem envolvimento dos gânglios linfáticos... 34	
1.9.2 Mastocitomas de grau I e II com envolvimento dos gânglios linfáticos .. 35	
1.9.3 Mastocitomas de grau III	36
1.9.4 Mastocitomas recorrentes e/ou metastáticos	37
1.9.5 Radioterapia	38
1.9.6 Quimioterapia.....	39
1.9.7 Terapias moleculares: inibidores de tirosinas-cinases.....	42
1.9.8 Outras terapias	45
1.9.9 Terapêutica de suporte	46
II - A importância da Revisão Sistemática das publicações científicas	47

1. Medicina Baseada na Evidência	47
1.1 Contextualização histórica	47
1.2 Definição.....	47
1.3 Tipos de estudos e hierarquia da evidência científica.....	48
2. Revisão sistemática da literatura.....	50
2.1 Definição.....	51
2.2 Revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados.....	51
2.3 Processo de elaboração de uma revisão sistemática.....	52
2. Objectivos	57
3. Materiais e métodos.....	58
3.1 Caracterização do estudo	58
3.2 Definição da questão de investigação	58
3.3 Critérios de inclusão e exclusão dos estudos	59
3.4 Estratégia de pesquisa	61
3.5 Selecção dos estudos.....	62
3.6 Colheita de dados	62
3.7 Avaliação crítica.....	62
3.7.1 Avaliação da qualidade metodológica	62
3.7.2 Avaliação da qualidade das características de selecção dos participantes	63
3.7.3 Avaliação dos medidores de resposta	63
3.8 Síntese dos dados.....	64
3.9 Análise estatística	65
4. Resultados	66
4.1 Processo de pesquisa e selecção dos estudos.....	66
4.2 Descrição dos estudos	68
4.3 Selecção e validade dos estudos	68
4.4 Avaliação dos participantes	72
4.4.1 Estudos de quimioterapia	72
4.4.2 Estudos com inibidores de tirosinas-cinases	78

4.5 Avaliação dos resultados dos estudos em termos de resposta aos tratamentos	82
4.5.1 Resposta global	82
4.5.2 Avaliação das diferentes respostas aos tratamentos com quimioterapia	86
4.5.3 Avaliação das diferentes respostas aos tratamentos com inibidores de tirosinas-cinases	90
4.5.4 Duração da resposta	93
4.5.5 Recidivas	93
4.5.6 Tempo de sobrevida global	93
4.5.7 Taxa de sobrevida	94
4.5.8 Intervalo livre de progressão	94
4.5.9 Taxa de resposta biológica observada	95
4.6 Análise estatística de comparação dos resultados entre protocolos terapêuticos	96
4.6.1 Comparação da eficácia do tratamento com quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases	96
4.6.2 Comparação da eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-cinases versus placebo	96
4.6.3 Comparação entre a taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos nos dois grupos de tratamentos (quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases)	96
4.6.4 Relação entre as taxas de interrupções associadas aos efeitos adversos e a resposta ao tratamento para o grupo de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases	94
4.6.5 Heterogeneidade das respostas ao tratamento do grupo de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases: Análise Q de Cochran	94
5. Discussão	96
6. Conclusão	106
7. Referências Bibliográficas	108
Apêndices	I
Apêndice I.	I
Apêndice II.	II
Apêndice III.	V
Apêndice IV.	VII

Apêndice V.....	VIII
Apêndice VI.....	IX
Anexos.....	X
Anexo I	X
Anexo II	X
Anexo III	XI
Anexo IV	XI
Anexo V	XI
Anexo VI	XII
Anexo VII	XII
Anexo VIII	XIII
Anexo IX	XIII

Índice de tabelas

Quadro 1 - Classificação histopatológica de mastocitomas cutâneos (Adaptado de Blackwood et al., 2010 e de Kiupel et al., 2011).....	23
Quadro 2 - Sistema de estadiamento clínico segundo a OMS para mastocitomas (Adaptado de Owen, 1980; Dobson & Scase, 2007).....	24
Quadro 3 - Sistema de estadiamento clínico proposto por London (2010).....	24
Quadro 4 - Factores de prognóstico histológicos e imunohistoquímicos do mastocitoma cutâneo canino (Adaptado de Blackwood et al., 2012).	33
Quadro 5 - Protocolos quimioterápicos para o tratamento de mastocitoma cutâneo canino e respectivas respostas globais e toxicidade (Adaptado de Blackwood, 2010).....	400
Quadro 6 - Inibidores de tirosinas-cinases utilizados em cães e gatos (Adaptado de London, 2009).	43
Quadro 7 - Principais fármacos utilizados como tratamento de suporte no mastocitoma canino (Adaptado de Welle et al., 2008).	47
Quadro 8 – Tipos de estudos epidemiológicos (Adaptado de Bonita et al., 2010).	48
Quadro 9 – Níveis de evidência de acordo com o tipo de questão clínica (Adaptado de Powers, 2011).	49
Quadro 10 - Tipo de estudos indicados para cada tipo de revisão sistemática e principais pontos de avaliação (Adaptado de Varandas & Carneiro, 2006).	53
Quadro 11 – Descrição do acrónimo PICO (participantes sem metástases).....	58
Quadro 12 – Descrição do acrónimo PICO (participantes com metástases).....	59
Quadro 13 - Descrição dos critérios de inclusão dos estudos.	60
Quadro 14 – Descrição dos critérios de exclusão dos estudos.	61
Quadro 15 – Palavras-chave utilizadas na estratégia de pesquisa na base de dados PubMed.....	61
Quadro 16 – Definições dos medidores de resposta da terapia oncológica (Adaptado de Withrow et al., 2013).....	64
Quadro 17 - Motivos de exclusão dos estudos.	67

Tabela 1 – Estratégia de pesquisa para a base de dados PubMed (pesquisa global).	66
Tabela 2 – Estratégia de pesquisa para a base de dados PubMed (pesquisa relacionada com quimioterapia).	66
Tabela 3 – Quimioterapia: selecção e validade dos estudos.	70
Tabela 4 - Inibidores de tirosinas-cinases: selecção e validade dos estudos.	71
Tabela 5 - Quimioterapia: avaliação dos participantes.	74
Tabela 6 - Quimioterapia: Descrição da resenha, intervenções terapêuticas anteriores, localização e tamanho tumoral, estadiamento clínico e características microscópicas da amostra/estudo.	75
Tabela 7 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “margens cirúrgicas” e número de estudos com doença mensurável/microscópica.	77
Tabela 8 - Inibidores de tirosinas-cinases: avaliação dos participantes.	79
Tabela 9 - Inibidores de tirosina-cinase: Descrição da resenha, intervenções terapêuticas anteriores, localização e tamanho tumoral, estadiamento clínico e características microscópicas da amostra/estudo.	80
Tabela 10 - Quimioterapia: avaliação dos medidores de resposta.	84
Tabela 11 - Inibidores de tirosina-cinase: avaliação dos medidores de resposta.	85
Tabela 12 – Quimioterapia: efeitos adversos observados durante os estudos (com Apêndice V com graus de efeitos adversos).	89
Tabela 13 - Inibidores de tirosina-cinase: efeitos adversos observados durante os estudos (com Apêndice V com graus de efeitos adversos).	92
Tabela 14 - Análise Q de Cochran e I^2 (grupo de quimioterapia).	94
Tabela 15 - Análise Q de Cochran e I^2 (grupo de inibidores de tirosinas-cinases).	95

Índice de figuras

Figura 1 - Abordagem terapêutica em mastocitomas de grau I ou II em estadio 0 e I (adaptado de London & Thamm, 2013).	35
Figura 2 – Abordagem terapêutica em mastocitomas de grau III (Adaptado de London & Thamm, 2013).	377
Figura 3 - Fluxograma da selecção dos estudos incluídos na revisão sistemática.	67
Gráfico 1 – Hierarquia dos níveis de evidência científica (Adaptado de Sackett et al., 2000).	50
Gráfico 2 – Distribuição do tipo de estudo (grupo de quimioterapia).	69
Gráfico 3 – Distribuição do tipo de estudo (grupo de inibidores de tirosinas-cinases). ..	69
Gráfico 4 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “género”.	72
Gráfico 5 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “tratamentos prévios”. ..	76
Gráfico 6 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “número de tumores”. ..	77
Gráfico 7 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “localização tumoral”. ..	77
Gráfico 8 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “género”.	78
Gráfico 9 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “mutação C-KIT”.	81
Gráfico 10 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “tratamentos prévios”.	82
Gráfico 11 - Comparação das respostas aos diferentes protocolos de quimioterapia. ...	86
Gráfico 12 - Comparação das respostas aos diferentes inibidores de tirosinas-cinases	90

Introdução

I – Mastocitomas caninos

1.1 Mastocitoma cutâneo canino

Os mastócitos foram descritos pela primeira vez em 1877 por Paul Ehrlich, tendo-os assim designado devido às características tintoriais dos grânulos intracitoplasmáticos que são metacromáticos (Ehrlich, 1877). Contudo, só em 1952 o termo “Mastocitoma” foi referenciado por Bloom (Strefezzi *et al.*, 2009).

O mastocitoma cutâneo canino é considerado uma das neoplasias de pele mais comuns no cão, representado cerca de 16 a 21% da totalidade de tumores cutâneos (London & Thamm, 2013), sendo a segunda neoplasia mais frequente dos tumores com carácter maligno desta espécie (London, 2010).

Esta neoplasia é constituída por proliferações solitárias ou multifocais de mastócitos, cujo comportamento biológico varia com o grau de maturação celular (Blackwood *et al.*, 2012). Apresentam um comportamento biológico extremamente variável, que se caracteriza desde uma massa benigna até uma doença metastizante com desfecho fatal (Patnaik *et al.*, 1984). Normalmente são localizados na derme ou no tecido subcutâneo, contudo podem envolver localizações extra-cutâneas (Marchetti *et al.*, 2007) e a forma visceral de origem mielóide ou metastática (Moore *et al.*, 2002; Steffey *et al.*, 2004; Marconato *et al.*, 2008).

1.2 Epidemiologia do mastocitoma cutâneo canino

Esta neoplasia cutânea afecta sobretudo cães adultos com uma média de idades compreendida entre os 8 e 9 anos (Patnaik *et al.*, 1984; Dobson & Scase, 2007; Costa-Casagrande *et al.*, 2008; London, 2010). Contudo, foram descritos casos esporádicos em animais jovens, nomeadamente, num Jack Russel Terrier de apenas 3 semanas de idade (Davies *et al.*, 1992) e ainda, num Pastor Alemão com cerca de 7 semanas de idade (Cole, 1990). Deve-se ainda salientar que, nos Shar-Pei parece existir uma maior incidência desta neoplasia em animais jovens, tendo estes uma idade inferior a 2 anos (Miller, 1995).

Os mastocitomas cutâneos caninos podem surgir em qualquer raça ou cruzamento de raças, contudo, existem raças com uma maior incidência, nomeadamente Pug, Labrador e Golden Retriever, Cocker Spaniel, Dachshund, Schnauzer, Staffordshire Terriers, Beagle, Leão da Rodésia, Weimaraner, Shar-Pei, Pointer, Terrier Escocês, Cão de Gado Australiano e Pastor Alemão (Patnaik *et al.*, 1984; Baker-Gabb *et al.*, 2003;

Gross *et al.*, 2005). Estudos sugerem que raças com ancestral comum de Bulldog, como o Boxer, Boston Terrier, Bulldog Inglês, o Bullmastiff e o Pug, apresentam uma predisposição genética para o mastocitoma cutâneo (Patnaik *et al.*, 1984; Baker-Gabb *et al.*, 2003; Gross *et al.*, 2005; London & Thamm, 2013). Murphy (2007) reportou que a raça Shar-Pei tendem a manifestar tumores com alto grau de malignidade.

Existem raças que sugerem alguma predisposição para o desenvolvimento de tumores em localizações específicas. A raça Boxer, Boston Terrier, Pug, Setter Inglês, American Staffordshire Terrier desenvolvem com frequência, tumores nos membros posteriores. Por outro lado, o Leão da Rodésia apresenta com maior frequência, tumores na cauda e ainda, o Setter Inglês manifesta tumores na região da cabeça (Goldschmidt & Shoffer, 1994). As raças que têm predisposição para desenvolverem tumores múltiplos são: os Boxers (Goldschmidt & Shoffer, 1994; Kiupel *et al.*, 2005), Pugs, Weimeraner (Goldschmidt & Shoffer, 1994) e ainda os Golden Retriever (Murphy *et al.*, 2006). Por outro lado, a raça Labrador Retriever apresenta um baixo risco para esta forma da doença (Murphy *et al.*, 2006).

1.3 Etiopatogenia

A etiopatogenia do mastocitoma cutâneo canino é desconhecida (London & Seguin, 2003; London & Thamm, 2013). A predisposição genética, as alterações moleculares e as mutações genéticas têm sido sugeridas como as causas mais prováveis de induzir a sua génese. Em raras ocasiões, o desenvolvimento de mastocitomas cutâneos foi associado à inflamação crónica ou à exposição de carcinogénicos tópicos (Dunn & Patter, 1957; Hottendorf & Neilsen, 1967; Peterson, 1985). Alterações no gene supressor tumoral p53 têm sido identificadas nalguns mastocitomas cutâneos caninos (Ginn *et al.*, 2000; Jaffe *et al.*, 2000; Ozaki *et al.*, 2002; London & Thamm, 2013), contudo, a sua sequenciação num número limitado de casos não revelou a presença de mutações (Mayr *et al.*, 1999).

Nos últimos anos, os estudos revelaram uma mutação que consiste numa duplicação interna em tandem nos exões 11 e 12 do domínio justamembranar do C-KIT em canídeos. Esta região controla o C-KIT por “*feedback*” negativo, inibindo o receptor da dimerização (London *et al.*, 1999). O C-KIT é o produto proteico do proto-oncogene C-KIT (Yarden *et al.*, 1987), codificado para o receptor transmembranário KIT, que é um receptor do tipo tirosina-cinase III que se liga ao “*stem cell factor*” (SCF) (London & Thamm, 2013). O SCF conduz o ciclo completo do mastócito, desde a proliferação até à

diferenciação (Nilsson & Metcalfe, 1996). Este factor é responsável pela activação do C-KIT, pela associação do C-KIT com determinadas proteínas citoplasmáticas e pela fosforilação de outras proteínas provenientes do citosol, iniciando uma cascata de sinalização que conduz a várias respostas celulares nomeadamente proliferação e diferenciação celular (Kitayama *et al.*, 1995; Hill & Martin, 1998; London & Thamm, 2013). A ocorrência de mutações no C-KIT está descrita em 15-40% dos casos de mastocitoma caninos (London *et al.*, 1999; Downing *et al.*, 2002; Pryer *et al.*, 2003; Webster *et al.*, 2006a; Letard *et al.*, 2008; Takeuchi *et al.*, 2010). Estas vão afectar o domínio justamembranar e o C-KIT torna-se activo na ausência do ligando, conduzindo a uma sinalização amplificada ou constitutiva da proteína resultando na proliferação aberrante e na sobrevivência das células mutadas (London *et al.*, 1999; Zemke *et al.*, 2002; Zavodovskaya *et al.*, 2004). Este fenómeno parece ser mais comum em mastocitomas de diferenciação intermédia (grau II) e indiferenciados (grau III) e podem estar associados a um pior prognóstico (Downing *et al.*, 2002).

As mutações no C-KIT e a localização aberrante de proteínas KIT estão associadas com a expressão aumentada de Ki-67 e de regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNORs), ambos marcadores de proliferação celular aumentada (Kiupel *et al.*, 2004; Webster *et al.*, 2007). A expressão do C-KIT foi demonstrada por imunohistoquímica em mastócitos normais e neoplásicos, apresentando uma elevada expressão em mastocitomas caninos de carácter indiferenciado (Morini *et al.*, 2004; Gil da Costa *et al.*, 2007; Welle *et al.*, 2008). Em mastócitos normais é membranar, contudo a maioria dos mastócitos neoplásicos apresenta padrões de expressão do C-KIT adjacentes ao núcleo (citoplasmática) (Kiupel *et al.*, 2004). A localização aberrante do C-KIT está relacionada com o aumento da actividade proliferativa dos mastocitomas (Kiupel *et al.*, 2004; Sfiligoi *et al.*, 2005), e consequentemente com maiores taxas de recidiva local e menor tempo de sobrevida dos animais (Kiupel *et al.*, 2005).

1.4 Apresentação clínica

Os mastocitomas são conhecidos como os “grandes imitadores”, visto que podem mimetizar outras lesões cutâneas e, consequentemente deve ser considerado como diagnóstico diferencial de qualquer nódulo cutâneo (Scott *et al.*, 2001; Murphy, 2007). Normalmente, estes surgem na derme ou no tecido subcutâneo, mas podem manifestar localizações extra-cutâneas como a conjuntiva, órbita (Grahm *et al.*, 1994; Barsoti *et al.*, 2007), nasofaringe, laringe, cavidade oral, glândulas salivares mandibulares, traqueia,

mucosa intestinal (Patnaik *et al.*, 1984), uretra, medula espinhal e osso esfenóide (Beltran *et al.*, 2010). Como também na forma visceral que pode ter origem mielóide ou metastática (Moore *et al.*, 2002; Steffey *et al.*, 2004; Marconato *et al.*, 2008).

A apresentação macroscópica é muito variável, a maioria surge como massas ou placas alopecicas, eritematosas e edematosas (Goldschmidt & Hendrick, 1994). O tamanho é variável mas estão descritas dimensões inferiores a 3 cm em 56% dos casos (Bensignor *et al.*, 1996; Gross *et al.*, 2005). Estas lesões surgem geralmente sob a forma de nódulos solitários mas 5-29% dos casos manifesta-se através de lesões múltiplas (Mullins *et al.*, 2006; Welle *et al.*, 2008; London, 2010). O aspecto clínico foi correlacionado com o grau de diferenciação histológica (Bostock & Dye, 1973). Os mastocitomas descritos histologicamente como bem diferenciados são geralmente lesões solitárias, que possuem diâmetros que abrangem 1 a 4 cm. Estes caracterizam-se pelo crescimento lento, há pelo menos 7 meses, pela ausência de ulceração (London & Seguin, 2003) e por apresentarem à palpação uma consistência mole e, por vezes, podem surgir como alopecicos (Blackwood *et al.*, 2012). Os mastocitomas indiferenciados apresentam um crescimento rápido, são ulcerados e pruríticos e os seus tecidos adjacentes exibem eritema ou edema (Bostock & Dye, 1973; Govier, 2003; Blackwood *et al.*, 2012), existindo a possibilidade de desenvolvimento de pequenos nódulos satélites nos tecidos em redor (Blackwood *et al.*, 2012). A manipulação mecânica do tumor por palpação ou o trauma da massa tumoral pode provocar um fenómeno designado de “Sinal de Darier” que se caracteriza pelo edema local e inflamação devido à libertação de histamina, heparina e outros mediadores vasoactivos dos mastócitos (Govier, 2003).

1.5 Apresentação nas formas cutânea/subcutânea e visceral

As localizações predominantes, incluem as extremidades (48-60% dos casos), o tronco (25-40%), a cabeça e a região cervical (10-16%) (Sfiligoi *et al.*, 2005). As localizações menos frequentes são o escroto, períneo e a base da cauda (Welle *et al.*, 2008). As lesões cutâneas podem surgir sob uma forma simples, isto é, uma só localização tumoral, ou ainda, sob a forma multicêntrica, em que manifestam numerosas massas neoplásicas na superfície cutânea (Goldschmidt & Hendrick, 1994; Bensignor *et al.*, 1996). Podem surgir de forma síncrona ou sequencial (Gross *et al.*, 2005). Quanto aos mastocitomas múltiplos síncronos, ainda não se clarificou se estes representam eventos independentes, se são devido a um processo de doença sistémica, ou se resultam de metastização (Kiupel *et al.*, 2005).

A forma visceral, geralmente é o resultado da disseminação de um tumor primário agressivo com origem cutânea e envolve o baço, fígado ou ainda a medula óssea (Tyrrel & Davis, 2001). Pode ainda existir desenvolvimento de um mastocitoma visceral primário devido à transformação tumoral de mastócitos presentes na medula óssea ou nos órgãos internos, embora seja menos frequente (Takahashi *et al.*, 2000; London & Seguin, 2003).

1.6 Síndromes paraneoplásicas

As síndromes paraneoplásicas relativamente aos mastocitomas resultam da libertação de substâncias bioactivas presentes nos grânulos dos mastócitos, podendo ocorrer em mais de metade dos animais afectados (Welle *et al.*, 2008). Os cães com mastocitoma apresentam níveis plasmáticos de histamina significativamente superiores em relação a cães saudáveis, comparativamente com os níveis de gastrina que permanecem baixos (Van Gelderen *et al.*, 2010). Os sinais clínicos associados devem-se maioritariamente à libertação de histamina podendo ocorrer ulceração gastroduodenal em cerca de 35-83% dos animais (Fox *et al.*, 1989; Blackwood *et al.*, 2012); glomerulonefrites em 30% dos mastocitomas solitários (Hottendorf & Nielsen, 1968) e em 70% nos casos de mastocitose sistémica (North & Banks, 2009); aumento do tempo de coagulação em 30% dos animais (Bensignor *et al.*, 1996); eosinofilia; aumento do tempo de cicatrização e episódios de choque anafilático (O'Keefe, 1990; Bensignor *et al.*, 1996). A histamina libertada pela manipulação dos mastocitomas bloqueia os receptores H1 e H2 dos macrófagos, induzindo a libertação do factor supressor dos fibroblastos que reduz a síntese de colagénio e consequentemente surge atraso da cicatrização (Thamm & Vail, 2007). Contudo, também se pode dever à libertação de heparina, que aumenta o tempo de coagulação, tanto a nível dos nódulos como em redor dos mesmos (Welle *et al.*, 2008).

Relativamente à ulceração gástrica e duodenal esta é precedida por sinais clínicos como, a anorexia, vómito, hematoquézia, melena, anemia, dor abdominal e em casos mais graves de tumores de elevado grau de malignidade, poderá ocorrer perfuração gastrointestinal e consequente peritonite (Howard *et al.*, 1969; Dobson & Scase, 2007; Thamm & Vail, 2007). A sua patogenia provavelmente está associada a uma combinação entre níveis plasmáticos de histamina aumentados, que estimulam os receptores H2 gástricos produzindo excesso de ácido clorídrico pelo estômago, hipermotilidade e lesões vasculares (London & Seguin, 2003; Thamm & Vail, 2007). A eosinofilia ocorre com mais frequência em mastocitomas disseminados e pode resultar da resposta provocada pela produção de IL-2 e IL-5 (Gaschen & Teske, 2005; North & Banks, 2009). Quanto

aos episódios de choque anafilático súbito, estes são raros embora tenham sido descritos casos de choque hipotensivo em animais com doença metastática, sendo que, estes podem resultar da manipulação tumoral durante a cirurgia (Dobson & Scase, 2007; Thamm & Vail, 2007).

1.7 Diagnóstico

Existem três passos cruciais que pertencem ao plano diagnóstico de cães com suspeita de mastocitoma cutâneo: o diagnóstico definitivo, que deve ser sempre realizado através de citologia e histopatologia da massa tumoral; o estadiamento clínico; e por fim, o registo de sinais clínicos relativos às síndromes paraneoplásicas (Welle *et al.*, 2008).

1.7.1 Avaliação citológica e histológica

A avaliação citológica com colheita de material por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) é o meio mais expedito para diagnosticar a presença de um mastocitoma cutâneo, contudo deve-se ter sempre cientes os diagnósticos diferenciais de tumores de células redondas que apresentem pouca granulação microscópica, nomeadamente: linfoma, plasmacitoma, histiocitoma e tumor venéreo transmissível (London & Seguin, 2003). A PAAF da massa tumoral é uma técnica simples que deve ser realizada previamente à cirurgia, visto que, um diagnóstico pré-cirúrgico de mastocitoma pode influenciar, não só no tipo, mas também na amplitude da intervenção cirúrgica (Govier, 2003).

O grau do mastocitoma só é obtido através da avaliação histológica de biópsias incisionais ou excisionais (Dobson & Scase, 2007; London & Thamm, 2013). A obtenção do grau histológico é importante para a determinação das margens cirúrgicas, sobretudo se a massa tumoral se desenvolver numa localização que não permita uma abordagem cirúrgica com margens amplas (Thamm & Vail, 2007). O grau histológico é o principal factor para a determinação do prognóstico desta doença, nomeadamente para avaliar a taxa de recorrência ou metastização após a excisão cirúrgica (Lemarié *et al.*, 1995). Actualmente existem dois sistemas de classificação do grau histológico: a classificação de Patnaik (3 graus histológicos) e a classificação de Kiupel (2 graus histológicos) (Quadro 1). O sistema de classificação histológica mais frequentemente usado é o de Patnaik *et al.*, (1984), apesar do sistema de classificação mais recente, Kiupel *et al.*, (2011), classificar os mastocitomas em grau baixo ou elevado e revelar maior precisão no estabelecimento do prognóstico (Kiupel *et al.*, 2011; London & Thamm, 2013).

Quadro 1 - Classificação histopatológica de mastocitomas cutâneos (Adaptado de Blackwood et al., 2010 e de Kiupel et al., 2011).

Classificação de PATNAIK	
Grau	Critério Histológico
I	Células redondas, monomórficas, bem diferenciadas e de limites distintos; núcleo redondo; grânulos citoplasmáticos de tamanho médio; figuras mitóticas ausentes. Tumor confinado à derme. Bem diferenciado, bom prognóstico.
II	Células pleomórficas redondas a ovais, com limites menos distintos; presença de pequenos grânulos citoplasmáticos; núcleo redondo a indentado; 0-2 figuras mitóticas por campo de grande ampliação. Tumor pode estender-se à derme, tecido subcutâneo e tecidos mais profundos. Diferenciação intermédia, prognóstico intermédio.
III	Muito celular, células pleomórficas de limites indistintos; núcleo irregular com forma e tamanho variável com um ou mais nucléolos proeminentes; contém 3-6 figuras mitóticas por campo de grande ampliação. Tumor pode estender-se à derme, tecido subcutâneo e tecidos mais profundos. Fracamente diferenciados, mau prognóstico.
Classificação de KIUPEL	
Elevado	Pelo menos um dos seguintes parâmetros: 7 figuras mitóticas, 3 células multinucleadas, 3 núcleos bizarros por campo de visão de 10; cariomegália. Mau prognóstico.
Baixo	Tumor que não possua nenhum carácter de elevado grau. Bom prognóstico.

1.7.2 Estadiamento clínico

O estadiamento clínico do tumor tem como objectivo decidir qual o tratamento a aplicar tendo em conta o potencial metastático do tumor (London & Seguin, 2003). Actualmente estão definidos dois sistemas de estadiamento clínico para os mastocitomas. O primeiro foi criado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Quadro 2). Este é controverso, visto que, classifica os tumores múltiplos, como tumores de estadio III, assunto discutido por diversos autores, que sugerem que os mastocitomas múltiplos não têm pior prognóstico, quando comparados com os solitários do mesmo grau histopatológico (Thamm *et al.*, 1999). O outro sistema proposto por London (2010) inclui a presença de infiltração neoplásica dos gânglios linfáticos regionais (GLR) e a metastização à distância (Quadro 3) (London, 2010).

Quadro 2 - Sistema de estadiamento clínico segundo a OMS para mastocitomas (Adaptado de Owen, 1980; Dobson & Scase, 2007).

Estadio clínico	Descrição do tumor e metastização
0	Um tumor incompletamente excisado da derme sem envolvimento do GLR. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
I	Um tumor confinado à derme, sem envolvimento do GLR. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
II	Um tumor confinado à derme, com envolvimento do GLR. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
III	Múltiplos tumores dérmicos ou grandes tumores infiltrativos, com ou sem envolvimento do GLR. a. Sem sinais sistémicos; b. Com sinais sistémicos.
IV	Qualquer tumor com metástases à distância ou recorrente (incluindo envolvimento da medula óssea ou sangue periférico)

Quadro 3 - Sistema de estadiamento clínico proposto por London (2010).

Estadio clínico	Descrição do tumor	Metástases nos GLR	Metastização à distância
I A	Um tumor, confinado à derme, <3cm e bem circunscrito.	Negativo	Negativo
I B	Mais do que um tumor, confinados à derme, > 10 cm de distância inter-lesional e bem circunscritos.	Negativo	Negativo
II	Um ou mais tumores na derme, > 3 cm, ulcerado ou com nódulos satélites e mal circunscrito.	Negativo	Negativo
III	Qualquer uma das anteriores.	Positivo	Negativo
IV	Qualquer uma das anteriores.	Positivo ou Negativo	Positivo

A - sem sinais sistémicos; **B** - com sinais sistémicos

Os GRL devem ser examinados pormenorizadamente para detectar sinais de linfadenomegália e mesmo nos que não são suspeitos deve-se realizar sempre a PAAF. Com efeito, existem GRL com metastização comprovada microscopicamente que não revelam alterações macroscópicas na palpação, pelo que alguns autores recomendam

fazer PAAF a todos os GRL acessíveis independentemente das suas características macroscópicas (London & Seguin, 2003). A presença de mastócitos, em baixo número, na citologia do GRL pode ser considerada normal. São as características morfológicas e a distribuição dos mastócitos nos GLR que definem a metastização precoce (North & Banks, 2009). A citologia aspirativa destes só diagnostica depósitos metastáticos de mastocitoma quando mais de 3% da população celular do gânglio linfático é constituída por mastócitos (Dobson & Scase, 2007). Com base neste critério, estima-se que, 25% dos cães sem mastocitoma sejam diagnosticados com metástases, pelo que o grau de diferenciação citológica e a formação de agregados ou de agrupamentos celulares devem ser avaliados para o diagnóstico da doença metastática (Bookbinder *et al.*, 1992; Dobson & Scase, 2007). Em casos citologicamente duvidosos, dever-se-á proceder à excisão do GLR para a pesquisa histopatológica de metastização ganglionar (London & Thamm, 2013).

A realização de radiografias torácicas para pesquisa de metastização pulmonar apresentam pouco valor diagnóstico dado que, esta metastização é rara de se encontrar, porém, podem-se detectar algumas alterações como, por exemplo, derrame pleural, linfadenomegália esternal ou peri-hilar e ainda, presença de massas mediastínicas (London & Seguin, 2003). Por outro lado, a ecografia abdominal apresenta um elevado valor diagnóstico na avaliação do envolvimento do fígado e do baço, órgãos comumente afectados pela disseminação metastática dos mastocitomas (London & Seguin, 2003; London & Thamm, 2013). Sempre que se realiza uma ecografia abdominal, deve-se realizar uma PAAF ou biópsia ecoguiada com o propósito de se obter um diagnóstico conclusivo (Ballegeer *et al.*, 2007), visto que, existem outros diagnósticos diferenciais para alterações ecográficas hepato-esplénicas, como por exemplo, condições inflamatórias (por exemplo: esplenite, hepatite) ou outras neoplasias. A presença de mastócitos em aspirados celulares destes órgãos deve ser avaliada com precaução, nomeadamente se a morfologia for normal, dado que a sua presença pode ser um achado normal nestas localizações (North & Banks, 2009).

A citologia aspirativa de medula óssea está indicada quando existem sinais de metastização dos GLR ou dos órgãos abdominais (metastização hepática e/ou esplénica) e/ou perante casos de citopénias no hemograma (Welle *et al.*, 2008). Num estudo realizado em mastocitomas com forma visceral, obtiveram-se esfregaços positivos para a presença de mastócitos na camada flogística em 37% dos casos analisados com mastocitomas e 56% dos aspirados de medula óssea apresentaram positividade para estas

células em animais com mastocitomas disseminados (O’Keefe, 1990; Thamm & Vail, 2007). A presença de mastócitos em esfregaços da medula óssea é normal se forem em baixo número e está descrita a presença de mastócitos hiperplásicos em situações de hipoplasia da medula óssea (Rogers, 2010). Os mastocitomas viscerais, ou com disseminação visceral, apresentam um prognóstico reservado, pelo que a presença ou ausência de mastócitos circulantes na corrente sanguínea ou em aspirados da medula óssea em nada altera as decisões de tratamento (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008).

Qualquer animal com suspeita de neoplasia deve realizar um perfil completo de análises hematológicas, bioquímicas e urianálise, que permitam descartar potenciais síndromes paraneoplásicas, avaliar o risco anestésico do doente entre outras alterações que possam comprometer o tratamento a instituir. Nestes animais pode-se detectar eosinofilia provocada pelos factores quimiotáticos libertados pelos mastócitos e podem ainda, apresentar anemia devido a hemorragias provocadas pela ulceração gastrointestinal. A avaliação dos parâmetros bioquímicos permite ainda decifrar se existe ou não comprometimento do sistema hepático ou renal (London *et al.*, 2003).

O esfregaço da camada flogística apresenta uma baixa especificidade para a detecção de mastocitemia que reflita a presença de mastocitomas em cães. Deste modo, a sua utilização para o estadiamento tumoral, é considerada como uma ferramenta de pouco valor clínico (London & Thamm, 2013). Vários estudos concluíram que, a presença de mastócitos no sangue periférico é mais frequente em situações inflamatórias e em processos infecciosos como, por exemplo, doenças alérgicas, pancreatite, pneumonia, parvovirose, doenças cutâneas e gastrointestinais do que em situações de mastocitomas (London & Seguin, 2003; Welle *et al.*, 2008). Os mastocitomas viscerais nos cães representam uma minoria dos casos, pelo que a avaliação de esfregaços sanguíneos está reservada para situações específicas em que os animais apresentem sinais sistémicos, como vômito ou diarreia (North & Banks, 2009).

1.8 Prognóstico

Actualmente, nenhum factor por si só tem a capacidade de prever o comportamento biológico ou a resposta ao tratamento em cães que apresentam mastocitomas cutâneos (Kiupel *et al.*, 2005). Existem diversos factores que podem influenciar o prognóstico; contudo, o factor de prognóstico mais valioso e relevante é o grau histopatológico (Welle *et al.*, 2008). Estudos recentes demonstraram que diversos

marcadores genéticos e imunohistoquímicos podem também ser uma mais-valia na previsão do curso clínico (Welle *et al.*, 2008).

1.8.1 Género, faixa etária e predisposição racial

O género não aparenta ter implicações na sobrevida dos animais (Gieger *et al.*, 2003), no entanto existem referências de que os machos apresentam um menor período de sobrevida comparativamente às fêmeas (Bostock & Dye, 1973; Kiupel *et al.*, 2005) e que as fêmeas tratadas com quimioterapia têm um prognóstico mais favorável quando comparadas com o género masculino (Gerritsen *et al.*, 1998). Um outro estudo indica que os animais castrados apresentam períodos de sobrevida menores, contudo, estes dados não foram confirmados através de uma análise multivariada (Kiupel *et al.*, 2005).

A faixa etária dos canídeos, que apresentam mastocitomas, demonstrou ter uma relação significativa com o período de sobrevida, sendo que os animais com mais de 8-9 anos de idade apresentam um menor período de sobrevida (Michels *et al.*, 2002; Cahalane *et al.*, 2004; Sfiligoi *et al.*, 2005; Scase *et al.*, 2006).

A raça Boxer apresenta mastocitomas cutâneos maioritariamente bem diferenciados e com bom prognóstico (Bostock & Dye, 1973; Bostock, 1986), ao contrário dos Shar-Pei e dos Labrador Retriever que apresentam uma maior susceptibilidade para desenvolverem mastocitomas com comportamento biológico mais agressivo (Miller, 1995; Murphy *et al.*, 2006).

1.8.2 Taxa de crescimento e tamanho tumoral

A taxa de crescimento (tamanho tumoral dividido pelo tempo em semanas em que o tumor está presente) é um importante factor de prognóstico. Por norma, os mastocitomas de crescimento lento e presentes há pelo menos 7 meses demonstram um comportamento benigno (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008). Contrariamente, os que apresentam um crescimento rápido (< 7 meses) tendem a ter um comportamento maligno (Bostock, 1973; Mullins *et al.*, 2006; Thamm & Vail, 2007).

Os tumores de grandes dimensões (> 3 cm) estão associados a um pior prognóstico (Hahn *et al.*, 2004; Mullins *et al.*, 2006).

1.8.3 Localização e número de tumores apresentados

As localizações dos mastocitomas que apresentam um prognóstico mais reservado e com maior tendência para a metastização são as regiões subungueais, prepuciais,

escrotais, orais, assim como noutras mucosas (London & Thamm, 2013). Os animais com mastocitomas localizados na cabeça e no pescoço também apresentam um risco acrescido de desenvolver novos tumores (Kiupel *et al.*, 2005). Com excepção dos tumores subungueais, os mastocitomas localizados nos membros estão associados a uma menor taxa de metastização, a um maior intervalo livre de doença (ILD) e ainda, a um maior tempo de sobrevida comparativamente com os que são localizados no tronco (Forrest, 1997; Turrel *et al.*, 1988). Ao analisar 16 casos de mastocitomas viscerais verificou-se que o tempo médio de sobrevida foi de apenas 90 dias e a totalidade dos animais morreram durante o período de seguimento (O’Keefe *et al.*, 1990).

Apesar de alguns estudos concluírem que os cães com múltiplos mastocitomas cutâneos não apresentam um pior prognóstico comparativamente aos que têm tumores solitários, após a sua excisão completa (Mullins *et al.*, 2006; Murphy *et al.*, 2006; Scase *et al.*, 2006), outros autores demonstraram, através de uma análise multivariada, que a apresentação inicial de múltiplos tumores representa um factor de prognóstico independente para um menor ILD (Kiupel *et al.*, 2005; Preziosi *et al.*, 2007).

1.8.4 Estadiamento clínico

Os tumores identificados como estadio 0 a I (segundo a OMS) apresentam um melhor prognóstico quando comparados com tumores de estadios mais elevados. Além disso, qualquer presença de metástases no momento do diagnóstico diminui significativamente o tempo de sobrevida do animal (Sfiligoi *et al.*, 2005). Relativamente ao estadio II estes podem ser tratados com êxito e atingir ILD, assim como, tempo de sobrevida, semelhantes aos do estadio 0, quando estes são tratados com cirurgia e com quimioterapia adjuvante (Thamm *et al.*, 2006). O sistema OMS atribui às lesões múltiplas um estadio mais elevado do que às lesões simples, havendo contudo um estudo em que cães com tumores múltiplos, estadio III, não apresentaram pior prognóstico do que cães com um único tumor, quando tratados com quimioterapia (Thamm *et al.*, 1999).

1.8.5 Sinais sistémicos

A presença de doença sistémica (i.e. anorexia, vômito, melena, ulceração gastrointestinal) pode estar associada com estadios de doença mais avançada e com pior prognóstico (O’Keefe *et al.*, 1990; Mullins, 2006).

1.8.6 Recidivas locais

O prognóstico dos animais com recidiva local após excisão cirúrgica também está descrito como mais reservado (Thamm *et al.*, 1999; Mullins, 2006).

1.8.7 Factores de prognóstico: histopatológicos e imunohistoquímicos

1.8.7.1 Grau histológico

Este é o factor de prognóstico mais valioso e altamente preditivo relativamente ao tempo de sobrevida e à taxa de metastização, (Patnaik *et al.*, 1984; Gieger *et al.*, 2003; London & Seguin, 2003; Preziosi *et al.*, 2004; Gross *et al.*, 2005; Thamm & Vail, 2007).

O sistema de graduação histológica de Patnaik *et al.*, (1984) (Quadro 4) refere que a maioria dos mastocitomas de grau I são benignos, desenvolvem-se lentamente e persistem durante anos sem aumentar de tamanho. Menos de 10% destes tumores metastizam, sendo que estes raramente causam a morte do animal.

Os mastocitomas de grau III demonstram um crescimento agressivo e apresentam um elevado potencial de recidiva. Mais de 80% destes tumores metastizam e causam frequentemente a morte dos animais (Welle *et al.*, 2008) (Quadro 4). O prognóstico dos mastocitomas de grau II é variável. Muitos destes são tratáveis com cirurgia local e apenas 5-22% dos mastocitomas de grau II metastizam. Contudo, estes tumores podem causar taxas de mortalidade que podem variar entre 17-56% devido a falhas de tratamento ou a doença metastática (Quadro 4).

Com o intuito de reduzir as ambiguidades e fraquezas observadas no sistema de Patnaik *et al.*, (1984), foi proposto um novo sistema de classificação por Kiupel *et al.*, (2011). Neste estudo verificou-se que os mastocitomas de grau mais elevado estão associados a um menor tempo de sobrevida, maior risco de desenvolver novas lesões tumorais/metástases e elevado risco de mortalidade (Quadro 4). O tempo médio de sobrevida é menor que 4 meses para mastocitomas de elevado grau e superior a 2 anos para tumores de baixo grau (Quadro 4). O risco de mortalidade de um mastocitoma de alto grau é 53,8 vezes maior do que o de um tumor de grau baixo. Não foi encontrada nenhuma relação entre qualquer um dos graus e a ocorrência de tumores múltiplos (Kiupel *et al.*, 2011).

1.8.7.2 Índice mitótico

O índice mitótico (IM) é utilizado para avaliar a proliferação celular de inúmeras neoplasias e deverá ser sempre reportado nas análises histopatológicas (Blackwood *et al.*, 2012). Este define-se pela contagem média do número de mitoses em 10 campos de grande ampliação (400 x) em secções histológicas coradas com hematoxilina-eosina (Romansik *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2011). O IM demonstra ser um factor predictivo da evolução dos mastocitomas, sendo a sobrevida média dos cães com IM menor de 5 significativamente maior do que a dos animais que apresentam tumores com IM maior de 5, independentemente do grau histológico (Romansik *et al.*, 2007) (Quadro 4).

Recentemente, foi proposto um valor de “*cut-off*” de IM de 7, sendo que este indica ser um factor predictivo de recidiva tumoral (Kiupel *et al.*, 2011) (Quadro 4).

1.8.7.3 Regiões organizadoras nucleolares argirófilas

As AgNORs são áreas do núcleo associadas a proteínas tais como, a nucleonina e nucleoplasmina, que estão envolvidas na transcrição do ácido ribonucleico (ARN) ribossomal (Derenzini, 2000). A sua contagem foi utilizada com sucesso para prever o prognóstico dos mastocitomas, observando-se contagens mais elevadas em tumores pouco diferenciados (Bostock *et al.*, 1989; Simões *et al.*, 1994; Kravis *et al.*, 1996; Scase *et al.*, 2006). Como referido no quadro 4, os mastocitomas com maiores contagens de AgNORs estão associados a elevada mortalidade, recidiva local e ocorrência de metástases (Simões *et al.*, 1994; Scase *et al.*, 2006; Welle *et al.*, 2008). A contagem de AgNORs está associada com o tempo de sobrevida, mas não prevê o comportamento clínico independentemente do grau histológico (Simões *et al.*, 1994; Scase *et al.*, 2006).

Contudo, as contagens mais elevadas (“*cut-off*” de 2,25) foram indicativas de mastocitomas com maior probabilidade de metastização e, por outro lado, as menores contagens de AgNORs corresponderam a um período de sobrevida significativamente superior (Quadro 4). Apesar de não ser um factor de prognóstico independente do grau histológico, este pode contribuir para a decisão clínica dos mastocitomas de grau II (Blackwood *et al.*, 2012).

1.8.7.4 Antígeno proliferativo celular nuclear

O antígeno proliferativo celular nuclear (PCNA) é uma proteína necessária à síntese do ácido desoxirribonucleico (ADN) que interage com a ADN polimerase, agindo

como um factor auxiliar na replicação e reparação do ADN (Welle *et al.*, 2008). A sua expressão está associada com proliferação celular (Welle *et al.*, 2008). Como apresentado no quadro 4, a elevada expressão de PCNA está associada com o aumento da taxa de mortalidade (Simões *et al.*, 1994; Webster *et al.*, 2007). A expressão de PCNA é significativamente maior em mastocitomas recidivantes e metastáticos. Contudo, não é independente do grau histológico (Simões *et al.*, 1994; Abadie *et al.*, 1999) e não está associado ao tempo de sobrevida (Scase *et al.*, 2006).

1.8.7.5 Ki-67

A proteína Ki-67 é um marcador da proliferação celular, expressa durante o ciclo celular, que se detecta através da imunohistoquímica (Webster *et al.*, 2007). A determinação da capacidade proliferativa do tumor através desta proteína permitiu confirmar que a proteína Ki-67 é um indicador de prognóstico independente da graduação histológica (Abadie *et al.*, 1999; Scase *et al.*, 2006). No quadro 4 pode-se verificar que a elevada expressão de Ki-67 encontra-se associada ao aumento da mortalidade, recidiva e metastização. Nos cães com mastocitomas de grau II, a expressão da Ki-67 foi significativamente associada com o prognóstico, sugerindo que, as lesões de grau II podem ser divididas com base no índice proliferativo, em dois grupos, com tempos de sobrevida diferentes (Scase *et al.*, 2006). Assim, os animais com mastocitomas de grau II que apresentam um índice superior a 1,8 têm menor probabilidade de sobrevida comparativamente com os animais que têm índice inferior a 1,8 (Scase *et al.*, 2006).

1.8.7.6 C-KIT

Vários estudos relatam que 15% a 40% dos mastocitomas caninos apresentam mutações no C-KIT (Welle *et al.*, 2008). A presença desta mutação está associada a um pior prognóstico, ao aumento da taxa de metastização e de recidiva local e ainda a um maior índice de proliferação tumoral (Zemke *et al.*, 2002; Webster *et al.*, 2004). Estão descritos diferentes padrões de expressão do C-KIT nos mastócitos normais (na membrana celular) e nos neoplásicos (padrão citoplasmático em redor do núcleo) (Kiupel *et al.*, 2004). Kiupel *et al.*, (2004) sugeriram uma nova classificação do mastocitoma canino baseada em três padrões de imunomarcação para o C-KIT: o padrão membranar (padrão I) que apresenta marcação membranar e uma marcação citoplasmática mínima; o padrão citoplasmático focal (padrão II) apresenta marcação citoplasmática focal ou pontilhada e o padrão citoplasmático difuso (padrão III) que apresenta marcação

citoplasmática difusa podendo mascarar as restantes características citoplasmáticas. Em suma, comprovou-se que os padrões II e III estão associados a taxas mais elevadas de recidiva local e a um menor tempo de sobrevida (Kiupel *et al.*, 2004).

1.8.7.7 Mutação p53

Um dos genes relacionados com a génese tumoral mais estudados é o gene supressor tumoral p53. Num estudo observou-se que existia uma diferença significativa na taxa de células marcadas, tendo os mastocitomas de grau III taxas significativamente maiores do que os de grau I e II (Jaffe *et al.*, 2000). Esta diferença, no entanto, não oferece vantagens sobre o grau histopatológico na avaliação da sobrevida total e no ILD (Jaffe *et al.*, 2000). No estudo de Ginn *et al.*, (2000), não se observaram diferenças na imunorreactividade entre os diferentes graus. Em suma, nenhum dos estudos relacionou a expressão de p53 com a capacidade de recidiva dos tumores ou com a sobrevida total, concluindo-se que a expressão da mutação p53 é um fraco indicador de prognóstico para os mastocitomas caninos (Ginn *et al.*, 2000; Jaffe *et al.*, 2000).

1.8.7.8 Ploidia de ADN

Um estudo sobre a ploidia de ADN sugeriu um período de sobrevida mais curto e um estadio de doença mais avançado em cães com tumores aneuplóides comparativamente com tumores diplóides (Ayl *et al.*, 1992). A ploidia do ADN não parece, no entanto, ser um forte factor de prognóstico dos mastocitomas cutâneos caninos (Ayl *et al.*, 1992).

1.8.7.9 Densidade microvascular

O desenvolvimento de microcirculação é considerado um requisito crucial para a expansão, disseminação e metastização tumoral (Weidner, 1995; Kumar *et al.*, 2005).

Estudos recentes observaram a correlação entre a densidade microvascular e a capacidade de invasão, IM e o prognóstico (Preziosi *et al.*, 2004; Patruno *et al.*, 2009) e ainda, a correlação entre as características nucleares, desfechos clínicos e o grau (Strefezzi *et al.*, 2003; Strefezzi *et al.*, 2009). Apesar, de ter sido demonstrado que a densidade microvascular apresenta valor de prognóstico quanto à previsão da sobrevida dos animais, o mesmo não se verifica para o ILD (Strefezzi *et al.*, 2009).

Quadro 4 - Factores de prognóstico histológicos e imunohistoquímicos do mastocitoma cutâneo canino (Adaptado de Blackwood *et al.*, 2012).

Factores de prognóstico			Taxa de metastização	Sobrevida	Taxa de mortalidade	Recidiva	Ref.
Grau histológico	Patnaik	I	<10%	80-90% ^a	Baixa	Baixa	1, 6, 7, 8,9, 10, 14, 15 e 16
		II	5-22%	75% ^a	17-56%	Variável	
		III	>80%	1 ano ^b	Elevada	Elevada	
	Kiupel	Baixo	Baixa	> 2 anos	Baixa	-	
		Elevado	Elevada	< 4 meses	Elevada	-	
Ki-67		<1.8	-	92% 1 ano, 86% 2 anos, 77% 3 anos	-	-	4, 5 e 11
		>1.8	Elevada	43% 1 ano 21% 2 anos 21% 3 anos	Elevada	Elevada	
AgNOR		Baixo	-	Elevada	-	-	3 e 11
		2,25	Elevada	Baixa	Elevada	Elevada	
PCNA		Alta	Elevada (NC)	-	Elevada	Elevada (NC)	3, 4 e 11
IM		IM ≤ 5	-	70 meses ^c	-	-	2, 12, 13 e 15
		IM >5	Elevada	2 meses ^c	-	-	
		IM >7	-	-	-	Predictivo de recidiva	
		IM ≥10	-	11 semanas	-	-	

^aTaxa de sobrevida a longo-prazo (1-2 anos) após excisão cirúrgica completa.

^bA maioria dos animais com mastocitomas indiferenciados morrem num período de 1 ano.

^cIndependentemente do grau histológico.

NC: não é consistente entre os autores.

Ref.: referências

1 - Patnaik *et al.*, 1984; 2 - Bostock *et al.*, 1989; 3 -Simões *et al.*, 1994; 4 -Abadie *et al.*, 1999; 5 - McManus *et al.*, 1999; 6 - Séguin *et al.*, 2001; 7 - Michels *et al.*, 2002; 8 - Weisse *et al.*, 2002; 9 - Murphy *et al.*, 2004; 10 - Mullins *et al.*, 2006; 11 - Scase *et al.*, 2006; 12 - Romansik *et al.*, 2007; 13 - Brocks *et al.*, 2008; 14 -Welle *et al.*, 2008; 15 - Kiupel *et al.*, 2011; 16 -Schulthesis *et al.*, 2011.

1.9 Modalidades terapêuticas

É indiscutível a constante procura por resultados mais precisos em relação à eficácia dos tratamentos para o mastocitoma canino. Os estudos existentes apresentam

diversas limitações, nomeadamente pequeno número de casos e a maioria são ensaios clínicos não randomizados e não controlados. No entanto, tendo em conta a informação bibliográfica existente, a abordagem terapêutica dos mastocitomas canina baseia-se nas margens cirúrgicas, grau histológico e estadió clínico da doença.

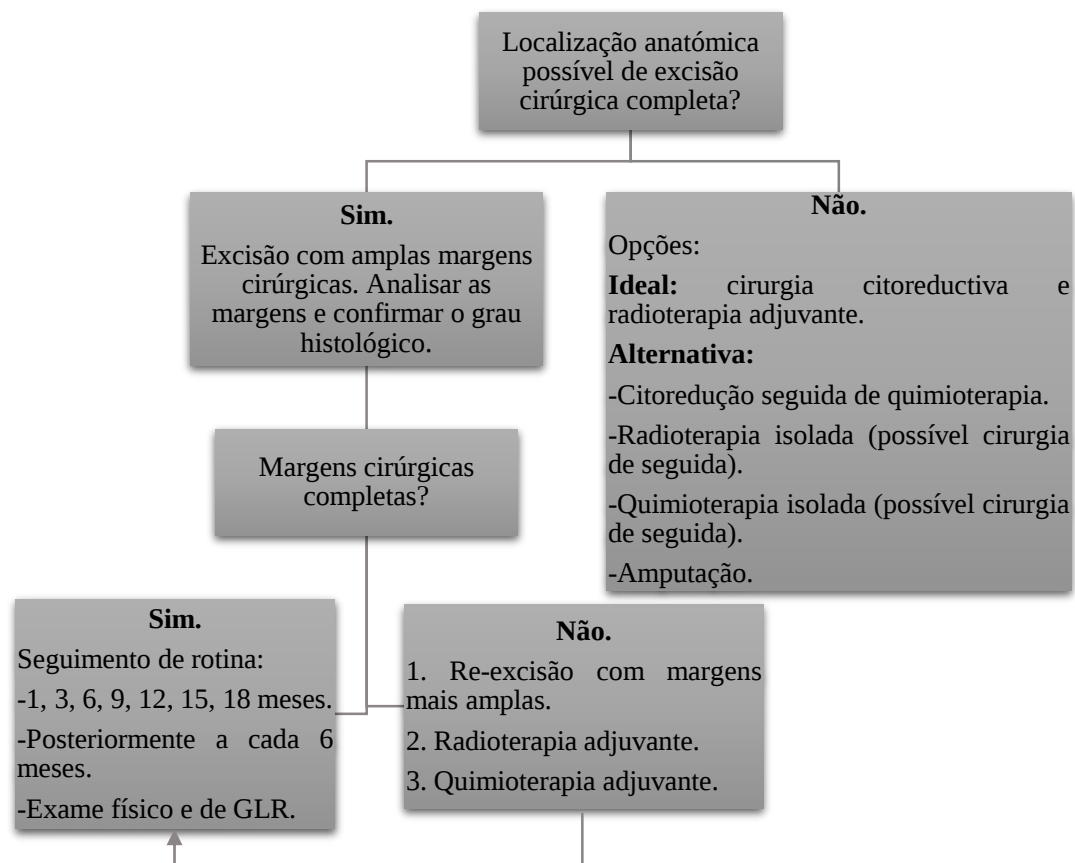
1.9.1 Mastocitomas de grau I e II sem envolvimento dos gânglios linfáticos

O tratamento de eleição para mastocitomas bem diferenciados (grau I) ou de grau intermédio (grau II) consiste na exérese completa dos mesmos (Figura 1). Outrora, recomendavam-se margens de excisão cirúrgicas superiores a 3 cm em todas as direcções (Govier, 2003; London & Seguin, 2003; London & Thamm, 2013). Actualmente, estes tumores devem ser extirpados com uma margem lateral de 1-2 cm e com um plano fascial de profundidade. Na maioria dos casos, é o suficiente para a excisão completa dos mastocitomas de grau I e II (Welle *et al.*, 2008; London & Thamm, 2013), contudo esta recomendação não foi avaliada em tumores que apresentam dimensões superiores a 4 cm de diâmetro (Blackwood *et al.*, 2012). Quando é necessária a consolidação e a redução tumoral pré-cirúrgica, esta pode ser obtida através da administração de prednisolona ou de quimioterapia neoadjuvante, o que permite aumentar a probabilidade de se obterem margens limpas em 70% dos casos (Dobson *et al.*, 2004).

A decisão terapêutica após a remoção completa de mastocitoma de grau II é controversa. Diversos estudos demonstraram controlo local efectivo em 84-89% dos mastocitomas de grau II após uma completa remoção cirúrgica da massa tumoral, com 5-11% de recidiva local e ainda 5-22% de metastização à distância (Welle *et al.*, 2008). Outros estudos reportam o desenvolvimento de novos mastocitomas até cerca de 44% dos casos (Chaffin & Thrall, 2002; Sfiligoi *et al.*, 2005; Mullins *et al.*, 2006). Embora hajam discordâncias entre os resultados, a maioria dos autores descrevem que, no caso de mastocitomas de grau I ou II em estadió clínico I, com margens limpas após a excisão cirúrgica, é preferível realizar um programa de reavaliação adequado do que aplicar tratamentos adjuvantes (Thamm & Vail, 2007). No caso de as margens não serem completamente livres de células neoplásicas, o tratamento local deverá ser complementado através da realização de uma segunda cirurgia com amplas margens em redor da cicatriz cirúrgica anterior, ou recorrendo à radioterapia, sendo que esta é considerada um benévolo tratamento adjuvante (Blackwood *et al.*, 2012). Foram descritos ILD de 1 e 2 anos em aproximadamente 81 a 95% dos mastocitomas de grau II com excisão incompleta tratados com radioterapia (Thamm & Vail, 2007; Welle *et al.*, 2008).

Nos casos em que não é possível efectuar uma segunda intervenção cirúrgica ou quando a radioterapia não é uma opção, poder-se-á optar pela quimioterapia. Contudo, deve-se ter em consideração que, os tumores de grau II com excisões incompletas apresentam apenas 23% de recidiva pelo que a quimioterapia é muitas vezes desnecessária neste tipo de casos (Seguin *et al.*, 2006; Thamm & Vail, 2007). Desta forma, os mastocitomas de grau II requerem uma análise de factores de prognóstico, tais como o Ki-67 ou do IM para seleccionar os animais que mais beneficiarão deste tipo de terapêutica complementar (Seguin *et al.*, 2006; Romansik *et al.*, 2007).

Figura 1 - Abordagem terapêutica em mastocitomas de grau I ou II em estadio 0 e I (adaptado de London & Thamm, 2013).



1.9.2 Mastocitomas de grau I e II com envolvimento dos gânglios linfáticos

Existem diversas abordagens terapêuticas relativamente aos mastocitomas cutâneos, solitários, de grau I e II com metástases nos GLR (estadio II). A cirurgia

associada com a radioterapia demonstrou resultados positivos, proporcionando uma média de 40,6 meses de ILD (Chaffin & Thrall, 2002). Por outro lado, a quimioterapia utilizada como terapia adjuvante é também considerada uma opção, nomeadamente nos casos de mastocitomas de grau II e estadio II, onde o risco de metastização e recidiva é mais elevado (London & Thamm, 2013).

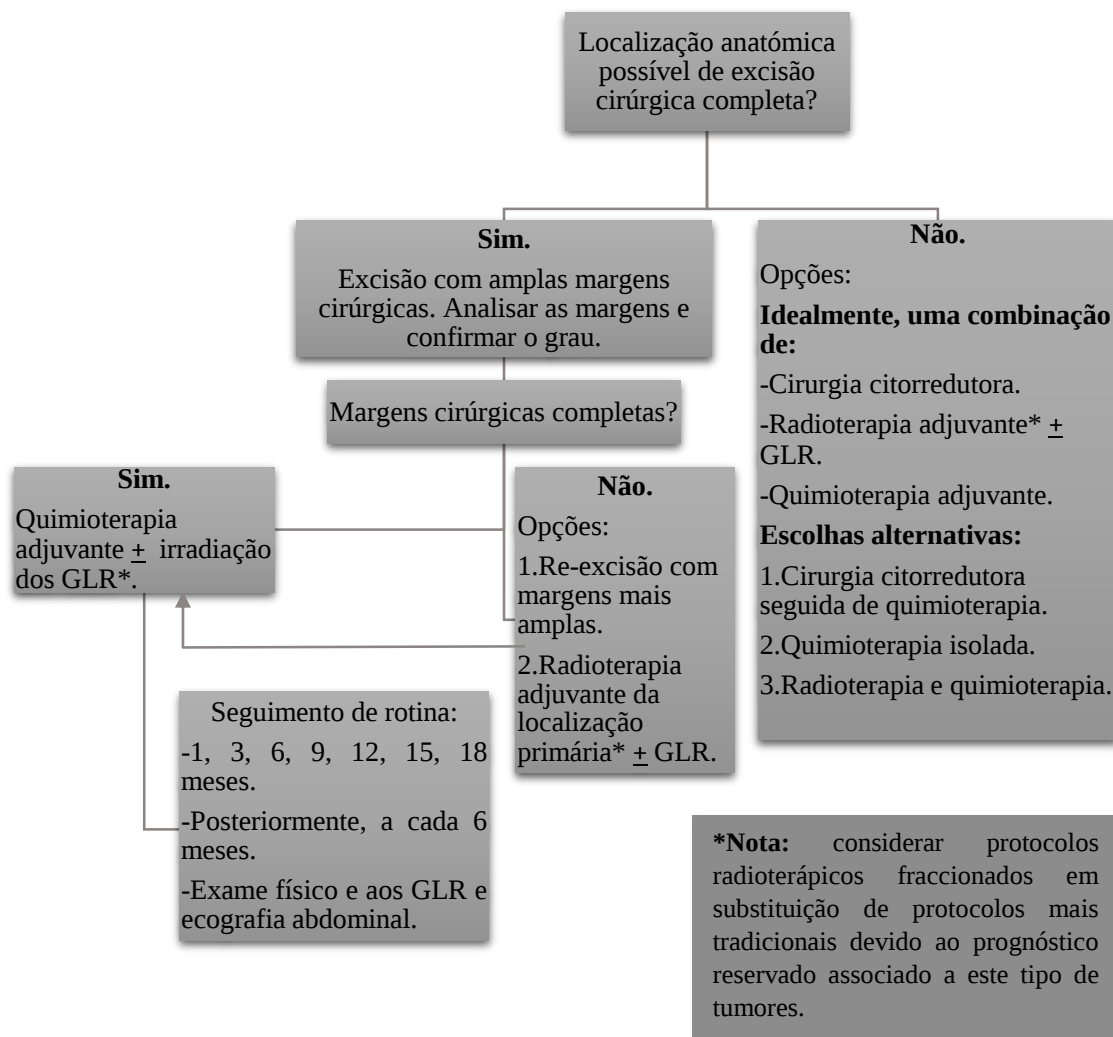
1.9.3 Mastocitomas de grau III

A terapia local, no caso de mastocitomas de elevado risco, tais como os mastocitomas das junções mucocutâneas, mastocitomas de grau II estadio II ou grau III, deve ser realizada de forma agressiva (Figura 2). Sempre que possível, o tratamento cirúrgico contudo, esta abordagem deve ser feita com precaução, dado que estes graus de mastocitomas são caracterizados por serem bastante infiltrativos e com ocorrência de problemas na sua cicatrização que podem resultar na deiscência de suturas (Murphy & Brearley, 2008).

Estudos reportaram que a sobrevida média destes animais pode variar entre 3,5 meses após a excisão cirúrgica da massa tumoral em cerca de 20 meses após o tratamento cirúrgico associado com a radioterapia (Patnaik *et al.*, 1984; Hahn *et al.*, 2004).

Contudo, a terapia local por si só, não é suficiente para o controlo efectivo destas neoplasias devido ao seu elevado potencial metastático. Deve-se instituir uma abordagem multimodal, visando um adequado controlo tumoral local e o uso adicional de quimioterapia, conduzindo assim a um ILD de 45 meses e uma sobrevida de até 3 anos em 65% dos animais tratados (Thamm *et al.*, 2006; Welle *et al.*, 2008). Se a localização tumoral não permitir a excisão cirúrgica completa, deve-se considerar o uso de cirurgia citorreductora e de radiação com fracções de 6-8 Gy, na dose total de 24-36 Gy, seguida de quimioterapia. Nos casos em que, seja impossível realizar um adequado controlo local, a sobrevida destes animais é reduzida a uma média de apenas 5 meses (Thamm *et al.*, 1999). É crucial que o proprietário esteja ciente do elevado risco de recidiva e metastização destes tumores antes de se efectuar qualquer tipo de decisão terapêutica (Thamm & Vail, 2007).

Figura 2 – Abordagem terapêutica em mastocitomas de grau III (Adaptado de London & Thamm, 2013).



1.9.4 Mastocitomas recorrentes e/ou metastáticos

Por vezes, o tratamento inicial com excisão cirúrgica completa não é eficaz e cerca de 5 a 23% dos animais apresentam recidivas locais ou loco-regionais do tumor primário de grau II (Seguin *et al.*, 2006). Perante uma situação assim, deve-se realizar uma nova avaliação e o estadiamento dos novos tumores. A decisão terapêutica deverá seguir os mesmos princípios e diretrizes utilizados para com o tumor primário. Além disso, 44% dos animais clinicamente livres de um mastocitoma anterior irão desenvolver novos tumores que necessitarão de determinar o grau histológico e o estadiamento individual (Chaffin & Thrall, 2002; Mullins *et al.*, 2006; Seguin *et al.*, 2006).

Em caso de metastização visceral, qualquer tentativa de controlo local deve ser sempre acompanhada por um tratamento sistémico, como a quimioterapia citotóxica, e

tratamento de suporte para ajudar a controlar e reduzir os sinais sistémicos provocados pelas substâncias activas libertadas pelos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos (Welle *et al.*, 2008).

O tratamento de eleição deverá ser encarado como paliativo e geralmente recomenda-se o uso de vinblastina e prednisolona (Thamm *et al.*, 1999; Thamm *et al.*, 2006) ou de protocolos combinados como a vinblastina, ciclofosfamida e prednisolona (Camps-Palau *et al.*, 2007) ou vinblastina, lomustina e prednisolona (Welle *et al.*, 2008).

Deve-se salientar que um estudo com lomustina demonstrou respostas mensuráveis, mas de curta duração (2,6 a 5 meses) em 42-47% dos mastocitomas de grau II e III (Rassnick *et al.*, 1999).

1.9.5 Radioterapia

A radioterapia está indicada no período pós-operatório, em casos de mastocitomas com extirpação incompleta; no período pré-operatório, com o intuito de reduzir as dimensões tumorais antes da cirurgia, auxiliando assim na obtenção de margens mais seguras (Welle *et al.*, 2008), como também nos casos que apresentam metástases nos GRL (Chaffin & Thrall, 2002). Diversas pesquisas sugerem também que esta técnica pode permitir um controlo tumoral prolongado (ILD médio de 27,7 meses) em mastocitomas de grau III incompletamente excisados sem metastização ganglionar (Hahn *et al.*, 2004). Por outro lado, pode ser utilizada como tratamento paliativo em situações de metastização disseminada do tumor primário aquando do diagnóstico, na maioria das quais a cirurgia está contra-indicada, ou em animais que apresentem doenças concomitantes, com o intuito de melhorar a sua qualidade de vida (Welle *et al.*, 2008).

No entanto, esta deverá ser utilizada com precaução, visto que a desgranulação dos mastócitos induzida pelas radiações pode conduzir a vômito, hipotensão e morte (Mayer, 2006; London, 2008).

A radioterapia em doses baixas (40-45 Gy) ou em protocolos hipofracionados, proporciona taxas de controlo tumoral de 1 ano de 44-78% dos tumores macroscópicos (Dobson *et al.*, 2004; Welle *et al.*, 2008). Porém, a taxa de controlo e a sua duração podem ser melhoradas com a utilização de doses totais maiores (até 57 Gy) (Welle *et al.*, 2008), tendo sido descritos ILD de 5 anos em 80% dos animais com mastocitomas de grau II e estadio 0, posteriormente ao tratamento com radiação de 54 Gy (Frimberger *et al.*, 1997). As doses totais de 48-57 Gy em 15-19 fracções são utilizadas em tratamentos definitivos (Welle *et al.*, 2008).

A irradiação profilática dos GLR é considerada controversa. Contudo, um estudo demonstrou que a sua utilização melhorou o prognóstico e aumentou o ILD em animais com neoplasias de elevado risco, como mastocitomas indiferenciados ou localizados nas junções mucocutâneas (Thamm *et al.*, 2006). O prognóstico benéfico dos animais sujeitos a irradiação profilática dos GLR pode ser devido à alteração na modulação da resposta imunitária no microambiente ganglionar ou à erradicação de uma micrometástase (que está abaixo dos níveis de detecção citológica) ou por interferência na colonização dos gânglios linfáticos por células tumorais (Thamm *et al.*, 2006).

1.9.6 Quimioterapia

A quimioterapia está indicada para o tratamento de mastocitomas disseminados, ou seja, em caso de doença sistémica, em mastocitomas indiferenciados com elevado potencial metastático, com metástases nos gânglios linfáticos, localizados em regiões anatómicas que não permitam uma excisão completa, em situações em que não é possível a utilização de radioterapia como tratamento neoadjuvante (previamente à cirurgia e/ou radioterapia), como adjuvante (posteriormente à cirurgia e/ou radioterapia) quando as margens cirúrgicas não são completas (e a cirurgia e/ou radioterapia não são opções), ou ainda como tratamento paliativo (Welle *et al.*, 2008; London, 2010).

Apesar de existirem diversos protocolos quimioterápicos (Quadro 5) para o mastocitoma do cão, a decisão deverá ter em consideração o tipo de doente, tendo em conta o estadio da doença, presença ou ausência de doença paraneoplásica, estado geral do doente, disponibilidade de tempo dos proprietários e respectiva capacidade financeira e ainda o seu grau de conforto relativamente às probabilidades de sucesso e efeitos adversos que poderão surgir associados à terapêutica. Actualmente, apesar de existirem diversas revisões narrativas, não existe nenhuma revisão sistemática da literatura sobre o uso da quimioterapia em mastocitomas caninos.

Quadro 5 - Protocolos quimioterápicos para o tratamento de mastocitoma cutâneo canino e respectivas respostas globais e toxicidade (Adaptado de Blackwood, 2010).

Protocolos	Resposta global	Toxicidade	Referências
Vinblastina (IV, 2 mg/m ² semanalmente durante 4 semanas, seguido de 4 tratamentos a cada 2 semanas), Prednisolona (PO, 2 mg/Kg q24h durante 1 semana, seguido de 1 mg/Kg por 2 semanas e depois 1 mg/Kg q48h).	47%	6-20%: mielosupressão e toxicidade gastrointestinal.	Thamm <i>et al.</i> , 1999; Thamm <i>et al.</i> , 2006;
Lomustina (PO, 70 mg/m ² q21 dias durante 4 ciclos).	44%	Mielosupressão, toxicidade gastrointestinal e hepatotoxicidade.	Rassnick <i>et al.</i> , 1999
Vinblastina (IV, 2 mg/m ² , na 1ª semana e depois a cada 4 semanas), Lomustina (PO, 70 mg/m ² , na 3ª semana e depois a cada 4 semanas), Prednisolona (PO, 0,5 mg/Kg, q24h). Durante 6 meses.	SP	-	Welle <i>et al.</i> , 2008
Vinblastina (IV, 2 mg/m ² , na 1ª semana e depois a cada 4 semanas), Lomustina (PO, 60 mg/m ² , na 3ª semana e depois a cada 4 semanas). Durante 4 a 5 ciclos.	57%	54%: maioritariamente mielosupressão.	Cooper <i>et al.</i> , 2009
Vinblastina (IV, 3,5 mg/m ² 3ª semana e depois a cada 4 semanas), Lomustina (PO, 70 mg/m ² na 1ª semana e depois a cada 4 semanas), Prednisolona (PO, 2 mg/Kg, q24h durante as duas primeiras semanas e depois 1 mg/Kg q24h até à 24ª semana e posterior desmame durante 4 semanas).	65%	27% reduziram a dose de lomustina e 35% com vinblastina (mielosupressão); 33% de neutropénia severa; 28% de hepatotoxicidade.	Rassnick <i>et al.</i> , 2010

SP – sem publicação.

Os fármacos mais utilizados na quimioterapia do mastocitoma canino incluem a vinblastina, lomustina e a prednisolona. A resposta global do mastocitoma à acção dos quimioterápicos como agentes únicos foi reportada em diversos estudos e varia entre 7 a 13% para os alcalóides da vinca (vincristina 7%, vinblastina 11,8% e vinorelbina 13%) e cerca de 44% para o agente alquilante lomustina (McCaw *et al.*, 1997; Rassnick *et al.*, 1999; Grant *et al.*, 2008). A vinorelbina, apesar dos seus 13% de resposta global, foi

associada a uma elevada toxicidade, ou seja, cerca de 54% dos animais desenvolveram neutropénia e 46% apresentaram toxicidade gastrointestinal (Grant *et al.*, 2008). Por outro lado, a lomustina demonstra uma elevada eficácia no tratamento do mastocitoma canino de grau II e III. Contudo, provoca neutropénia aguda em cerca de 41% dos casos e poderá induzir hepatotoxicidade crónica, ascite, efusão pleural e febre (Rassnick *et al.*, 1999; Welle *et al.*, 2008).

Diversos estudos descrevem os benefícios dos corticoesteróides, como a prednisolona, no tratamento do mastocitoma. Estes inibem a proliferação do mastocitoma e induzem a apoptose das células tumorais através da sua interação com os receptores de glucocorticóides presentes no citosol dos mastócitos neoplásicos (Takahashi *et al.*, 1997). A sua administração neoadjuvante possibilita a diminuição do volume total da massa tumoral até 81%, contribuindo para a ressecção cirúrgica de mastocitomas de grandes dimensões ou localizados em regiões anatómicas que não permitem uma extirpação completa (Stanclift *et al.*, 2008). Um estudo realizado sobre o efeito dos glucocorticóides em tumores com localização na cabeça e nos membros de 35 animais que foram submetidos posteriormente à radioterapia obteve 89% como taxa de resposta ao tratamento (Dobson, *et al.*, 2004).

Existem diversos estudos que pesquisaram sobre a resposta do mastocitoma à prednisolona em associação com outros quimioterápicos, nomeadamente: vinblastina, lomustina, vinblastina/ciclofosfamida e clorambucilo. Relativamente ao protocolo de vinblastina e prednisolona aplicado ao tratamento adjuvante, este demonstrou cerca de 47% de resposta global (Thamm *et al.*, 1999; Thamm *et al.*, 2006). Verificou-se toxicidade nos 26% dos casos, sendo moderada a severa (necessitando de hospitalização e descontinuação do tratamento devido a vómitos e/ou neutropénia severos acompanhados de febre) em 6,5% dos casos (Welle *et al.*, 2008). Davies *et al.* (2004) estudaram o efeito do protocolo anterior inicialmente em 27 cães com mastocitomas removidos de forma incompleta (a maioria de grau II) e verificaram que apenas um cão (3,7%) experienciou recorrência local e outros quatro (15%) desenvolveram mastocitomas cutâneos à distância. O mesmo protocolo quimioterápico administrado em cães com mastocitomas com elevado risco de metastização, posteriormente à cirurgia ou radioterapia, alcançou uma sobrevida média de 196 semanas, em que 70%, 58% e 53% dos cães com mastocitomas de grau III sobreviveram 1, 2 e 3 anos após o tratamento, respectivamente (Thamm *et al.*, 2006).

O protocolo prednisolona e lomustina foi aplicado no tratamento de cães com

mastocitomas de grau II excisados de forma incompleta e revelou-se uma possível alternativa ao uso da radioterapia (Hosoya *et al.*, 2009). Com efeito, cerca de 100% e 77% dos animais encontravam-se livres da doença 1 e 2 anos após o tratamento, respectivamente. Não se observou qualquer recidiva ou metastização tumoral, porém, 17% dos animais apresentaram hepatotoxicidade grave que conduziu à morte (Hosoya *et al.*, 2009). Num outro estudo, o protocolo consistia apenas em lomustina e obteve-se 44% de resposta global ao tratamento de tumores de grau II e III que não responderam a outras modalidades terapêuticas (Rassnick *et al.*, 1999). A associação da vinblastina com a lomustina permite elevar a resposta global para os 57% sendo mais eficaz do que quando empregue isoladamente (Cooper *et al.* 2009). Todavia, este protocolo apresentou toxicidade 54% dos animais, que se expressou a nível renal e hepático.

O protocolo combinado que alia a vinblastina, ciclofosfamida e a prednisolona demonstrou uma taxa de resposta global de 64%, sendo considerado uma boa opção terapêutica e com baixos níveis de toxicidade (14,2% de mielossupressão e 2,8% de toxicidade gastrointestinal) (Camps-Palau *et al.*, 2007).

A associação de clorambucilo com prednisolona demonstrou uma taxa de remissão tumoral em 38% dos 21 animais tratados e um tempo médio de sobrevida global de 143 dias (Taylor *et al.*, 2009).

1.9.7 Terapias moleculares: inibidores de tirosinas-cinases

Os receptores de tirosinas-cinases (RTC) são um grupo importante de receptores da superfície celular que activam a célula resultando na proliferação, diferenciação e na sobrevida celular quando são estimulados pelo seu ligante (Blackwood *et al.*, 2012). Estes receptores têm igualmente um papel importante no processo de angiogénese assim como, na metastização (Blackwood, 2010). As moléculas inibidoras da tirosina-cinase são caracterizadas por serem inibidores competitivos que actuam ao bloquear o local de ligação da molécula de adenosina trifosfato (ATP) na cinase, de uma forma reversível ou irreversível. Assim, na ausência de ATP, a cinase é incapaz de se fosforilar ou de iniciar a cascata de sinalização. A disfunção de RTC tem sido descrita em diversas neoplasias, tais como, mastocitomas, sarcomas, carcinomas e melanomas (London *et al.*, 2003; Pryer *et al.*, 2003; Lachowicz *et al.*, 2005; Hahn *et al.*, 2008; Isotani *et al.*, 2008; Marconato *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009). Alguns inibidores de tirosinas-cinases foram testados *in vitro* e *in vivo* e demonstraram resposta clínica em mastocitomas caninos (London, 2009).

O quadro 6 descreve os três inibidores de tirosinas-cinases mais utilizados em

Medicina Veterinária. Recentemente duas destas moléculas foram aprovadas pela Agência Europeia de Medicamentos (AEM) para o tratamento de mastocitomas caninos: fosfato de toceranib e masitinib (Blackwood *et al.*, 2010). Apesar de ambas terem sido desenvolvidas especificamente para inibir o receptor KIT apresentam também capacidade inibitória sobre outras tirosinas-cinases (Quadro 6) envolvidas na angiogénese e metastização (London & Seguin, 2003; Pryer *et al.*, 2003; Dubreuil *et al.*, 2009). Esta terapia encontra-se amplamente estudada em Medicina Humana, contudo em Medicina Veterinária ainda são poucos os ensaios clínicos realizados devido ao facto dos alvos de intervenção terapêutica não estarem definidos para a maioria das neoplasias de canídeos e felinos (London, 2009). O estudo de Liao *et al.* (2002) foi o primeiro a demonstrar a capacidade destas moléculas para inibir a activação do C-KIT e a proliferação de mastócitos neoplásicos.

Quadro 6 - Inibidores de tirosinas-cinases utilizados em cães e gatos (Adaptado de London, 2009).

Inibidores de tirosinas-cinases	Alvo molecular	Neoplasias	Espécies	Dose
Palladia® (Fosfato de toceranib)	Kit, VEGFR, PDGFR, Flt-3	Mastocitomas, Sarcomas, Carcinomas, Melanomas	Cão	2,5-3,25 mg/kg QOD
Masivet® (Masitinib)	Kit, PDGFR	Mastocitomas	Cão	12,5 mg/kg SID
Gleevec® (Imatinib)	Kit, Abl, PDGFR	Mastocitomas, Sarcomas	Cão, Gato	5-10 mg/kg SID

SID – uma vez por dia.

1.9.7.1 Fosfato de toceranib (Palladia ®)

A sua administração está indicada para mastocitomas recorrentes, não excisáveis de grau II ou III (Blackwood *et al.*, 2010). O estudo de London *et al.*, (2003) foi o primeiro estudo clínico a avaliar a acção dos inibidores de tirosinas-cinases em Medicina Veterinária. Neste foram avaliados cerca de 57 cães com uma ampla diversidade de neoplasias como carcinomas, sarcomas, mastocitomas, melanomas, linfomas, entre outros. Cerca de 16 cães exibiram respostas mensuráveis, incluindo 6 respostas completas, perfazendo uma taxa de resposta global (TRG) de 28%. Por outro lado, 15 cães apresentaram estabilização da sua doença por mais de 10 semanas, resultando numa

actividade biológica global de 54%. De todas as neoplasias, os cães com mastocitomas foram os que apresentaram o maior número de respostas (11/16) (London *et al.*, 2003).

Como seria de se esperar, os cães com mutações no C-KIT responderam melhor à administração de inibidores de tirosinas-cinases. Contudo, os mastocitomas sem estas mutações obtiveram uma taxa de resposta biológica observada (TRBO) de 30%, sugerindo que mesmo estes animais podem ter vantagens na utilização deste tratamento (London *et al.*, 2003).

Posteriormente, realizou-se um outro ensaio clínico em cães com mastocitomas de grau II e III não operáveis, incluindo 2 grupos: um tratado com fosfato de toceranib e o outro com placebo (London *et al.*, 2009). A taxa de resposta do grupo fosfato de toceranib foi de 37% versus 8% do grupo placebo. 58 cães do grupo placebo foram selecionados para uma segunda fase do estudo e iniciaram o tratamento com fosfato de toceranib, e 41% demonstraram uma resposta objectiva. A TRG dos 145 cães que receberam o fosfato de toceranib foi de 43%. Mais uma vez, os cães com mutações no C-KIT demonstraram-se mais propensos a responder ao fosfato de toceranib do que aqueles sem mutações (82% versus 55%). De salientar também que, os cães sem metástases nos gânglios linfáticos obtiveram uma maior taxa de resposta (67% versus 46%) (London *et al.*, 2009).

Mais recentemente, comprovou-se que a associação do fosfato de toceranib com a radioterapia hipofraccionada e prednisolona é bem tolerada e considerada eficaz na maioria dos cães que apresentam mastocitomas não excisáveis. A taxa e a duração das respostas foram maiores do que os resultados relatados para o fosfato de toceranib como tratamento único (Carlsten *et al.*, 2012). A combinação de fosfato de toceranib com vinblastina apresentou mais eficácia do que a utilização deste fármaco de forma isolada, com uma resposta objectiva de 71%. Esta combinação possibilita uma diminuição de mais de 50% da dose de vinblastina comparado com o seu uso como agente único, porém, esta associação exibiu uma elevada toxicidade (Robat *et al.*, 2012). As doses máximas toleradas foram: 1,6 mg/m² a cada duas semanas de vinblastina e 3,25 mg/kg PO em dias alternados de fosfato de toceranib (Robat *et al.*, 2012).

1.9.7.2 Masitinib (Masivet ® ou Kinavet ®)

O masitinib é utilizado em mastocitomas não excisáveis de grau II ou III com mutação no C-KIT (Blackwood *et al.*, 2010). Esta molécula inibe a fosforilação do C-KIT, do PDGFR e ainda das cinases intracelulares Lyn, Fyn e Lck, (Monografia de

Masivet, 2009).

Actualmente foi descrito que a inibição da actividade da cinase PDGFR resulta na suspensão do crescimento tumoral e apoptose, aumentando a sensibilidade à quimioterapia e sua biodisponibilidade no tumor, não só em mastocitomas mas também em alguns tumores espontâneos de canídeos, tais como, linfoma de células T e B, osteossarcoma, carcinoma mamário, melanoma, hemagiossarcoma e sarcoma histiocítico (Monografia de Masivet, 2009).

Um estudo de fase II testou o masitinib em 13 cães com mastocitomas de grau II e III tendo-se obtido 2 respostas completas (RC), 2 respostas parciais (RP) e 2 estabilizações da doença (Axiak *et al.*, 2006; London, 2009). Posteriormente, realizou-se um estudo de fase III que englobou mais de 200 cães com mastocitomas de grau II e III, não operáveis e não metastáticos. A resposta à terapêutica com masitinib não foi significativamente diferente à resposta obtida no grupo que recebeu o tratamento com o placebo, cerca de 16% versus 15%, respectivamente (Axiak *et al.*, 2006). Contudo, o grupo masitinib demonstrou um maior tempo de progressão de doença do que o grupo placebo (118 dias versus 78 dias) independentemente da presença de mutações no C-KIT (Hahn *et al.*, 2008). Mais recentemente, um novo estudo comprovou que a taxa de sobrevida dos cães com mastocitomas tratados com masitinib era significativamente maior comparativamente com o placebo (62,1% versus 36% dos animais sobreviveram 12 meses e 39,8% versus 15% dos animais sobreviveram 24 meses, respectivamente). O tempo médio de sobrevida foi de 617 dias para o grupo masitinib e de 322 dias para o grupo placebo. As RC foram observadas em 15% e 9% dos animais tratados com masitinib aos 12 e 24 meses, respectivamente (Hahn *et al.*, 2010).

Finalmente, deve-se ainda referir que este demonstrou potencial anti-metastático na prevenção do aparecimento de recidivas locais e/ou metástases viscerais em mastocitomas cutâneos de grau II/III não operáveis e recorrentes (Ogilvie *et al.*, 2011).

1.9.8 Outras terapias

As terapias locais alternativas para os mastocitomas cutâneos caninos têm sido testadas e incluem hipertermia em combinação com radioterapia (Lagoretta *et al.*, 1988), braquiterapia intralesional (Theon *et al.*, 1993; Northrup *et al.*, 2004), terapia fotodinâmica (Frimberger *et al.*, 1998; Tanabe *et al.*, 2004), corticosteróides com administração intralesional (Rogers, 1993), crioterapia e electroquimioterapia (Spugnini *et al.*, 2006; Kodre *et al.*, 2009; Spugnini *et al.*, 2011). Embora se tenha reportado o uso

da instilação de soluções hipotónicas no local de excisão incompleta de mastocitomas, estudos revelaram que este procedimento não apresenta eficácia relativamente à prevenção da recidiva local do tumor, dado isto, a sua utilização não é recomendada (Grier *et al.*, 1990; Grier *et al.*, 1995; Jaffe *et al.*, 2000; Neyens *et al.*, 2004; Brocks *et al.*, 2008). É importante denotar que nenhuma destas terapias locais alternativas revelou eficácia clínica como a cirurgia, radioterapia, ou a sua combinação (London & Thamm, 2013).

1.9.9 Terapêutica de suporte

A implementação de uma terapêutica de suporte deverá ser realizada quando: 1) estão presentes sinais sistémicos ou locais resultantes da desgranulação dos mastócitos 2) em situações de excisão cirúrgica de múltiplos mastocitomas; 3) e no caso de mastocitomas primários de grandes dimensões com grande risco de desgranulação *in situ* (Welle *et al.*, 2008). Esta terapêutica não é aplicada comumente em casos que se submetem a uma excisão cirúrgica completa que não envolva uma excessiva manipulação da massa tumoral (Thamm & Vail, 2007).

Os efeitos resultantes da libertação de histamina na vasculatura periférica e na cicatrização da ferida podem ser bloqueados através da administração de antagonistas dos receptores H1 (Quadro 7). A desgranulação intensa pode conduzir ao choque hipotensivo e morte (London, 2010). Os antagonistas dos receptores H2 (Quadro 7) também são essenciais, uma vez que, os elevados níveis de histamina podem estimular as células parietais a produzirem ácido clorídrico de um modo excessivo, podendo conduzir a eventuais úlceras e consequentes ulcerações gastrointestinais (London & Seguin, 2003; Johnson *et al.*, 2006). Como alternativa, pode-se também utilizar inibidores da bomba de prótons, como o omeprazol, de modo a prevenir a ulceração gástrica de uma forma mais potente do que, com os antagonistas dos receptores H2 (North & Banks, 2009). Nos casos em que, existem evidências de ulceração gástrica e duodenal activa, é prudente adicionar o sucralfato e ocasionalmente o misoprostol (Quadro 7).

Deve-se ainda salientar que, em situações de náuseas e/ou vômito, deve-se instituir uma terapia anti-emética, como por exemplo, a metoclopramida (0,1-0,4 mg/kg, PO, SC ou IM, TID ou QID), o citrato de maropitant (1,0 mg/kg, SC, SID, 5 dias no máximo) (Thamm & Vail, 2007) e/ou ondansetron (0,1-1,0 mg/kg, PO, SID ou BID) (North & Banks, 2009). Alguns autores aconselham o uso de sulfato de protamina, um antagonista da heparina, para controlar a hemorragia intraoperatória (O'Keefe, 1990).

Quadro 7 - Principais fármacos utilizados como tratamento de suporte no mastocitoma canino (Adaptado de Welle et al., 2008).

Grupo farmacológico	Princípios activos	Dose
Antagonistas do receptor H1	Difenidramina	2-4 mg/kg PO BID
Antagonistas do receptor H2	Ranitidina	2 mg/kg PO BID
	Cimetidina	4 mg/kg PO TID
	Famotidina	0,5-1 mg/kg PO ou IV BID ou SID
Inibidor da bomba de prótons	Omeprazol	0,5-1 mg/kg PO SID
Protector da mucosa gástrica	Sucralfato	0,5-1 g PO TID
	Misoprostol	2-4 µg/kg, PO, TID

II - A importância da Revisão Sistemática das publicações científicas

1. Medicina Baseada na Evidência

1.1 Contextualização histórica

A Medicina Baseada na Evidência (MBE) surge em 1972 com o trabalho do epidemiologista britânico, Archie Cochrane que publica um livro de referência, onde criticava os profissionais de Medicina por não providenciarem provas rigorosas de evidências relacionadas com a melhor decisão sobre os cuidados de saúde (Powers, 2011). Duas décadas depois, surge o conceito de Revisão Sistemática (RS), fundada em Oxford, em que se estabelecem regras para a avaliação de estudos científicos, que são a base do conhecimento científico necessário para a implementação de decisões nas áreas médicas (Powers, 2011).

1.2 Definição

A MBE consiste na prática da Medicina num contexto em que a experiência clínica é integrada com a capacidade de analisar criticamente e aplicar de forma racional a informação científica para melhorar a qualidade da assistência médica (Lopes, 2000).

As práticas clínicas baseadas na evidência têm sido definidas como o uso consciencioso explícito e criterioso das melhores evidências disponíveis na tomada de decisão clínica (Sackett *et al.*, 1996).

1.3 Tipos de estudos e hierarquia da evidência científica

Os estudos clínicos apresentam quatro diretrizes primordiais: questões sobre diagnóstico, tratamento, prognóstico ou prevenção. O desenho do estudo está relacionado com o objectivo específico de cada investigação, tendo em conta que, o objectivo final de uma investigação é o estabelecimento de causalidade (relação causa-efeito) (Quadro 8) (Bonita *et al.*, 2010). Na literatura existem diversas referências sobre o tipo de evidência científica mais adequada de acordo com a questão clínica em análise (Quadro 9) (Powers, 2011).

Quadro 8 – Tipos de estudos epidemiológicos (Adaptado de Bonita et al., 2010).

Tipo de estudo	Nome alternativo	Unidade do estudo
Estudos Observacionais		
Estudos descritivos		
Estudos analíticos		
Ecológicos	Correlação	Populações
Transversais	Prevalência	Indivíduos
Caso-Controllo	Caso-Referência	Indivíduos
Coorte	Longitudinal (<i>Follow-up</i>)	Indivíduos
Estudos Experimentais	Estudos de intervenção	
Ensaio randomizados controlados	Ensaio clínicos	Indivíduos
Estudos de campo		Pacientes saudáveis
Estudos comunitários	Estudos de intervenção comunitária	Comunidades

Quadro 9 – Níveis de evidência de acordo com o tipo de questão clínica (Adaptado de Powers, 2011).

Questões	Níveis de evidência de acordo com o tipo de questão clínica
Intervenções ou Diagnóstico ou teste de diagnóstico	1. Revisão sistemática/meta-análise (i.e. síntese) de ECRCs 2. ECRCs 3. Ensaaios não randomizados 4. Estudos coorte ou caso-controlo 5. Meta-síntese de estudos qualitativos ou descritivos 6. Estudos qualitativos ou descritivos 7. Opinião de peritos
Prognóstico ou Etiologia	1. Síntese de estudos coorte ou caso-controlo 2. Estudos coorte ou caso-controlo 3. Meta-síntese qualitativa ou estudos descritivos 4. Estudo qualitativo ou descritivo 5. Opinião de peritos
Experiências	1. Meta-síntese de estudos qualitativos 2. Estudos qualitativos 3. Síntese de estudos descritivos 4. Estudos descritivos 5. Opinião de peritos

ECRC – Ensaio clínico randomizado e controlado.

Os diferentes níveis de evidência dos estudos são hierarquizados de acordo com o grau de confiança da qualidade metodológica dos mesmos (Cook *et al.*, 1995). A qualidade da evidência é determinada pelos métodos usados para reduzir o viés de cada tipo de estudo (Higgins & Green, 2011). Deste modo, no topo da pirâmide encontra-se a revisão sistemática da literatura (Gráfico 1). Se a evidência for sobre terapêutica, por ordem decrescente de evidência científica surgem os ensaios clínicos randomizados e controlados (ECRC), estudos de coorte, estudos caso-controlo, as séries de casos, os “case-report”, e por último, a opinião de especialistas e pesquisas em animais ou *in vitro* (Gráfico 1) (Sackett *et al.*, 2000).

Gráfico 1 – Hierarquia dos níveis de evidência científica (Adaptado de Sackett et al., 2000).



2. Revisão sistemática da literatura

As RS constituem instrumentos valiosos para o clínico permitindo uma correcta abordagem crítica integrada do conhecimento científico orientada para a resposta a uma questão clínica relevante e baseada na melhor evidência científica disponível (Marques *et al.*, 2008). Estas contribuem ainda para a identificação de áreas em que a evidência científica existente é insuficiente e onde são necessários mais estudos (Mulrow, 1994; Varandas & Carneiro, 2006). Todavia, a escassa qualidade das revisões narrativas, associada ao facto de estas se basearem em estudos cuja selecção não é efectuada de acordo com critérios objectivos, permitiu concluir que as revisões narrativas constituem uma fonte de informação pouco fiável (Mulrow, 1987; Oxman & Guyatt, 1988).

Deste modo, na última década surgiu uma crescente procura por métodos formais de compilar estudos de uma forma sistemática, com o objectivo de produzir sínteses dos efeitos das intervenções claramente formuladas, reproduzíveis e actualizadas.

2.1 Definição

Uma RS consiste numa síntese concisa da melhor evidência disponível, que aborda questões clínicas cuidadosamente elaboradas (Forrest, 2008). Opostamente às revisões narrativas, que não explicitam a selecção dos artigos, as RS recorrem a métodos rigorosos e explícitos para identificar, criticar e sintetizar estudos relevantes, procurando agregar e examinar toda a evidência de alta qualidade respeitante à questão colocada (Varandas & Carneiro, 2006). Uma RS pode incluir ou não uma meta-análise, que consiste numa análise estatística de um conjunto de resultados analíticos de estudos independentes, visando a obtenção de uma estimativa única do efeito (Dickersin & Berlin, 1992).

2.2 Revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados

Os ECRC são o foco de interesse das revisões sistemáticas para a área médica. É considerado o estudo-padrão para se avaliar intervenções profiláticas ou terapêuticas (Higgins & Greens, 2011). É um estudo prospectivo e experimental, onde uma intervenção será testada em pelo menos dois grupos aleatórios de indivíduos, por um tempo determinado. O termo “controlado” significa que existe um grupo de controlo ou grupo de comparação. Esses grupos podem ser: grupo de intervenção versus grupo com ausência de intervenção ou com diferentes intervenções comparadas entre si. O risco relativo e o intervalo de confiança podem ser utilizados para expressar os resultados (Higgins & Greens, 2011).

Os principais parâmetros que devem ser seguidos para se elaborar um ECRC são (Moher *et al.*, 2001): cálculo do tamanho amostral (Pocock & Simon, 1975); alocar os doentes aleatoriamente pelos grupos, o que se denomina de randomização (que apresenta diversas vantagens: eliminar o risco de viés de selecção, equilibrando os factores de prognóstico conhecidos e desconhecidos na atribuição das intervenções (Moher *et al.*, 2010); utilizar a teoria das probabilidades para expressar qualquer diferença nos resultados entre os grupos (Moher *et al.*, 2010); sigilo na alocação dos doentes (Moher *et al.*, 2010); seguimento dos doentes, que deverá ser completo (Moher *et al.*, 2010). Caso exista desistência ou perdas de doentes, as análises dos resultados devem ser feitas por intenção-de-tratar (ITT). E por fim, o estudo deve ser cego, ou seja, o investigador, o doente e os avaliadores devem desconhecer os grupos (estudo duplamente ou triplamente cego) (Viera & Bangdiwala, 2007).

2.3 Processo de elaboração de uma revisão sistemática

As RS podem comparar-se a estudos observacionais retrospectivos, cuja ocorrência de vieses pode ser significativa. Deste modo, a elaboração de uma revisão sistemática baseia-se em protocolos e procedimentos rigorosos que procuram eliminar ou reduzir esses vieses (Marques *et al.*, 2008). Existem cinco passos fundamentais: formulação de uma questão clínica relevante e prática; definição de critérios de inclusão e exclusão dos estudos; planificação da estratégia de pesquisa; avaliação crítica dos estudos seleccionados (segundo os critérios anteriormente definidos); síntese da informação e a sua interpretação (Bader & Ismail, 2004).

2.3.1 Formulação da questão clínica

A questão clínica deve ser relevante e ter em conta a prevalência da condição clínica, a gravidade da mesma, o grau de variabilidade na prática clínica, a probabilidade de uma RS induzir alterações nos protocolos clínicos, a existência de RS prévias de qualidade e o próprio custo associado à intervenção estudada (Sutherland & Matthews, 2004). A formulação da questão clínica deverá ser feita com base na metodologia PICO: população alvo (P), tipo de intervenção (I), intervenção comparativa (C) e desfecho avaliado (O – “*outcome*”) (Mata *et al.*, 2008).

2.3.2 Definição de critérios de inclusão e exclusão

Depois de se definir correctamente a questão, tornam-se claros os critérios dos estudos primários a serem valorizados. Realizando esta etapa correctamente, obter-se-á uma selecção rigorosa de ensaios clínicos com características homogéneas, que poderão viabilizar a realização de uma meta-análise (Higgins & Greens, 2011). Quando a elaboração da questão clínica é objectiva, a definição dos critérios de inclusão torna-se facilitada relativamente ao tipo de população, aos métodos de diagnóstico utilizados, à intervenção clínica, ao tipo de controlo, ao efeito avaliado e ao desenho do estudo (Higgins & Greens, 2011). Deverão também ser especificados factores como a dimensão da amostra, data de publicação e idioma (Torabinejad & Bahjri, 2005). De forma a minimizar o potencial de enviesamento dos resultados finais, os critérios de inclusão não devem ser baseados nos resultados dos ensaios (Marques *et al.*, 2008). O grau de selecção dos critérios de inclusão pode ser alterado em função da quantidade de informação recolhida. A quantidade de informação encontrada pode ser insuficiente, especialmente

se se utilizarem critérios muito rígidos relativamente ao mérito científico, nomeadamente os que incluem apenas ensaios clínicos randomizados, com dupla ocultação, ou RS/meta-análises prévias (Higgins & Greens, 2011). Deste modo, poder-se-ão alargar os critérios de inclusão a todos os ensaios clínicos. A inclusão de estudos de menor qualidade deve ser restringida a casos em que a evidência de elevada qualidade seja escassa ou nula e necessitará de ser mencionada pelos autores como sendo uma limitação do estudo (Haynes *et al.*, 2006).

2.3.3 Planificação da estratégia de pesquisa

Tendo em conta a questão colocada, é necessário classificar o tipo de RS que se pretende fazer com base na questão clínica. Poderão ser consideradas RS de prevalência de entidades clínicas, testes de diagnóstico, etiologia/factores de risco, prognóstico ou intervenções terapêuticas (Quadro 10) (Varandas & Carneiro, 2006).

Quadro 10 - Tipo de estudos indicados para cada tipo de revisão sistemática e principais pontos de avaliação (Adaptado de Varandas & Carneiro, 2006).

Questões	Tipos de estudo ideais	Principais pontos de avaliação
Intervenção/Terapêutica	ECRC.	Randomização, duração dos acompanhamentos (follow-ups), ocultação de doentes e clínicos.
Frequência/Taxa	Estudo transversal ou amostra consecutiva.	Forma de selecção da amostra, confirmação dos casos, resposta adequada/follow-up alcançado.
Etiologia e factores de risco	Estudo de Coorte.	Grupos que apenas diferem na exposição, medida dos resultados, evidência de causalidade razoável.
Prognóstico	Estudo de Coorte.	Follow-up suficiente.
Diagnóstico	Amostra consecutiva ou aleatória.	Comparação independente com “gold standard”, selecção apropriada de doentes.
Fenómenos	Pesquisa qualitativa.	Seleccção apropriada de indivíduos e de métodos de observação.

Posteriormente, deve-se definir onde procurar a informação. Existem fontes de informação primárias em que a informação está organizada na sua forma original e ainda, secundárias, em que esta se encontra compilada e avaliada a partir de fontes primárias (Marques *et al.*, 2008). A estratégia de pesquisa deverá cumprir a hierarquia da evidência, devendo compreender três passos fundamentais. Em primeiro lugar, a pesquisa de RS prévias, seguindo-se a pesquisa de artigos originais de investigação publicados e finalmente, a pesquisa de dados não publicados (Marques *et al.*, 2008).

A estratégia de pesquisa, numa primeira fase procura RS prévias em bases de dados secundárias como a “*Cochrane Collaboration*”. A “*Cochrane Database of Systematic Reviews*” trata-se do mais completo e qualificado repositório de RS, com mais de 2000 títulos publicados (Higgins & Greens, 2011).

Por outro lado, as bases de dados primárias são igualmente uma fonte possível, requerendo estratégias de pesquisa específicas previamente descritas na literatura (Montori *et al.*, 2005). O objectivo consiste na recolha de todos os artigos relevantes, pelo que se privilegia a sensibilidade à especificidade. Tome-se como exemplo, a base de dados “*PubMed*” que fornece acesso à versão gratuita do “*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online – MEDLINE*”. Esta consiste numa estratégia baseada na utilização de conectores booleanos, que combina a utilização de termos altamente sensíveis para a detecção de revisões sistemáticas com os denominados “*content terms*” (Marques *et al.*, 2008). Estes deverão ser obtidos através da combinação de termos “*MeSH - Medical Subject Headings*” apropriados e associados com termos de elevada probabilidade de estarem presentes no texto dos artigos procurados (Marques *et al.*, 2008). Por norma, devem ser considerados três conjuntos de termos: 1) termos relacionados com a população-alvo do estudo; 2) termos relacionados com a intervenção avaliada; 3) termos que especifiquem o tipo de desenho de estudo a ser incluído.

Secundariamente, segue-se a fase de pesquisa de artigos originais publicados relativos a estudos que se enquadrem na questão clínica, recorrendo a uma estratégia de pesquisa de elevada sensibilidade para este tipo de estudo (Marques *et al.*, 2008).

Existem outras maneiras de contornar as possíveis lacunas decorrentes da pesquisa realizada. Estas consistem na análise de referências bibliográficas de outros artigos de revisão, na utilização de estratégias de pesquisa altamente sensíveis para determinado tipo de artigo e base de dados descritas anteriormente na literatura e, por fim, incluindo estudos publicados noutros idiomas com excepção do Inglês (Moher *et al.*, 2010).

Existem numerosos artigos em língua não inglesa que, se excluídos apenas com

base nesta característica, tornarão a revisão sistemática potencialmente enviesada, uma vez que poderão conter informação relevante para as conclusões finais (Varandas & Carnerio, 2006).

2.3.4 Avaliação crítica e selecção dos estudos

O objectivo desta fase é por um lado, a síntese da informação a colocar nas tabelas de resumo da RS, uma maior facilidade na análise realizada por um segundo avaliador, e ainda, o facto de evitar a necessidade de consulta sistemática do artigo (Marques *et al.*, 2008).

Esta fase pode ser fragmentada em três etapas independentes: a triagem primária dos artigos/resumos recolhidos pela sua relevância, a aplicação dos critérios de inclusão previamente definidos e a avaliação crítica dos artigos seleccionados quanto à sua pertinência e mérito científico (Haynes *et al.*, 2006). Em primeiro lugar, deve-se proceder à compreensão da avaliação sumária dos resumos dos artigos encontrados quanto à sua relevância para a questão colocada na revisão sistemática. Os artigos deverão ser classificados em “muito relevantes”, “provavelmente relevantes”, “possivelmente relevantes” e “não relevantes”, tendo em conta que em caso de incerteza a inclusão deve ser preferida, por forma a evitar a perda de estudos relevantes (Marques *et al.*, 2008). Posteriormente, são aplicados os critérios de inclusão previamente definidos, visando a selecção dos estudos cujo desenho experimental permite responder à questão colocada.

Os estudos seleccionados são sujeitos à avaliação crítica no que respeita ao seu mérito científico. Esta avaliação deverá também ser conduzida em duplicado, recorrendo a uma grelha de avaliação adaptada a partir de modelos previamente existentes na literatura (Clarke, 2000; Hopewell *et al.*, 2008). Numa tentativa de melhorar a qualidade das meta-análises de estudos randomizados controlados, foi realizada em 1999 a conferência “*Quality of Reporting of Meta-analyses – QUOROM*” onde foram abordados os principais pontos a ter em conta na avaliação crítica dos estudos a incluir em meta-análises, tendo-se criado uma tabela de avaliação específica (Moher *et al.*, 1999). Por um lado, esta avalia se o estudo em questão é válido, quais os resultados obtidos, as razões para as diferenças entre estudos e se estes apresentam relevância no contexto em causa (Clarke, 2000; Hopewell *et al.*, 2008). Neste processo devem intervir pelo menos dois revisores, que devem trabalhar e classificar os estudos encontrados de forma independente, de forma a minimizar erros de avaliação devidos a idiossincrasias individuais. Esta etapa deverá ser acompanhada da extracção da informação relevante do

artigo, incluindo uma tabela para preenchimento onde figurem os objectivos concretos de cada estudo, a medida dos efeitos utilizada e outros dados de possível interesse para a revisão sistemática (Haynes *et al.*, 2006).

2.3.5 Síntese dos estudos avaliados

A sumarização e apresentação gráfica ou em tabelas dos resultados obtidos de cada estudo individual permite a integração dos dados de uma forma mais intuitiva. A avaliação preliminar dos estudos recolhidos permite decidir se é apropriado combinar os resultados dos estudos, avaliar a heterogeneidade estatística dos resultados, estimar um possível efeito comum, explorar e explicar a heterogeneidade dos resultados, avaliar a potencial existência de vieses e compilar uma tabela que sumarie e compare os resultados dos estudos seleccionados (Torabinejad & Bahjri, 2005). Por norma, realiza-se igualmente uma síntese qualitativa destes estudos, baseada directamente nas tabelas, que descreve as principais características e resultados dos mesmos. Esta síntese deverá também incluir os estudos excluídos e as razões para a sua exclusão (Bader & Ismail, 2004).

2. Objectivos

Na presente dissertação pretende-se realizar uma revisão sistemática (Março-Setembro de 2014) sobre a quimioterapia e a terapia molecular no tratamento de mastocitomas cutâneos incluindo caninos com mastocitomas de grau histológico II e III, com ou sem evidência de metastização.

Os objectivos gerais desta revisão sistemática foram avaliar a eficácia e segurança dos diferentes tipos de protocolo de quimioterapia e dos inibidores de tirosinas-cinases no tratamento do mastocitoma cutâneo utilizando os dados recolhidos de estudos científicos publicados. Os objectivos específicos foram:

- a) a análise descritiva das principais características dos participantes e das neoplasias;
- b) determinar a eficácia dos dois grupos de tratamento (quimioterapia e inibidores de tirosinas-cinases);
- c) determinar as taxas de interrupção do tratamento associadas aos efeitos adversos dos dois grupos de tratamento;
- d) estudar a relação entre as variáveis taxa de interrupção associada aos efeitos adversos e a resposta ao tratamento para os dois grupos de tratamento;
- e) aferir a heterogeneidade das respostas aos diferentes protocolos dos dois grupos de tratamento.

3. Materiais e métodos

3.1 Caracterização do estudo

Este trabalho consiste numa revisão sistemática da literatura implicando a síntese de estudos primários que contêm objectivos, materiais e métodos e resultados, claramente explicitados, e que é conduzida de acordo com uma metodologia clara e reproduzível, baseada nas recomendações do “*Cochrane Collaboration*” (Higgins & Green, 2011).

3.2 Definição da questão de investigação

Para a definição da questão da investigação considerou-se a metodologia PICO (Higgins & Green, 2011), definindo-se a população em estudo, a intervenção, a comparação para cada intervenção e os desfechos a serem medidos, tal como descrito no quadro 11 e 12.

Quadro 11 – Descrição do acrónimo PICO (participantes sem metástases).

Acrónimo	Componente	Descrição
P	Participantes	Caninos com mastocitomas cutâneos de grau histológico II ou III sem metástases.
I	Intervenção	Quimioterapia Inibidores de tirosinas-cinases.
C	Comparação	Quimioterapia ou inibidores de tirosinas-cinases versus placebo/sem tratamento.
O	“Outcome”	Indicadores clínicos de eficácia: • Taxa de resposta global • Duração da resposta • Taxa de sobrevida • Tempo de sobrevida • Intervalo livre de doença (entre protocolos).

Quadro 12 – Descrição do acrónimo PICO (participantes com metástases).

Acrónimo	Componente	Descrição
P	Participantes	Caninos com mastocitomas cutâneos de grau histológico II ou III com metástases.
I	Intervenção	Quimioterapia Inibidores de tirosinas-cinases.
C	Comparação	Quimioterapia ou inibidores de tirosinas-cinases versus placebo/sem tratamento.
O	“Outcome”	Indicadores clínicos de eficácia: • Taxa de resposta global • Critérios “RECIST”: • Resposta completa • Resposta parcial • Doença estável • Doença progressiva • Duração da resposta • Taxa de sobrevida • Tempo de sobrevida global • Intervalo livre de progressão.

Assim, as questões desta investigação foram:

- Qual a eficácia científica demonstrada do tratamento com quimioterapia em mastocitomas cutâneos de grau II e III com e sem metástases?

- Qual a eficácia científica demonstrada do tratamento com inibidores de tirosinas-cinases em mastocitomas cutâneos de grau II e III com e sem metástases?

3.3 Critérios de inclusão e exclusão dos estudos

Os critérios para incluir ou excluir desta revisão sistemática os estudos encontrados na bibliografia encontram-se descritos nos quadro 13 e 14, respectivamente.

Quadro 13 - Descrição dos critérios de inclusão dos estudos.

Critérios de inclusão	
Tipo de participantes	Caninos com mastocitomas cutâneos de grau histológico II ou III com e sem metástases.
Tipo de desenho de estudo	Ensaio clínico randomizado, controlado e cego (ECRCC), ECRC (sem ocultação) e estudos prospectivos.
Tipo de intervenção	Quimioterapia Inibidores de tirosinas-quinases.
Tipos de resultados	Taxa de resposta global Resposta completa Resposta parcial Doença estável Doença progressiva Duração da resposta Taxa de sobrevida Tempo de sobrevida global Intervalo livre de doença Intervalo livre de progressão Taxa de resposta biológica observada.
Idioma	Inglês, Espanhol, Português

Quadro 14 – Descrição dos critérios de exclusão dos estudos.

Critérios de exclusão	
Número de amostragem	Número de animais < 10.
Tipo de participantes	Estudos com outras espécies, caninos com mastocitomas situados noutras localizações (não cutâneos).
Tipo de desenho de estudos	Ensaio clínico de fase I, estudos caso-controlo, case reports, estudos de revistas científicas não indexadas.
Tipo de intervenção	Cirurgia, radioterapia, electroquimioterapia, terapia fotodinâmica, imunoterapia, soluções hipotónicas, hipertermia associada com radioterapia, braquiterapia intralesional, corticoterapia intralesional e crioterapia.

3.4 Estratégia de pesquisa

No presente estudo, entre Março e Setembro de 2014, foi realizada uma vasta pesquisa de referências bibliográficas na base de dados electrónica conhecida por “*PubMed*” com a finalidade de se identificar todos os estudos relevantes às questões desta investigação. Os termos utilizados na estratégia de pesquisa encontram-se descritos no quadro 15.

Adicionalmente foi realizado o cruzamento manual de referências dos artigos para identificar estudos adicionais relevantes à amostra. Numa primeira fase de pesquisa, as palavras-chave relacionadas com a doença foram: “*mast cell tumors*”, em combinação com a palavra identificadora da espécie: “*canine*”. Na segunda fase de pesquisa foram acrescentados os termos relacionados com as respectivas terapêuticas e as palavras-chave utilizadas foram: “*chemotherapy*” e “*tyrosine kinase inhibitors*”.

Quadro 15 – Palavras-chave utilizadas na estratégia de pesquisa na base de dados PubMed.

Termos utilizados na questão PICO	Termos utilizados na pesquisa avançada
P – Canídeos com mastocitomas de grau II e III com ou sem metástases	“Mast cell tumor canine”
I – Quimioterapia e Inibidores tirosinas- cinases	“Chemotherapy OR tyrosine kinase inhibitors”

3.5 Selecção dos estudos

A selecção dos estudos consistiu em duas fases. A primeira fase envolveu a leitura dos títulos e resumos de todos os estudos encontrados no motor de pesquisa para realizar uma pré-selecção dos estudos potencialmente relevantes para a revisão, tendo-se recorrido a um formulário elaborado de acordo com os critérios de inclusão e de exclusão (Apêndice I). Estipulou-se como idiomas dos estudos a incluir na revisão o Inglês, o Português e o Espanhol. A exclusão dos estudos deveu-se ao não cumprimento de um único critério de inclusão. A segunda fase consistiu na leitura integral dos estudos pré-seleccionados.

3.6 Colheita de dados

A colheita de dados foi realizada através da utilização de um formulário elaborado de acordo com as recomendações da Colaboração Cochrane (Higgins & Green, 2011) (Apêndice II). O formulário deriva directamente da questão de pesquisa e dos critérios para avaliar a elegibilidade dos estudos. Esta etapa permite determinar se existe a possibilidade de comparar os estudos seleccionados.

3.7 Avaliação crítica

3.7.1 Avaliação da qualidade metodológica

Para a avaliação crítica dos estudos recorreu-se ao instrumento de avaliação do risco de viés do “*Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*” (Higgins & Green, 2011) (Apêndice III), que incluiu sete domínios de avaliação, nomeadamente: geração da sequência, ocultação da alocação, ocultação dos proprietários dos animais e dos clínicos, ocultação dos resultados aos avaliadores, desfechos incompletos e outras fontes de risco. Esta apreciação foi feita de acordo com a resposta do revisor (R.R.) relativamente a cada domínio; a resposta “sim” indica baixo risco de viés, a resposta “não” indica alto risco de viés e respostas “não está claro” indicam risco de viés incerto (Apêndice III).

A avaliação da validade do desenho do estudo foi realizada através de 3 parâmetros: randomização (método de geração da sequência e ocultação da alocação), ocultação dos avaliadores quanto aos resultados e perda de seguimento (análise de ITT). Estes 3 parâmetros foram classificados em 3 grupos: adequado; indefinido e inadequado.

Quando os estudos não se encontravam randomizados, a classificação utilizada para o critério de randomização foi: “Não foi realizada”.

A qualidade do grau de evidência dos estudos (classificação de A-D) foi definida com base nos parâmetros referidos pelo “*Oxford Centre for Evidence-based Medicine*” (Adaptado de CEBM, 2009) (Apêndice IV) e adicionalmente, acrescentaram-se os números de participantes incluídos nos grupos de tratamento, de modo a facilitar a percepção do tamanho da amostra de cada estudo, sendo estes:

- (A) Ensaio clínico randomizado controlado e cego (controlo com substância activa ou placebo);
- (B) Ensaio clínico controlado sem ocultação ou randomização;
- (C) Ensaio clínico aberto, não controlado;
- (D) Estudos de coorte, estudos caso-controlo, estudos descritivos, case report;
- (1) > 100 participantes por grupo
- (2) 50-100 participantes por grupo
- (3) 20-50 participantes por grupo
- (4) < 20 participantes por grupo

3.7.2 Avaliação da qualidade das características de selecção dos participantes

Para cada estudo elegível, as características de selecção dos participantes foram avaliadas relativamente ao método de diagnóstico. A qualidade das características dos participantes dos estudos seleccionados foi avaliada da seguinte forma:

- Bem caracterizado: quando foram apenas incluídos no estudo caninos com mastocitomas e quando os métodos de diagnóstico se encontravam suficientemente detalhados, permitindo assim, a sua comparação com os métodos de diagnóstico standard.
- Fracamente caracterizado: quando a selecção dos participantes era vaga ou quando os detalhes relativamente ao método de diagnóstico eram insuficientes.

3.7.3 Avaliação dos medidores de resposta

Para cada estudo elegível foram extraídos os seguintes medidores de resposta sobre a eficácia do respectivo tratamento: taxa de resposta global; critérios “*RECIST*” (resposta completa, resposta parcial, progressão de doença e doença estável); duração da

resposta; taxa de sobrevida; tempo de sobrevida global; intervalo livre de progressão; e taxa de resposta biológica observada. O quadro 16 apresenta as definições de cada medidor de resposta da terapia oncológica.

Quadro 16 – Definições dos medidores de resposta da terapia oncológica (Adaptado de Withrow et al., 2013).

		Medidores de resposta	Definições
Critérios RECIST:		Taxa de resposta global (TRG)	Número de participantes tratados que atingiram RC ou RP em comparação com o número total de participantes tratados.
		Resposta completa (RC)	Desaparecimento total do(s) tumor(es) e sintomatologia clínica.
		Resposta parcial (RP)	Redução do volume tumoral em $\geq 50\%$ ou redução $>30\%$ do maior diâmetro tumoral e sem aparecimento de novas lesões.
		Progressão de doença (PD)	Aumento $>25\%$ do volume tumoral ou aumento $>20\%$ do maior diâmetro tumoral; ou aparecimento de novas lesões.
		Doença estável (DE)	Sem aumento ou redução do tamanho tumoral ou da sintomatologia clínica (alteração de diâmetro $\pm 20\%$); sem novas lesões.
		Duração da resposta (DR)	Média do número de dias desde o início do tratamento até à recidiva quando atingiram RC, ou até à progressão da doença nos que atingiram RP.
		Taxa de sobrevida (TS)	Percentagem de animais pertencentes ao grupo de tratamento que se encontram vivos após o período de tratamento.
		Tempo de sobrevida global (TSG) (média)	Período desde o primeiro tratamento até à morte (por qualquer motivo).
		Intervalo livre de progressão (ILP) (média)	Período decorrido desde o início do tratamento sem progressão da doença.
		Taxa de resposta biológica observada (TRBO)	Somatório da taxa de DE, taxa de RC e taxa de RP.

3.8 Síntese dos dados

Esta etapa teve como objectivo sintetizar os dados resultantes dos estudos incluídos na revisão para fornecer uma estimativa da intervenção estudada. Em revisões qualitativas a combinação dos resultados dos estudos é sintetizada de forma narrativa, e essa análise é conhecida como Metassíntese ou Meta-etnografia. Os dados recolhidos dos estudos incluídos nesta revisão sistemática da literatura foram apresentados de forma descritiva, devido à heterogeneidade entre os participantes, intervenções estudadas e risco de viés, tal como o recomendado para estas situações (Higgins & Green, 2011). Esta síntese descritiva foi realizada através do uso de tabelas e gráficos, onde são resumidos

os dados recolhidos relativos às características dos participantes, das intervenções, dos resultados e da qualidade do estudo.

3.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o programa Microsoft Office Excel 2013[®] e com o programa SPSS[®] (Statistical Package for Social Sciences[®], versão 22 para Microsoft Windows). Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva dos dados, através de estatística descritiva com análise univariada dos dados recolhidos, tabelas e gráficos. Foram também utilizados os testes de diferenças de proporções e o teste de independência Chi-quadrado para comparação de variáveis. Considerou-se uma correlação estatisticamente significativa de $p\text{-value } (p) < 0,05$.

Por fim, com o intuito de aferir sobre a heterogeneidade das respostas aos tratamentos dos diferentes protocolos dos dois grupos de tratamento em análise, recorreu-se ao Q de Cochran e ao valor de I^2 . Considerou-se o resultado do teste de heterogeneidade significativo quando o respectivo valor da prova (Q de Cochran) apresentava um valor inferior ao nível de significância previamente definido, $\alpha = 0.05$.

4. Resultados

4.1 Processo de pesquisa e seleção dos estudos

A plataforma de pesquisa global utilizada foi a PubMed. Os dados da estratégia de pesquisa tendo em conta os participantes, intervenções e o desenho do estudo encontram-se descritos nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Estratégia de pesquisa para a base de dados PubMed (pesquisa global).

Nº de estudos		
P	“mast cell tumor canine”	660
P + I	“mast cell tumor canine” AND “chemotherapy” OR “tyrosine kinase inhibitors”	153
P + I com filtro: “systematic review”	“mast cell tumor canine” AND “chemotherapy” OR “tyrosine kinase inhibitors”	1 (sem relevância)
P + I com filtro: “randomized controlled trial”	“mast cell tumor canine” AND “chemotherapy” OR “tyrosine kinase inhibitors”	7

P – participantes; I – Intervenções

Tabela 2 – Estratégia de pesquisa para a base de dados PubMed (pesquisa relacionada com quimioterapia).

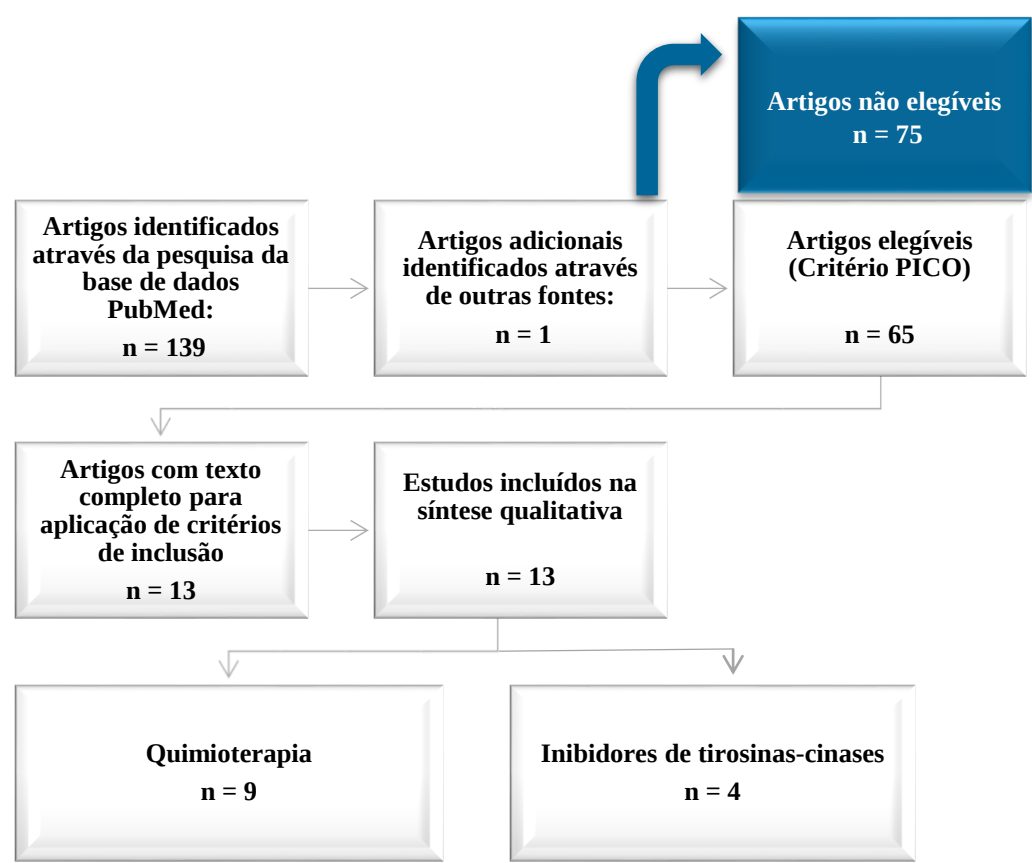
“mast cell tumor canine” AND “chemotherapy”	Total de artigos: 139
	Artigos incluídos: 12
	* quimioterapia: 8
	* inibidores de tirosinas-cinases: 4
	Artigos excluídos: 127

A totalidade dos estudos encontrados na base de dados até Setembro de 2014 foi de 139 e adicionalmente efectuou-se o cruzamento manual de referências dos artigos, e identificou-se 1 estudo relevante; destes, 65 foram considerados potencialmente relevantes e 75 foram excluídos por não serem elegíveis (Figura 3). Os estudos potencialmente relevantes eram aqueles que continham no título e resumo informações necessárias para determinar a sua elegibilidade. Por outro lado, aqueles que não apresentavam tais informações ou que, numa primeira fase suscitaram dúvidas aos revisores, também foram obtidos na íntegra e avaliados quanto à adequação aos critérios de elegibilidade.

Dos 65 estudos que precisavam de uma análise na íntegra para se verificar a sua

elegibilidade, 52 foram excluídos por não satisfazerem os critérios de elegibilidade (Quadro 17) e 13 foram incluídos na RS (9 de quimioterapia e 4 sobre os inibidores das tirosinas-cinases).

Figura 3- Fluxograma da selecção dos estudos incluídos na revisão sistemática.



Quadro 17 - Motivos de exclusão dos estudos.

Motivos de exclusão	
Participantes	Outras espécies
	Amostra de canídeos <10
	Mastocitomas noutras localizações (não cutâneas)
Intervenções	Radioterapia
	Cirurgia
	Electroquimioterapia
	Terapia fotodinâmica
	Soluções hipotónicas
	Imunoterapia
	Factores de prognóstico
Desenho do estudo	Estudos retrospectivos
	Ensaios clínicos de fase I (determinação da dosagem)
	Case report
	Revisões, cartas, comentários
	Estudos de expressão molecular

4.2 Descrição dos estudos

A partir das estratégias de pesquisa e de selecção aplicadas, foram incluídos nesta revisão sistemática 3 ECRCC, 1 ECRC aberto e 9 estudos prospectivos. Os estudos incluídos foram publicados entre 1997 e 2013. Relativamente ao local de investigação dos estudos, estes foram conduzidos em ambiente hospitalar e em ambiente universitário. Os estudos foram publicados em revistas científicas indexadas pelo “ISI - Institute for Scientific Information”, nomeadamente: *Veterinary and Comparative Oncology*, *Journal of Small Animal Practice*, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *Clinical Cancer Research – American Association for Cancer Research*, *American Journal of Veterinary Research*, *Journal of the American Animal Hospital Association*.

Com o intuito de proporcionar uma melhor compreensão dos resultados obtidos nos estudos incluídos e após a análise criteriosa e sistemática dos mesmos, os estudos foram agrupados em duas categorias temáticas: quimioterapia e inibidores de tirosinas-kinases. As tabelas 3- 13 sintetizam a informação contida nos mesmos.

4.3 Selecção e validade dos estudos

A maioria dos estudos do grupo de quimioterapia são prospectivos abertos, havendo apenas um randomizado controlado e cego (Gráfico 2; Tabela 3). Na tabela 3 pode-se verificar que três estudos avaliaram o efeito da vinblastina (Davies *et al.*, 2004; Rassnick *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2010), dois da lomustina (Rassnick *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2012), dois do paclitaxel micelar (Vail *et al.*, 2012; Rivera *et al.*, 2013), três da prednisolona (Davies *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2009; Rassnick *et al.*, 2010), um do clorambucilo (Taylor *et al.*, 2009), um da vincristina (McCaw *et al.*, 1997), um da hidroxiureia (Rassnick *et al.*, 2010a) e um da vinorelbina (Grant *et al.*, 2008). A geração da sequência de alocação foi adequada em dois estudos (Rassnick *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2012) e a ocultação da alocação, assim como a ocultação dos resultados aos avaliadores foram apenas adequadas num estudo (Vail *et al.*, 2012). A análise de ITT foi utilizada apenas no único ECRCC (Vail *et al.*, 2012).

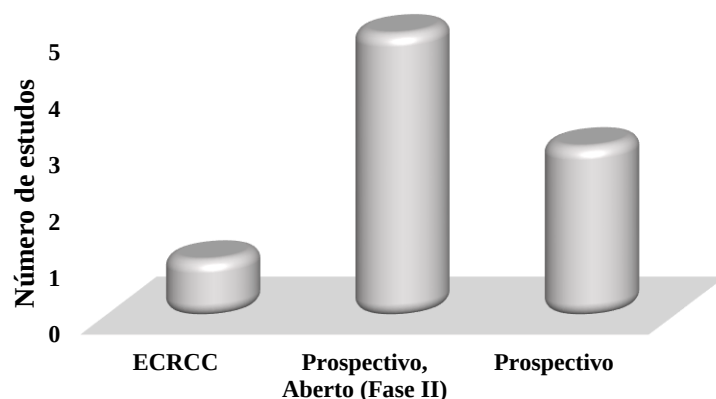


Gráfico 2 – Distribuição do tipo de estudo (grupo de quimioterapia).

Relativamente aos estudos do grupo de inibidores de tirosinas-cinases, dois são randomizados controlados e cegos, havendo apenas um estudo randomizado controlado (sem ocultação) e outro prospectivo (Gráfico 3; Tabela 4). Na tabela 4 verifica-se que dois ensaios clínicos estudaram o efeito do masitinib (Hahn *et al.*, 2008; Hahn *et al.*, 2010), um do fosfato de toceranib (London *et al.*, 2009) e o estudo prospectivo estudou o efeito do mesilato de imatinib (Isotani *et al.*, 2008). A geração da sequência de alocação e a ocultação da alocação foram adequadas para os três ensaios clínicos (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Hahn *et al.*, 2010). A ocultação dos resultados aos avaliadores foi apenas adequada em dois ensaios clínicos (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009). A análise de ITT foi adequada para os três ensaios clínicos (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Hahn *et al.*, 2010).

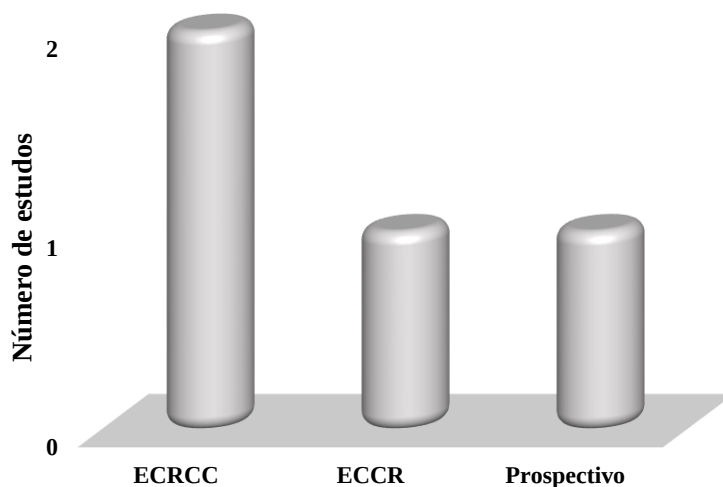


Gráfico 3 – Distribuição do tipo de estudo (grupo de inibidores de tirosinas-cinases).

Tabela 3 – Quimioterapia: selecção e validade dos estudos.

	McCaw <i>et al.</i> , 1997	Davies <i>et al.</i> , 2004	Grant <i>et al.</i> , 2008	Rassnick <i>et al.</i> , 2008	Taylor <i>et al.</i> , 2009	Rassnick <i>et al.</i> , 2010	Rassnick <i>et al.</i> , 2010a	Vail <i>et al.</i> , 2012	Rivera <i>et al.</i> , 2013
Protocolo	Vinc 0,75 mg/m ² IV,d0, 7, 14 e 21	VBL 2.0 mg/m ² IV S1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 Pred 2 mg/kg PO, SID S1, 1.5 mg/kg S2; 1.0 mg/kg S3- S5; desmame a partir da S6	Vinorelbina 15 mg/m ² IV q7d, 7 adm.	VBL 2,0 mg/m ² IV q8d, 4 adm.; q15d, 4 adm. versus VBL 3,5 mg/m ² IV, q15d, 5 adm.	Pred 40 mg/m ² PO, SID, 14d; 20 mg/m ² QOD e Clorambucilo 5 mg/m ² , PO QOD	CCNU 70 mg/m ² PO S 1, 5, 9, 15, 21 VBL 3,5 mg/m ² IV S 3, 7, 12, 18, 24 Pred 2 mg/kg PO, SID, 14d; 1 mg/kg SID, 14d e QOD até 24S; desmame após 24S (de 4 S)	Hidroxi 60 mg/kg PO, SID, 14d; 30 mg/kg PO, SID até recidiva	Paclitaxel micelar 150 mg/m ² IV, q21d, 4 adm. versus CCNU 70 mg/m ² PO, q21d, 4 adm.	Paclitaxel micelar 145 mg/m ² IV, q21d, 3 adm.
Validade dos estudos									
Tipo de estudo	Prospectivo	Prospectivo	Prospectivo Aberto (Fase II)	Prospectivo, Aberto (Fase II)	Prospectivo	Prospectivo Aberto (Fase II)	Prospectivo Aberto Multicêntrico (Fase II)	ECRCC	Prospectivo Aberto Multicêntrico
Qualidade de evidência	D3	D3	C3	C2	D3	C2	C3	A1	C3
Randomização (Geração da sequência de alocação)	N	N	N	Adequada	N	N	N	Adequada	N
Randomização (Ocultação da alocação)	N	N	N	N	N	N	N	Adequada	N
Ocultação dos resultados aos avaliadores	N	N	N	N	N	N	N	Adequada	N
Análise de Intenção-de- Tratar	N	N	N	N	N	N	N	Adequada	N

A1 – ECRCC >100 participantes por grupo; Adm. – administrações; C2 – Ensaio clínico aberto, não controlado 50-100 participantes por grupo; C3 – Ensaio clínico aberto, não controlado 20-50 participantes por grupo; CCNU – Lomustina; d- dias; D3 – Estudo de coorte 20-50 participantes por grupo; ECRCC – Ensaio Clínico Randomizado Controlado e Cego; Hidrox – Hidroxiureia; IV- intravenoso; N – Não foi realizada; PO – per os; Pred – Prednisolona; q – a cada; QOD – dias alternados; S- semanas; SID – uma vez por dia; VBL – Vinblastina; Vinc – Vincristina;

Tabela 4 - Inibidores de tirosinas-cinases: selecção e validade dos estudos.

	Hahn <i>et al.</i> , 2008	Isotani <i>et al.</i> , 2008	London <i>et al.</i> , 2009	Hahn <i>et al.</i> , 2010 (continuação)*
Protocolo	Masitinib ou Placebo 12.5 mg/kg PO, SID, 6 M	Mesilato de Imatinib 10 mg/kg, PO, SID, 1-9 S	Fosfato de Toceranib ou Placebo 3,25 mg/kg PO, QOD, 6 S	Masitinib ou Placebo 12.5 mg/kg, PO, SID, 24 M
Validade dos estudos				
Tipo de estudo	ECRCC	Prospectivo	ECRCC	ECRC
Qualidade da evidência	A1	D3	A1	B1
Randomização (Geração da sequência de alocação)	Adequada	N	Adequada	Adequada
Randomização (Ocultação da alocação)	Adequada	N	Adequada	Adequada
Ocultação dos resultados aos avaliadores	Adequada	N	Adequada	N
Análise de Intenção-de-Tratar	Adequada	N	Adequada	Adequada

A1 – ECRCC >100 participantes por grupo; B1 – ECCR (sem ocultação) >100 participantes por grupo; D3 – Estudo de coorte 20-50 participantes por grupo; ECRC – Ensaio Clínico Randomizado Controlado (sem ocultação); ECRCC – Ensaio Clínico Randomizado Controlado e Cego; M – meses; N – Não foi realizada; PO – *per os*; QOD – dias alternados; S- semanas; SID – uma vez por dia.

*Hahn *et al.*, 2010 – este estudo é uma continuação do estudo Hahn *et al.*, 2008.

4.4 Avaliação dos participantes

4.4.1 Estudos de quimioterapia

Os estudos de quimioterapia encontram-se caracterizados quanto aos participantes e às características das neoplasias nas tabelas 5 e 6.

Em todos os estudos seleccionados de quimioterapia os participantes foram bem caracterizados, ou seja, incluíram apenas cães com mastocitomas e os métodos de diagnóstico encontravam-se devidamente detalhados (Tabela 5).

Na tabela 5 pode-se verificar que dos 526 participantes do grupo de quimioterapia, 197 foram tratados com paclitaxel micelar, 133 com lomustina (associado com prednisolona em 52 casos), 78 com vinblastina (associado com prednisolona em 27 casos), 46 com hidroxiureia, 27 com vincristina, 24 com vinorelbina e 21 com clorambucilo associado à prednisolona.

A média dos valores disponíveis para a idade dos animais foi de 9,1 anos (intervalo de confiança de 95%; variou entre 8,2-9,2 anos; desvio-padrão amostral corrigido de 1,3). Considera-se que a idade mediana das amostras está na ordem dos 9 anos.

A média dos valores disponíveis para o peso dos animais foi de 28,4 Kg (intervalo de confiança de 95%; variou entre 26,8-30,0 Kg; desvio-padrão amostral corrigido de 2,1). O peso mediano das amostras é de 28 Kg.

No que diz respeito ao género, a proporção total de doentes do género feminino foi superior ao do género masculino (Gráfico 4).

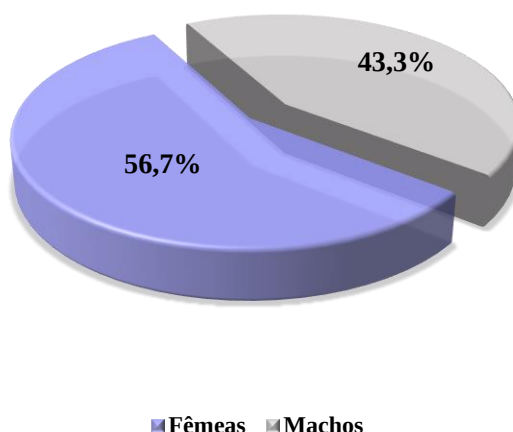


Gráfico 4 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “género”.

O estadiamento tumoral, realizado segundo os critérios da OMS (Owen, 1980), foi descrito em sete estudos (McCaw *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 2004; Grant *et al.*, 2008;

Taylor *et al.*, 2009; Rassnick *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2012; Rivera *et al.*, 2013). Sete por cento dos animais estavam em estadio 0, 12% em estadio I, 11% em estadio II, 46% em estadio III e 2% em estadio IV (Tabela 5). A metastização ganglionar foi registada em 33% animais e a metastização à distância foi descrita em 2% dos animais (Tabela 6).

O grau histológico foi realizado de acordo com o método descrito por Patnaik *et al.*, (1984) em todos os estudos, sendo que 61% dos doentes tinham mastocitomas de grau II e 34% de grau III, os restantes casos não foram determinados (Tabela 5). Apenas um estudo descreveu o IM para tumores de grau II e III, sendo que este foi ≤ 5 para 32 casos (6%) e > 5 para 19 casos (4%) (Tabela 6).

A duração média dos protocolos de tratamento foi variável entre os estudos, estando descrita na tabela 5. Todos os doentes foram submetidos a 1 semana e 6 dias de tratamento com hidroxiureia, havendo posteriormente alteração da dose até à recidiva tumoral, e obteve-se um tempo médio de tratamento de 22 dias (cerca de 3 semanas) (Rassnick *et al.*, 2010a). O tratamento com vincristina foi durante 4 semanas (um tratamento por semana), sendo que 52% dos doentes (N=14) descontinuaram-no antes da 4ª administração (McCaw *et al.*, 1997). Relativamente à vinorelbina foi apenas administrado um tratamento, sendo a sua duração de apenas 1 dia (Grant *et al.*, 2008). 90 animais foram tratados com 4 ciclos de paclitaxel e de lomustina a cada 21 dias, sendo que 42% (N= 71) completaram os 4 ciclos de tratamento de paclitaxel com uma duração de 9 semanas, e 24% (N=19) completaram os 4 ciclos de lomustina durante 9 semanas (Vail *et al.*, 2012). Dos 29 doentes doutro estudo com paclitaxel micelar, 23 receberam pelo menos 2 ciclos de tratamento durante 21 dias e 19 receberam pelo menos 3 ciclos de tratamento a cada 21 dias, ou seja, durante 6 semanas (Rivera *et al.*, 2013). Os animais do grupo com dose de 2,0 mg/m² de vinblastina receberam em média 2 tratamentos (um por semana). Em 4 animais, apenas 1 tratamento foi administrado devido à rápida progressão de doença. Para os restantes cães, 19 receberam 2 tratamentos, 1 recebeu 7 e 1 sofreu 8 administrações. Por outro lado, no grupo de animais que receberam a dose de 3,5 mg/m² de vinblastina obteve-se uma média de 2 tratamentos, ou seja 4 semanas de tratamento. Cerca de 7 cães receberam apenas 1 tratamento devido à rápida progressão de doença e dos restantes, 16 sofreram 2 administrações e apenas 3 receberam 4 tratamentos (Rassnick *et al.*, 2008). Quanto ao estudo do protocolo adjuvante, cerca de 8 tratamentos de vinblastina foram administrados durante 12 semanas, sendo que apenas 2 animais não completaram este protocolo.

Tabela 5 - Quimioterapia: avaliação dos participantes.

		McCaw <i>et al.</i> , 1997	Davies <i>et al.</i> , 2004	Grant <i>et al.</i> , 2008	Rassnick <i>et al.</i> , 2008		Taylor <i>et al.</i> , 2009	Rassnick <i>et al.</i> , 2010		Rassnick <i>et al.</i> , 2010a	Vail <i>et al.</i> , 2012		Rivera <i>et al.</i> , 2013
Avaliação dos participantes													
Qualidade das características de inclusão do estudo		B.C.	B.C.	B.C.	B.C.		B.C.	B.C.		B.C.	B.C.		B.C.
Número total de participantes		27	27	24	51		21	52		46	252 (ITT) 249 tratados		29
					V1	V2		A	B		P	C	
					25	26		17	35		168	81	
Estadiamento tumoral (N; %)	0	5 (19)	27 (100)	-	-	-	-	-	5 (14)	-	-	-	-
	I	5 (19)	-	14(58)	-	-	8 (38)	-	14 (40)	-	1 (1)	-	19 (66)
	II	3 (11)	-	-	-	-	3 (14)	-	11 (31)	-	23 (14)	11 (14)	6 (20)
	III	11 (40)	-	6 (25)	-	-	10 (48)	-	1 (3)	-	144 (85)	70 (86)	2 (7)
	IV	3 (11)	-	4 (17)	-	-	-	-	2 (6)	-	-	-	2 (7)
Grau histológico (N;%)	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	II	16 (59)	24 (89)	11 (46)	13 (52)	11(42)	13 (62)	6 (35)	17(49)	22 (48)	114 (68)	56 (69)	18 (62)
	III	11 (41)	3 (11)	2 (8)	11(44)	15(58)	6 (29)	8 (47)	15(43)	21 (46)	54 (32)	25 (31)	9 (31)
Não determinado		-	-	11 (46)	1(4)	-	2 (9)	1(6)	-	3 (6) ^{b1}	-	-	2 (7)
Duração do tratamento com quimioterapia (média)		4 S	12 S	7 S	2 S	4 S	RC após 6 M; Restantes: até à morte*	9 S (VBL) 9 S (C)		3 S ^{b2}	9 S (P) 6 S (C)		6 S

A – grupo de mastocitomas mensuráveis não excisáveis; B – grupo de tratamento adjuvante para controlo locoregional em cães com mastocitomas metastáticos ou de elevado grau (com ou sem doença microscópica); B.C. – bem caracterizado; C – CCNU; d- dias; ITT – intenção-de-tratar; M – meses; P – Paclitaxel Micelar; PO – *per os*; RC – resposta completa; S- semanas; V1 - VBL 2,0 mg/m²; V2 - VBL 3,5 mg/m²;

Estadiamento tumoral: Organização Mundial de Saúde - Owen, 1980

Grau histológico: Patnaik *et al.*, 1984

* **Taylor *et al.*, 2009** – Animais com RC descontinuaram o tratamento após 6 meses; nos restantes animais o tratamento continuou até à sua morte.

^b **Rassnick *et al.*, 2010^a** – ^{b1}Estes animais realizaram apenas a citologia tumoral; ^{b2}14 dias de tratamento (60 mg/kg PO, SID) e 30 mg/kg PO, SID até ao surgimento de recidiva tumoral;

Tabela 6 - Quimioterapia: Descrição da resenha, intervenções terapêuticas anteriores, localização e tamanho tumoral, estadiamento clínico e características microscópicas da amostra/estudo.

		McCaw <i>et al.</i> , 1997	Davies <i>et al.</i> , 2004	Grant <i>et al.</i> , 2008	Rassnick <i>et al.</i> , 2008		Taylor <i>et al.</i> , 2009	Rassnick <i>et al.</i> , 2010		Rassnick <i>et al.</i> , 2010a	Vail <i>et al.</i> , 2012		Rivera <i>et al.</i> , 2013
					V1	V2		A	B		P	C	
Características dos participantes	Idade (média, anos)	10	7	7.5	11	9	10	11	8	10	9	9	8
	Gênero (F;M)	14; 13	17; 10	15; 9	13;12	14;12	9;12	11;6	23;12	27;19	91;77	48;33	16; 13
	Peso (média, kg)	27	-	33	30	30	25,5	26	29	28	28	28	-
	Tratamentos												
	Cirurgia	14 (52)	27 (100)	-	17 (68)	18 (69)	11 (52)	-	35 (100)	37 (80)	-	-	-
	Tratamentos												
	prévios												
	Radioterapia	-	-	-	-	-	-	-	7 (20)	6 (13)	-	-	-
	Prednisona	2 (7)	-	-	4 (16)	8 (38)	-	-	-	46 (100)	-	-	-
	Vinblastina	-	-	-	-	-	-	-	-	35 (76)	-	-	-
Características da neoplasia	CCNU	-	-	-	-	-	-	-	-	34 (74)	-	-	-
	Clorambucilo	-	-	-	-	-	-	-	-	14 (30)	-	-	-
	Ciclofosfamida	-	-	-	-	-	-	-	-	7 (15)	-	-	-
	Nº de tumores												
	Solitários	16 (59)	27 (100)	18 (75)	12 (48)	8 (31)	13 (62)	11 (65)	31 (89)	17 (37)	24 (14)	11 (14)	24 (83)
	Múltiplos	11 (41)	0	6 (25)	13 (52)	18 (69)	8 (38)	6 (35)	4 (11)	29 (63)	144 (85)	70 (86)	5 (17)
	Localização												
	Extremidades	12	30	12	4	3	10	4	9	6	-	-	15
	Tronco	11	7	5	3	2	5	1	9	3	-	-	6
	Períneo/Inguinal	-	6	1	2	1	2	4	6	5	-	-	1
	Cabeça/Pescoço	7	1	4	3	3	6	-	4	3	-	-	8
	Outras	-	-	2	-	-	-	2	3	-	-	-	1
	Volume (média, cm ³)	61	-	-	23	37.5	-	-	-	35	-	-	-
	Tamanho (média, mm)	-	-	39	-	-	-	-	-	-	-	-	65
	Metástases nos GLR (N;%)	3(11)	-	4(17)	15(60)	16(62)	8(38)	12(71)	25(71)	32(70)	-	-	7(24)
	IM (N;%)												
	≤5	-	-	-	-	-	-	10 (59)	22 (63)	-	-	-	-
	>5	-	-	-	-	-	-	6 (35)	13 (37)	-	-	-	-
	Margens cirúrgicas												
	Limpas	-	8 (30)	-	-	-	-	-	6 (17)	-	-	-	-
	Incompletas	-	19 (70)	-	-	-	-	-	12 (34)	-	-	-	-
	Doença macroscópica (N;%)	27 (100)	0	24 (100)	25 (100)	26 (100)	21 (100)	17 (100)	35 (100)	46 (100)	168 (100)	81 (100)	29 (100)
	Doença microscópica (N;%)	0	27 (100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A – grupo de mastocitomas mensuráveis não excisáveis; B – grupo de tratamento adjuvante para controlo locoregional em cães com mastocitomas metastáticos ou de elevado grau (com ou sem doença microscópica); C – CCNU; GLR – gânglios linfáticos regionais; P – Paclitaxel Micelar; V1 - VBL 2,0 mg/m²; V2 - VBL 3,5 mg/m²

Quanto à prednisolona esta foi administrada diariamente durante 12 semanas (Davies *et al.*, 2004). Para os 52 cães do estudo com o protocolo alternado de lomustina, vinblastina e prednisolona, o número médio de tratamentos foi de 3 para a lomustina, ou seja cerca de 9 semanas de tratamento, e de 3 tratamentos para a vinblastina durante 9 semanas. Em 4 cães foi apenas administrado 1 tratamento de lomustina devido à rápida progressão de doença num animal, à morte noutra caso e à interrupção do tratamento por parte dos proprietários de 2 animais. A prednisolona foi administrada cerca de 4 vezes durante as 24 semanas, seguindo-se o seu desmame por mais 4 semanas (Rassnick *et al.*, 2010). Todos os animais do estudo receberam prednisolona diariamente durante 14 dias em combinação com clorambucilo cada 48h até 6 meses para animais com resposta completa e até à sua morte nos restantes animais (Taylor *et al.*, 2009).

Cerca de 30% dos animais (N=159) realizaram cirurgia antes da inclusão no estudo (Gráfico 5). Destes, apenas dois estudos reportaram informações sobre as características das margens cirúrgicas; 2,7% apresentavam margens limpas e 5,9% margens incompletas. 94,8% dos casos tinham doença mensurável (os estudos incluíram 61% dos participantes com tumores primários; 8% com recidivas locais; 7% dos participantes com tumores primários e metástases; 10% com tumores primários e recidivas e 9% com os três tipos) e apenas 5,1% tinham doença microscópica (Tabela 7). O número de animais que tinham realizado radioterapia previamente aos estudos foi de 13 (2,4%). Cerca de 28% dos animais realizaram previamente quimioterapia (N=150); 60 com prednisona, 35 com vinblastina, 34 com lomustina, 14 (2,6%) com clorambucilo e 7 (1,3%) com ciclofosfamida (Gráfico 5).

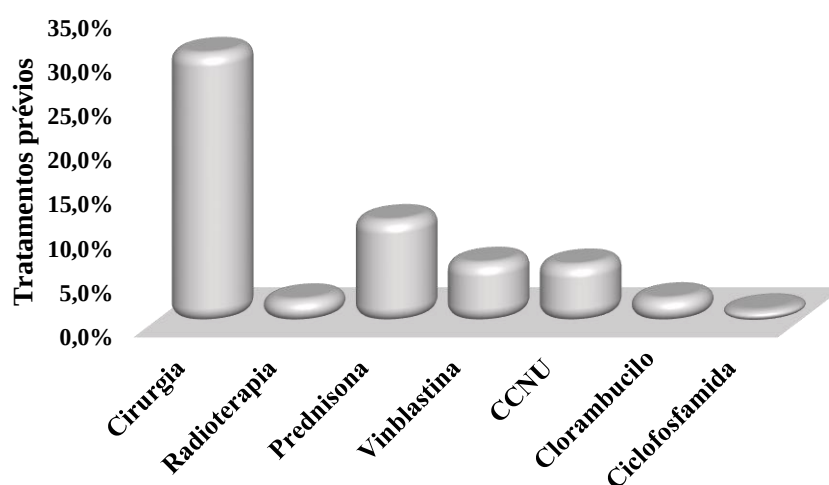


Gráfico 5 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “tratamentos prévios”.

Tabela 7 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “margens cirúrgicas” e número de estudos com doença mensurável/microscópica.

Margens cirúrgicas	Doença mensurável/microscópica
Margens incompletas n = 14	Doença mensurável n = 499
Margens limpas n = 31	Doença microscópica n = 27

Cerca de 314 doentes apresentavam múltiplos mastocitomas cutâneos e 212 tinham apenas um (Gráfico 6). A região onde mais frequentemente apareceram mastocitomas cutâneos foi nas extremidades (Gráfico 7).

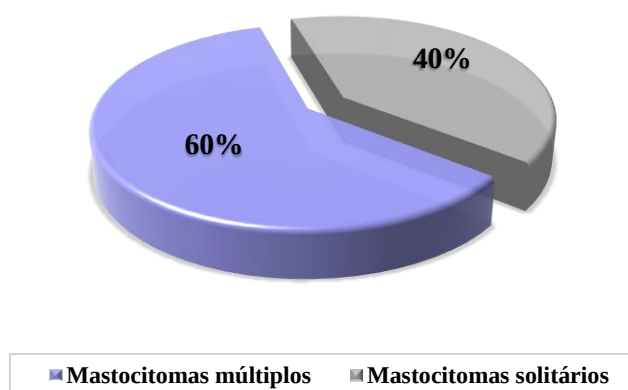


Gráfico 6 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “número de tumores”.

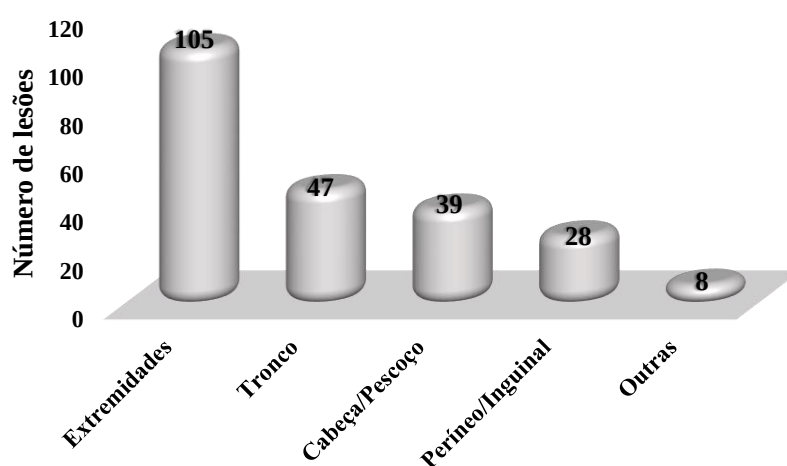


Gráfico 7 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “localização tumoral”.

Todos os estudos de quimioterapia realizaram as medições de tamanho e/ou volume tumoral antes do início do tratamento. Contudo, somente dois estudos reportaram os valores médios respectivos à medição do tamanho tumoral, verificando-se que este variou entre 39-65 mm (Tabela 6).

Relativamente ao volume tumoral, apenas quatro estudos descreveram os valores médios da sua medição, concluindo-se que este variou entre 23-61 cm³ (Tabela 6).

4.4.2 Estudos com inibidores de tirosinas-cinases

Os estudos com inibidores de tirosinas-cinases encontram-se caracterizados quanto aos participantes e às características das neoplasias nas tabelas 8 e 9.

Os participantes foram bem caracterizados em todos os estudos, ou seja, incluíram apenas cães com mastocitomas e os métodos de diagnóstico encontravam-se devidamente detalhados (Tabela 8). Do total dos 372 participantes, 161 foram tratados com masitinib, 104 com placebo, 86 com fosfato de toceranib e 21 com mesilato de imatinib.

A média dos valores disponíveis para a idade dos animais foi de 9,0 anos (intervalo de confiança de 95%; variou entre 8,3-9,8 anos; desvio-padrão amostral corrigido de 0,5). Considera-se que a idade mediana das amostras está na ordem dos 8,9 anos. O peso mediano das amostras é de 29,4 Kg.

No que diz respeito ao género, a proporção de fêmeas foi superior (Gráfico 8).

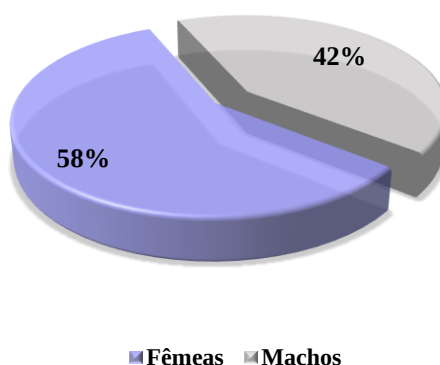


Gráfico 8 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “género”.

Tabela 8 - Inibidores de tirosinas-cinases: avaliação dos participantes.

		Hahn <i>et al.</i> , 2008		Isotani <i>et al.</i> , 2008	London <i>et al.</i> , 2009				Hahn <i>et al.</i> , 2010 (continuação)	
Avaliação dos participantes		B.C.		B.C.	B.C.				B.C.	
Qualidade das características de inclusão do estudo					FC		FCEA	FEA		
		M	PL		PA	PL	PA	PLE	M	PL
Número total de participantes		161	41	21	86	63	87	58	111	26
Estadiamento tumoral (N;%)	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	III	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grau histológico (N;%)	I	-	-	-	-	2 (3)	-	1 (2)	-	-
	II	138 (86)	35 (85)	7 (33)	69 (80)	41 (65)	70 (80)	38 (66)	97 (92)	24 (92)
	III	23 (14)	6 (15)	3 (14)	17 (20)	20 (32)	17 (20)	19 (33)	9 (8)	2 (8)
	Não determinado	-	-	11 (52)*	-	-	-	-	-	-
Número de participantes com mutação C-KIT (N; %)		40 (25)	10 (24)	5 (24)	20 (23)	9 (14)	20 (23)	9 (16)	31 (29)	7 (27)
Duração do tratamento com inibidores de tirosina- cinase (média)		10 S		1-2 S	6 S	3 S	8, 5 S		Até progressão	

B.C. – bem caracterizado; d – dias; FC- fase cega; FCEA – fase cega + fase de estudo aberto; FEA – fase de estudo aberto; M – Masitinib; M – meses; PA- Palladia; PL- Placebo; PLE – “Placebo-escape”; S – semanas; Estadiamento tumoral: Organização Mundial de Saúde - Owen, 1980.

Grau histológico: Patnaik *et al.*, 1984.

*Isotani *et al.*, 2008 – Estes animais realizaram apenas a citologia tumoral.

Tabela 9 - Inibidores de tirosina-cinase: Descrição da resenha, intervenções terapêuticas anteriores, localização e tamanho tumoral, estadiamento clínico e características microscópicas da amostra/estudo.

		Hahn <i>et al.</i> , 2008		Isotani <i>et al.</i> , 2008	London <i>et al.</i> , 2009		Hahn <i>et al.</i> , 2010 (continuação)			
		M	PL		FC		FCEA		M	PL
					PA	PL	PA	PLE		
Características dos participantes	Idade (média, anos)	8,5	8,7	10	8,9	9,3	-	-	-	-
	Gênero (F;M)	93;68	23;18	12;9	50;36	37;26	-	-	-	-
	Peso (média, kg)	≥3,3 ^{b1}		12	29,4	32	-	-	-	-
	Tratamentos prévios (N;%)	55 (34)	15 (37)	11 (52)	86 (100)	63 (100)	87 (100)	58 (100)	-	-
		39 (24) (sem diferenciação) ^{b2}	11 (27) (sem diferenciação) ^{b3}	(sem diferenciação) ^c	5 (6)	4 (6)	5 (6)	4 (7)	-	-
Características da neoplasia	Quimioterapia				39 (45)	27 (43)	40 (46)	23 (40)	-	-
	Outros	58 (36)	13 (32)	-	-	-	-	-	-	-
	Nº de tumores (N;%)			8 (38)	-	-	-	-	-	-
		-	-	13 (62)	-	-	-	-	-	-
	Localização (nº de lesões)									
	Extremidades	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tronco	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Períneo/Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cabeça/Pescoço	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Outras	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Volume (média, cm³)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tamanho (média, mm)	≥10 ^{b4}		72	≥ 20*				-	-
	Metástases nos GLR (N;%)	5 (3)	5 (12)	14 (67)	34 (40)	25 (40)	34 (39)	20 (34)	-	-
Doença macroscópica (N;%)	161 (100)	41 (100)	21 (100)	86 (100)	63 (100)	87 (100)	58 (100)	106 (100)	26 (100)	
Mutação C-KIT (N;%)	40 (25)	10 (24)	5 (24)	20 (23)	9 (14)	20 (23)	9 (16)	31 (29)	7 (27)	

FC- fase cega; FCEA – fase cega + fase de estudo aberto; GLR – gânglios linfáticos regionais; M - Masitinib; PA - Palladia; PL - Placebo; PLE - Placebo-escape; ^{b1} Hahn *et al.*, 2008- animais incluídos no estudo com peso $\geq 3,3$; ^{b2} e ^{b3} sem diferenciação do número de animais que realizaram radioterapia e quimioterapia; ^{b4} o estudo incluiu massas cutâneas com dimensões ≥ 10 mm; ^c Isotani *et al.*, 2008 – sem diferenciação do número de animais que realizaram cirurgia, radioterapia e quimioterapia; * London *et al.*, 2009- o estudo incluiu massas cutâneas com diâmetro tumoral ≥ 20 mm.

O estadiamento tumoral não foi descrito em nenhum estudo. O número de casos com metastização ganglionar foi de 22% (N=83), sendo que a metastização à distância não foi descrita (Tabela 9). Relativamente ao grau histológico, 1% dos mastocitomas eram de grau I, 78% de grau II, 19% de grau III e em 2% não foi determinado (Tabela 8). Cerca de 84 dos mastocitomas apresentavam mutação do C-KIT (Gráfico 9). A duração do tratamento foi também variável entre os estudos, estando descrita na tabela 8. Na fase cega do estudo, o tempo médio de duração do tratamento foi de 42 dias (6 semanas) para o grupo de fosfato de toceranib e cerca de 21 dias (3 semanas) para o grupo tratado com placebo. Na combinação da fase cega e de estudo aberto, o tempo médio de tratamento para os 145 animais foi de 68 dias (8 semanas e meia), sendo que estes receberam pelo menos um tratamento de fosfato de toceranib (London *et al.*, 2009). O tratamento com mesilato de imatinib terminou no 7º ou 14º dia em 15 cães devido aos custos do tratamento; os restantes 6 cães continuaram o tratamento com durante 21-63 dias (Isotani *et al.*, 2008). O tempo médio do tratamento com masitinib foi de 83 dias (cerca de 10 semanas), tendo sido administrado com o intuito de atingir os 6 meses de tratamento, excepto nos casos com progressão de doença (Hahn *et al.*, 2008). Dos 161 cães que receberam masitinib, 58 (36%) entraram no estudo seguinte e foram acompanhados por mais 18 meses (Hahn *et al.*, 2010).

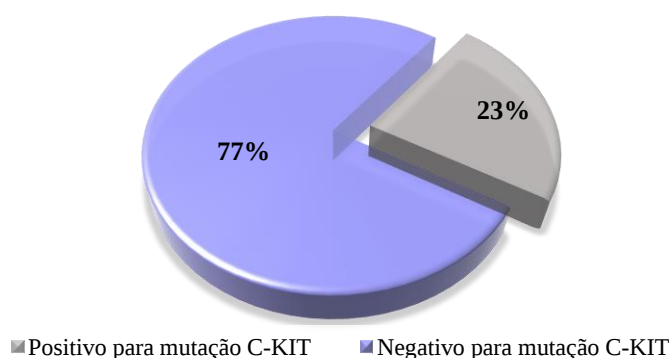


Gráfico 9 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “mutação C-KIT”.

219 animais realizaram cirurgia previamente (Gráfico 10). Todos os estudos incluíram apenas casos com doença mensurável. O número de animais que realizaram radioterapia previamente ao estudo foi de 9 (2,41%) e cerca de 66 receberam quimioterapia (Gráfico 10). Cerca de 11 animais (2,9%) realizaram os três tipos de tratamento previamente à sua inclusão nos estudos, ou seja, cirurgia, radioterapia e

quimioterapia; 50 dos animais realizaram radioterapia ou quimioterapia, sem discriminação da terapia usada em cada caso; e 71 cães sofreram outros tipos de tratamento (Gráfico 10).

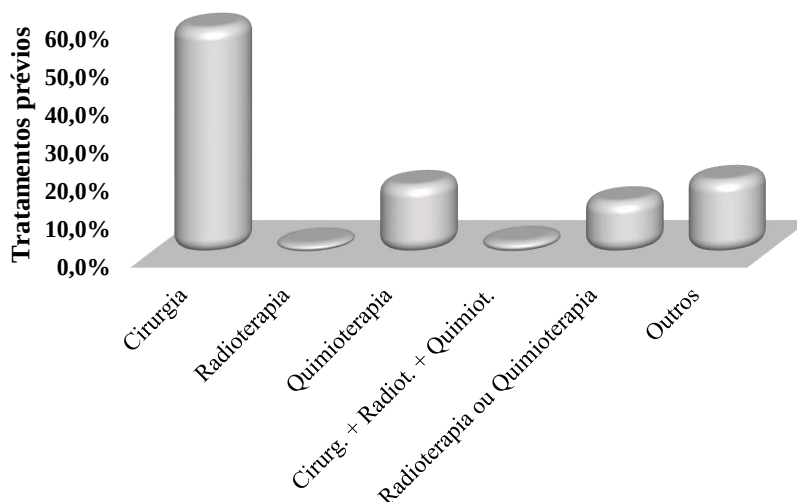


Gráfico 10 - Distribuição da amostra de acordo com a variável “tratamentos prévios”.

Apenas um estudo descreveu o número de mastocitomas, e a maioria dos doentes apresentava mastocitomas múltiplos (N=13) (Tabela 9). Todos os estudos de inibidores de tirosinas-cinases realizaram a medição do tamanho tumoral antes do início do tratamento. A média da medição do tamanho tumoral apresentou valores díspares entre estudos, variando entre 10-72 mm (Tabela 9). Nenhum estudo reportou dados relativamente à localização, volume tumoral e IM.

4.5 Avaliação dos resultados dos estudos em termos de resposta aos tratamentos

4.5.1 Resposta global

A TRG para o grupo da quimioterapia variou entre 1-64% (Tabela 10). Os doentes tratados com lomustina, vinblastina e prednisolona em simultâneo demonstraram a TRG mais elevada (Rassnick *et al.*, 2010). A quimioterapia com paclitaxel micelar permitiu alcançar uma resposta parcial ou completa em 59% dos doentes (Rivera *et al.*, 2013), porém, no estudo comparativo entre paclitaxel micelar e lomustina, a taxa que se registou foi de 7% e 1%, respectivamente (Vail *et al.*, 2012), sendo que neste, os animais do grupo do paclitaxel micelar foram 6,5 vezes mais propensos a alcançar uma resposta objectiva do que os do grupo da lomustina. Rassnick *et al.* (2008) comparou duas doses

diferentes de vinblastina tendo obtido uma TRG de 12% com a dose de 2,0 mg/m² e de 27% com a dose de 3,5 mg/m² (sendo que 19% tiveram tratamento prévio com prednisolona). A combinação de prednisolona e clorambucilo obteve uma TRG de 38% (Taylor *et al.*, 2009), enquanto que, as respostas globais com a administração de protocolos simples com hidroxiureia ou vinorelbina foram, respectivamente, 28% e 13% (Rassnick *et al.*, 2010a; Grant *et al.*, 2008). A menor TRG (7%) foi registrada com a administração de vincristina (McCaw *et al.*, 1997). Os estudos de Davies *et al.*, (2004) e de Hahn *et al.*, (2010) não descreveram as TRG.

Relativamente ao grupo dos inibidores de tirosinas-cinases, a TRG variou entre 16% e 48% (Tabela 11), alcançando o máximo com o uso de mesilato de imatinib (Isotani *et al.*, 2008). A terapia molecular com fosfato de toceranib versus placebo (fase cega) (London *et al.*, 2009) obteve uma TRG de 37% e 8%, respectivamente; quando todos os 145 cães que receberam fosfato de toceranib foram analisados (incluindo os “placebo-escape”) a taxa registrada foi de 43%. Os cães positivos para a mutação C-KIT foram aproximadamente duas vezes mais propensos a responder ao fosfato de toceranib do que os negativos (69% versus 37%, respectivamente) (London *et al.*, 2009). A menor TRG foi obtida no estudo com masitinib versus placebo (Hahn *et al.*, 2008), sendo que esta foi de 16% e 15%, respectivamente.

Tabela 10 - Quimioterapia: avaliação dos medidores de resposta.

	McCaw <i>et al.</i> , 1997	Davies <i>et al.</i> , 2004	Grant <i>et al.</i> , 2008	Rassnick <i>et al.</i> , 2008		Taylor <i>et al.</i> , 2009	Rassnick <i>et al.</i> , 2010	Rassnick <i>et al.</i> , 2010 ^a	Vail <i>et al.</i> , 2012		Rivera <i>et al.</i> , 2013
Medidores de resposta				V1	V2				P	C	
Taxa de resposta global	7%	-	13%	12%	27%	38%	A: 64%	28%	7%	1%	59%
Resposta completa (N; %)	0	14 (70) ^o	2 (8)*	0 ^b	1 (4) ^b	3 (14)	A: 5 (29) ^c	2 (4) ^d	2 (3)	0	17 (58) ^{e1} (sem diferenciação)
Resposta parcial (N; %)	2 (7)	-	1 (4)	3 (12) ^b	6 (23) ^b	5 (24)	A: 6 (35) ^c	11 (24) ^d	10 (17)	1 (6)	
Doença estável (N; %)	5 (19)	-	20 (83)	-	-	8 (38)	-	5 (11) ^d	27 (45)	7 (44)	9 (31)
Progressão de doença (N; %)	5 (19)	-	1 (4)	-	-	4 (19)	A: 5 (29)	28 (61)	21 (35)	8 (50)	3 (10) ^{e2} (sem diferenciação)
Duração de resposta (média em dias)	-	-	-	77 (RP)	63 (RC) 28 (RP)	533	141 (RC) 66 (RP)	60 (RC+RP) 46 (RP)	-	-	-
Recidiva (N; %)	-	2 (10)	-	-	-	-	A: 9 (53) B:15 (43)	9 (20)	-	-	-
Tempo de sobrevida global (média em dias)	-	-	-	-	-	143	A: 193	67	-	-	-
Intervalo livre de progressão (média em dias)	-	-	-	-	-	116	B: 489 Grau II: 954 Grau III: 190	-	-	-	247
Taxa de resposta biológica observada (%)	26	70	95	12	27	76	A: 65	39	23	10	90

A – grupo de mastocitomas mensuráveis não excisáveis; B – grupo de tratamento adjuvante para controlo locoregional em canídeos com mastocitomas metastáticos ou de elevado grau (com ou sem doença microscópica); C – CCNU; P – Paclitaxel Micelar; PD – progressão de doença; V1 - VBL 2,0 mg/m²; V2 - VBL 3,5 mg/m²; RC – resposta completa; RP – resposta parcial.

^o Davies *et al.*, 2004- Dos 20 animais avaliados após o seguimento de 12 meses, 70% foram considerados como livres do mastocitoma (resposta completa);

* Grant *et al.*, 2008- n =1 de RC e n = 1 RC microscópica com doença estável mensurável;

^b Rassnick *et al.*, 2008- em pelo menos 28 dias;

^c Rassnick *et al.*, 2010- em pelo menos 28 dias;

^d Rassnick *et al.*, 2010²- em pelo menos 28 dias;

^{e1} Rivera *et al.*, 2013- sem diferenciação entre RC e RP; ^{e2} - sem diferenciação entre PD ou perda de seguimento.

Tabela 11 - Inibidores de tirosina-cinase: avaliação dos medidores de resposta.

	Hahn <i>et al.</i> , 2008		Isotani <i>et al.</i> , 2008	London <i>et al.</i> , 2009		FCEA	Hahn <i>et al.</i> , 2010 (continuação)					
Medidores de resposta				FC								
Taxa de resposta global	M	PL		PA	PL	PA						
	16%	15%	48% 100% (5 casos de C-KIT)	37%	8%	43%						
				C-KIT+: 60% C-KIT - : 31%		C-KIT +: 69% C-KIT - : 37%						
Resposta completa (N; %)	18 (11)*	2 (5)*	10 (48) ^{a1} (sem diferenciação) 1(20) C-KIT e 11	7 (8)	0	21 (14)	NE	C-KIT	WT			
							12 M	24M	12M	24M	12M	24M
							15%	9%	33%	20%	10%	7%
Resposta parcial (N; %)	8 (5)*	4 (10)*	10 (48) ^{a1} 4 (80) C-KIT e 11	25 (29)	5 (8)	41 (28)	-	-	-	-	-	-
Doença estável (N; %)	-	-	11(52) ^{a2}	-	-	16 (12)	-	-	-	-	-	-
Progressão de doença (N; %)	-	-	(sem diferenciação)	30 (35)	42 (67)	-	-	-	-	-	-	-
Duração da resposta (média em dias)	-	-	-	-	-	96 (G. II > G. III)	-	-	-	-	-	-
Taxa de sobrevida (%)	-	-	-	-	-	-	M: 62 P:36	M: 40 P:15	M:63 P:14	M:30 P: 0	M:61 P:44	M:43 P: 17
Tempo de Sobrevida global (média, dias)	491	340	-	-	-	-	M: 617 P: 322		M: 533 P: 162		M: 779 P: 361	
	C-KIT: 417 WT: NR	C-KIT: 182 WT: NR										
Intervalo livre de progressão (média em dias)	118 1ªL.: 253 C-KIT: NR WT: 253	75 1ª.L: 75 C-KIT: 83 WT: 66	-	>48	24	144 (G. II > G. III) Sem diferença c/ C-KIT	M: 173 P: 75		M: 241 P: 83		M: 140 P: 75	
Taxa de resposta biológica observada (%)	16	15	-	-	-	60	-		-			

C-KIT- tumores não excisáveis com mutação C-KIT; C-KIT e 11 – mutação no exão 11; DE – doença estável; FC- fase cega; FCEA – fase cega + fase de estudo aberto; G. – grau; M - Masitinib; NE – tumores não excisáveis; NR – sem resposta; PA- Palladia; PD – progressão da doença; PL- Placebo; PLE - Placebo-escape; RC – resposta completa; RP – resposta parcial; WT – tumores não excisáveis com wild type C-KIT; 1ª.L – 1ª linha de tratamento; 6M – 6 meses; 12M- 12 meses; 24M – 24 meses; * Hahn *et al.*, 2008- % do tamanho da base do tumor: 100% x (medição da lesão actual) / (medição da lesão base); 0%: resposta completa; > 0 - ≤51% resposta parcial; 51-125% doença estável; restantes- doença progressiva.^{a1} Isotani *et al.*, 2008 – sem diferenciação entre RC e RP; ^{a2} Isotani *et al.*, 2008 - sem diferenciação entre DE e PD.

4.5.2 Avaliação das diferentes respostas aos tratamentos com quimioterapia

No estudo com vincristina (VINC), não se observou nenhum animal com resposta completa e apenas 7% dos doentes tiveram resposta parcial; verificou-se a mesma percentagem de animais com doença estável e progressão da doença (19%) (Gráfico 11). Cerca de 32% dos animais interromperam o tratamento devido à toxicidade ou ao agravamento da qualidade de vida (Tabela 12).

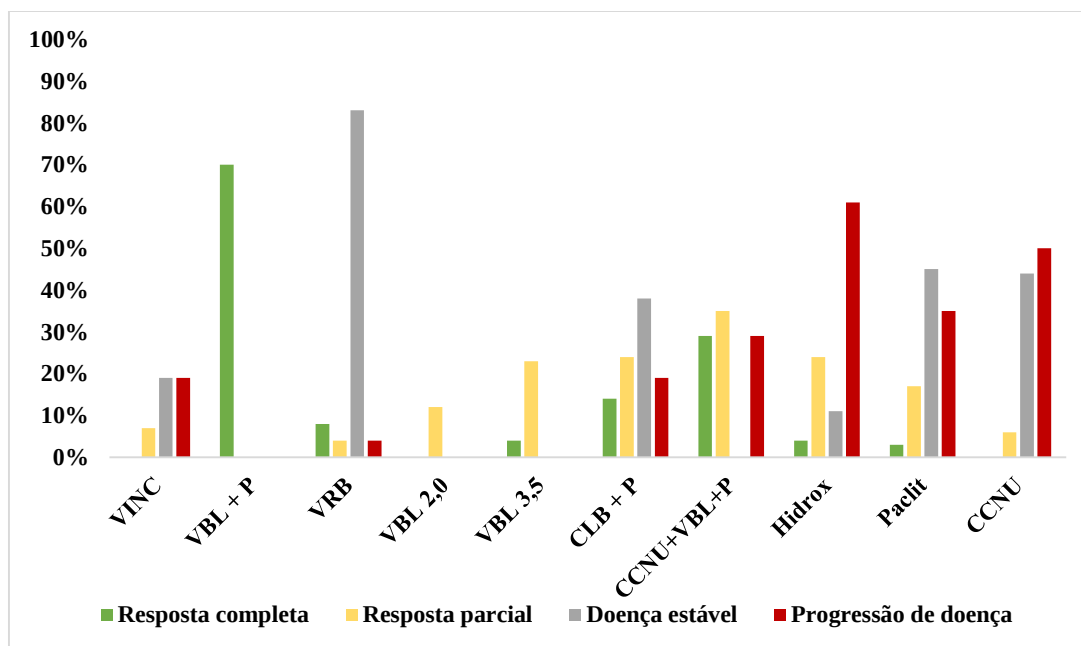


Gráfico 11 - Comparação das respostas aos diferentes protocolos de quimioterapia.

O estudo com vinblastina e prednisolona como tratamento adjuvante (VBL+P) avaliou apenas 20 animais, durante 12 meses de seguimento e destes 70% apresentaram resposta completa e foram considerados como livres de mastocitomas cutâneos (Gráfico 11; Tabela 10) e 33% dos pacientes descontinuaram o tratamento devido à toxicidade (Tabela 12).

Por outro lado, no estudo com vinblastina nas doses de 2,0 mg/m² (VBL 2,0) e de 3,5 mg/m² (VBL 3,5) a taxa de resposta parcial (TRP) foi de 12% e 23%, respectivamente; só se verificou um caso de resposta completa (4%) para o grupo VBL 3,5 (Gráfico 11; Tabela 10) sendo que a toxicidade foi apenas alta para este grupo de animais, cerca de 46% com grau 4 de neutropenia (Tabela 12). Os restantes animais do grupo VBL 2,0 (88%) e do grupo VBL 3,5 (73%) falharam na resposta ao tratamento com vinblastina

(i.e. animais que não responderam após o 2º tratamento ou que tiveram progressão da doença).

Em relação ao estudo com vinorelbina (VRB), destaca-se a maior taxa de doença estável (TDE) (83%) de todos os estudos de quimioterapia, e a baixa taxa de progressão da doença (4%). Salientando-se ainda que, foram igualmente reduzidas as taxas de resposta completa (TRC) (8%) e a TRP (4%). Esta última foi a TRP que registou o valor mais baixo de todos os estudos de quimioterapia (Gráfico 11; Tabela 10). Cerca de 54% dos animais tratados com VRB apresentaram neutropénia (17% de grau 1; 25% de grau 3 e 12% de grau 4) e 50% toxicidade gastrointestinal (42% de grau 1; 4% de grau 2 e 4% de grau 3) (Tabela 12).

Quanto ao estudo com clorambucilo e prednisolona (CLB+P) destaca-se a TDE de 38% e a TRP de 24%; verificou-se uma TRC de 14% e uma taxa de progressão de doença (TPD) de 19%. Neste estudo não se verificou qualquer toxicidade (Tabela 12).

Relativamente ao estudo com protocolo alternado de lomustina, vinblastina e prednisolona (CCNU+VBL+P) observa-se cerca de 35% de resposta parcial e 29% para a TRC, assim como para a TPD. 33% desenvolveram neutropénia de grau 4 após a administração da lomustina (2% com febre associada) e 29% após a vinblastina (8% com febre associada). Cerca de 1/4 dos animais desenvolveram toxicidade gastrointestinal associada à vinblastina (Tabela 12).

No estudo com hidroxiureia (Hidroxi) sobressaiu-se a maior TPD de todos os estudos de quimioterapia (61%) (Gráfico 11; Tabela 10). De salientar que, o estadiamento tumoral completo não foi um requisito de inclusão neste estudo, pelo que não se avaliou quanto à existência e/ou eventual progressão de lesões internas, podendo enviesar a avaliação dos resultados. O principal efeito adverso foi a mielosupressão (anemia moderada em 15% dos doentes) (Tabela 12).

Finalmente, no estudo com paclitaxel micelar (Paclit) e lomustina (CCNU), registaram-se TPD elevadas (35% e 50%, respectivamente) e TDE elevadas (45% e 44%, respectivamente). O grupo Paclit registou uma TRC reduzida (3%) e tanto este grupo como o grupo CCNU, obtiveram TRP baixas, cerca de 17% e 6%, respectivamente (Gráfico 11; Tabela 10). Quanto à toxicidade, o paclitaxel micelar induziu neutropenias de grau 3 e 4 em 73% dos animais (apenas 1% interrompeu o tratamento) e a lomustina em 86%. Por outro lado, 33% dos animais descontinuaram o tratamento com lomustina devido ao desenvolvimento de hepatopatia, enquanto que, apenas 2% descontinuaram o tratamento com paclitaxel micelar devido à hepatopatia (Tabela 12).

O estudo que utilizou apenas paclitaxel micelar não se encontra representado no gráfico 11, devido à falta de diferenciação entre os resultados para a taxa de resposta completa e parcial e de progressão de doença. O uso de paclitaxel micelar alcançou 58% para a TRC e TRP (sem diferenciação destes valores) (Tabela 10). Relativamente à TDE esta foi de 31%, e cerca de 10% dos animais tiveram progressão da doença ou foram considerados como perdas de seguimento (sem diferenciação destes valores). 66% dos animais experienciaram 40 efeitos adversos com este protocolo, em que a maioria foram classificados como ligeiros a moderados, sendo o efeito adverso severo mais comum a neutropénia (grau 3 em 23,7% dos doentes e grau 4 em 27,1%). Cerca de 45% dos cães descontinuaram o estudo e em 65% foi necessário reduzir a dose do paclitaxel micelar (Tabela 12).

Tabela 12 – Quimioterapia: efeitos adversos observados durante os estudos (com Apêndice V com graus de efeitos adversos).

			McCaw <i>et al.</i> , 1997	Davies <i>et al.</i> , 2004	Grant <i>et al.</i> , 2008	Rassnick <i>et al.</i> , 2008		Taylor <i>et al.</i> , 2009	Rassnick <i>et al.</i> , 2010		Rassnick <i>et al.</i> , 2010 ^a	Vail <i>et al.</i> , 2012		Rivera <i>et al.</i> , 2013
						V1	V2		C	V		P	C	
Nº total de casos			27	27	24	25	26	21	52	48	46	168	81	29
Interrupções (N;%)			9 (32)	9 (33)	1 (4)	1 (4)	2 (8)	0	13 (28)	4 (8)	2 (4)	15 (9)	11 (14)	13 (45)
Hematologia	Neutropenia	TG	-	22 (81)	13 (54)	7 (28)	22 (85)	0	37 (73)	35 (78)	8 (17)	138 (82)	156 (93)	28 (97)
	(N;%)	Grau 3/4	-	4 (15)	9 (38)	0	14 (54)	0	22 (43)	18 (40)	5 (11)	123 (73)	144 (86)	25 (87)
	Anemia	TG	-	0	0	0	0	0	0	0	7 (15)	13 (8)	5 (6)	8 (27)
	(N;%)	Grau 3/4	-	0	0	0	0	0	0	0	7 (15)	3 (2)	2 (2)	0
Hematologia	Trombocitopenia	TG	-	0	0	0	2 (8)	0	0	0	2 (4)	12 (7)	7 (9)	15 (52)
	(N;%)	Grau 3/4	-	0	0	0	0	0	0	0	2 (4)	0	2 (2)	0
Febre	TG	-	-	1 (4)	0	2 (8)	0	1 (2)	4 (8)	-	22 (13)	14 (17)	8 (28)	
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	0	0	0	0	-	-	3 (2)	6 (7)	1 (3)	
Perda de peso	TG	-	-	0	0	0	0	-	-	-	12 (7)	1 (1)	7 (24)	
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	0	0	0	-	-	-	0	0	1 (3)	
Letargia	TG	-	-	5 (21)	0	0	0	-	-	-	116 (69)	38 (47)	14 (49)	
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	5 (21)	0	0	-	-	-	12 (7)	4 (5)	7 (24)	
Sint. G.I.	Vômito	TG	9 (32)	8 (30)	6 (25)	2 (8)	9 (35)	0	0	11 (23)	0	133 (79)	42 (51)	25 (85)
	(N;%)	Grau 3/4		1 (4)	1 (4)			0	0		0	34 (20)	5 (6)	6 (20)
	Diarreia	TG	(global)*	2 (7)	3 (13)	(global) ^b	(global) ^b	0	0	(global) ^c	0	118 (70)	37 (46)	22 (75)
	(N;%)	Grau 3/4		2 (7)	1 (4)			0	0		0	15 (9)	3 (4)	3 (10)
Sint. G.I.	Anorexia	TG		0	5 (21)			0	0		0	128 (76)	39 (48)	25 (86)
	(N;%)	Grau 3/4		0	1 (4)			0	0		0	17 (10)	1 (1)	4 (18)
Sint. renal	Desidratação	TG	-	0	0	0	0	0	0	0	0	44 (26)	11 (14)	8 (28)
	(N;%)	Grau 3/4	-	0	0	0	0	0	0	0	0	17 (10)	6 (7)	3 (10)
Sint. hepática	TG	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0
S.Derm	Alopécia	TG	-	-	-	-	-	-	13 (28)	0	0	32 (19)	40 (49)	9 (31)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	-	-	-	0	8 (5)	27 (33)	1 (3)
	Dermatite	TG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	66 (39)	2 (2)	11 (38)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5 (3)	0	2 (7)
Outros	Edema	TG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40 (24)	5 (10)	0
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 (2)	0	0
Outros	Claudicação	TG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24 (14)	3 (4)	0
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 (2)	1 (1)	0
Morte associada a E.A. (N;%)			0	1 (4)	0	0	0	0	1 (2)	0	0	3 (2)	0	1 (3)

C– CCNU; E.A. –Efeitos adversos G.I.– Gastrointestinal; P – Paclitaxel Micelar; TG- Todos os graus; S. Derm – Sintomatologia dermatológica; Sint.– Sintomatologia; V- Vinblastina; V1 – Vinblastina 2,0 mg/m²; V2 – Vinblastina 3,5 mg/m²; ^aMcCaw *et al.*, 1997 – valores globais de sintomatologia G.I.; ^bRassnick *et al.*, 2008 – valores globais de sintomatologia G.I.; ^cRassnick *et al.*, 2010 – valores globais de sintomatologia G.I.

4.5.3 Avaliação das diferentes respostas aos tratamentos com inibidores de tirosinas-cinases

No estudo com masitinib e placebo (placebo 1) as TRC foram respectivamente 11% e 5%, enquanto que as TRP foram de 5% e 10% (Gráfico 12; Tabela 11). O masitinib foi bem tolerado pela maioria dos doentes, ocorrendo a interrupção do tratamento em 23% dos animais. A toxicidade gastrointestinal (vómitos e diarreia) foi o efeito adverso mais comum (Tabela 13), mas na maioria destes casos foi ligeira e auto-limitante. Alguns casos desenvolveram mielossupressão de baixo grau (9%) e uma pequena percentagem de animais desenvolveram edemas periféricos (6%) devido a glomerulopatia com perda de proteína. Foram também descritos casos de aumento de ureia e creatinina, bem como de anemia hemolítica (Tabela 13).

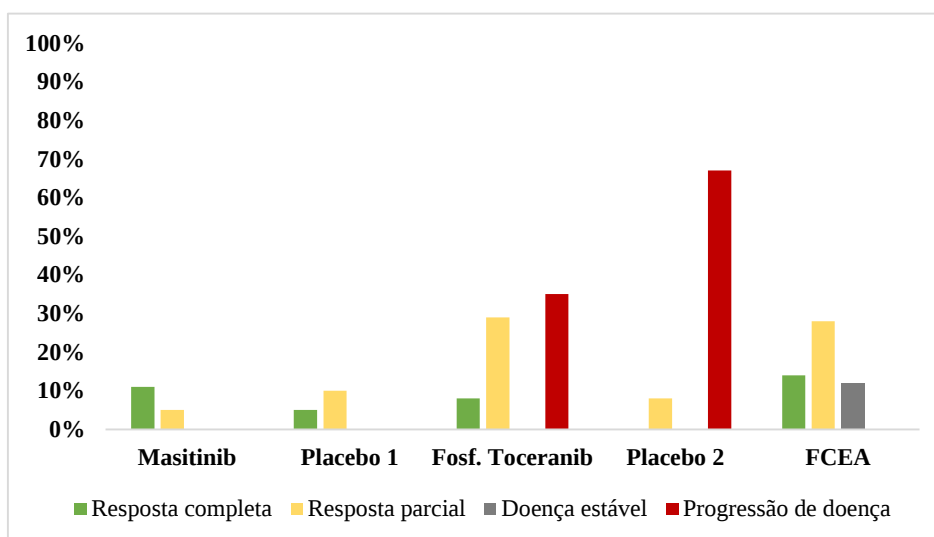


Gráfico 12 - Comparação das respostas aos diferentes inibidores de tirosinas-cinases

No estudo com fosfato de toceranib e placebo (placebo 2) observou-se uma TPD de 35% para o fosfato de toceranib comparativamente com os 67% do placebo. Por outro lado, registou-se uma maior TRP no fosfato de toceranib (29%) comparativamente com o placebo (8%) e apenas se observou 8% de resposta completa para o fosfato de toceranib. Durante a combinação da fase cega e de estudo aberto (FCEA), a TRC foi de 14% e a TRP de 28%; ainda nesta fase, observou-se 12% de animais com doença estável (Gráfico 12; Tabela 11). Apenas 1/5 dos animais tratados desenvolveram efeitos adversos de grau 3 ou 4, comparativamente com 16% do grupo placebo (Tabela 13).

Os restantes dois estudos deste grupo de tratamento não foram incluídos no gráfico 12, num dos casos, devido à falta de diferenciação dos resultados das diferentes taxas

(Isotani *et al.*, 2008) e noutro caso devido à natureza dos objectivos do estudo (estudo de continuidade que realizou seguimento dos mesmos animais por um período de 12 e 24 meses) (Hahn *et al.*, 2010).

O somatório das TRC e TRP foi de 48% com o uso de mesilato de imatinib (Tabela 11), em que 5% dos cães eram positivos para a mutação C-KIT. O somatório das TDE e TPD foi de 52%. Não foi registada qualquer toxicidade associada a este tratamento (Tabela 13). Finalmente, no estudo que avaliou a resposta ao masitinib aos 12 e 24 meses a TRC foi de 15% e 9%, respectivamente para animais com tumores não excisáveis; os animais positivos para a mutação C-KIT apresentaram maiores TRC comparativamente aos animais negativos (33% e 20% aos 12 e 24 meses, respectivamente versus 10% e 7%) (Tabela 11).

Tabela 13 - Inibidores de tirosina-cinase: efeitos adversos observados durante os estudos (com Apêndice V com graus de efeitos adversos).

			Hahn <i>et al.</i> , 2008		Isotani <i>et al.</i> , 2008		London <i>et al.</i> , 2009	
							FC	FCEA
			M	PL		PA	PL	PA+PLE
Nº. total de casos			161	41	21	83	63	145
Interrupções (N;%)			37 (23)	0	0	42 (48)	7 (11)	-
Hematologia	Neutropenia	TG	10 (6)	0	0	40 (46)	4 (6)	65 (45)
	(N;%)	Grau 3/4	0	0	0	0	0	2 (1)
	Anemia	TG	5 (3)	0	0	0	0	16 (11)
	(N;%)	Grau 3/4	3 (2)	0	0	0	0	4 (3)
	Anemia hemolítica	TG	4 (3)	0	0	0	0	0
	(N;%)	Grau 3/4	4 (3)	0	0	0	0	0
	Trombocitopenia	TG	0	0	0	21 (24)	13 (20)	41 (28)
	(N;%)	Grau 3/4	0	0	0	0	0	3 (2)
Perda de peso			-	-	0	13 (15)	2 (3)	31 (21)
(N;%)			-	-	0	1 (1)	0	4 (3)
Letargia			5 (3)	0	0	31 (36)	19 (30)	57 (39)
(N;%)			3 (2)	0	0	4 (5)	2 (3)	6 (4)
Sint. G.I.	Vômito	TG	74 (36)	11 (27)	1 (5)	28 (32)	21 (33)	69 (48)
	(N;%)	Grau 3/4	7 (4)	0	0	8 (9)	4 (6)	14 (10)
	Diarreia	TG	59 (37)	7 (17)	0	40 (46)	17 (27)	85 (59)
	(N;%)	Grau 3/4	3 (2)	0	0	6 (7)	2 (3)	12 (8)
	Anorexia	TG	10 (6)	0	0	34 (39)	20 (31)	72 (50)
	(N;%)	Grau 3/4	0	0	0	6 (7)	4 (6)	12 (8)
	Desidratação	TG	0	0	0	0	0	22 (15)
	(N;%)	Grau 3/4	0	0	0	0	0	3 (2)
Sint. renal			4 (3)	0	0	-	-	20 (14)
(N;%)			3 (2)	0	0	-	-	2 (1)
Sint. hepática			0	0	0	21 (24)	14 (22)	40 (28)
(N;%)			0	0	0	1 (1)	3 (5)	6 (4)
Sint. dermatológica	Alopécia	TG	26 (16)	2 (5)	-	-	-	0
	(N;%)	Grau 3/4	0	0	-	-	-	0
	Prurido	TG	-	-	-	-	-	18 (12)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	0
	Dermatite	TG	-	-	-	-	-	16 (11)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	0
	Pigmentação	TG	-	-	-	-	-	17 (12)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	-	-	0
Outros	Edema (periférico, periorbital)	TG	15 (9)	2 (5)	-	0	0	0
	(N;%)	Grau 3/4	4 (3)	1 (2)	-	0	0	0
	Claudicação	TG	-	-	-	15 (17)	6 (9)	33 (23)
	(N;%)	Grau 3/4	-	-	-	0	0	0
Morte associada E.A. (N;%)			3 (2)	0	0	0	0	0

E.A.–Efeitos adversos; FC – Fase cega; FCEA– Fase cega + fase de estudo aberto; G.I.– Gastrointestinal; M- Masitinib; PA- Palladia; PL- Placebo; PLE- Placebo-escape; Sint.- Sintomatologia; TG– Todos os graus.

4.5.4 Duração da resposta

As médias da duração da resposta para o grupo de quimioterapia variaram entre 28 e 533 dias (Tabela 10). A duração máxima de resposta foi alcançada com o protocolo de prednisolona e clorambucilo e foi de 533 dias. A quimioterapia com o protocolo de lomustina, vinblastina e prednisolona atingiu os 141 dias para animais com resposta completa e 66 dias para animais com resposta parcial. Nos animais tratados com hidroxiureia foi de 60 dias e com vinblastina de 77 dias (respostas parciais) para a dose mais alta e de 63 dias (respostas completas) e 28 dias (respostas parciais) para a mais baixa. Este parâmetro não foi relatado nos restantes estudos de quimioterapia.

Nos ensaios clínicos com inibidores de tirosinas-kinases, a média da duração da resposta ao tratamento foi apenas relatada para o estudo com fosfato de toceranib, sendo de 96 dias (combinação da fase cega e de estudo aberto). Neste estudo, os animais com mastocitomas de grau II obtiveram maior duração de resposta do que os com grau III (Tabela 11).

4.5.5 Recidivas

As taxas de recidiva mais altas registaram-se no estudo com o protocolo de lomustina, vinblastina e prednisolona, e variaram entre os 43%-53% (Tabela 10). A quimioterapia adjuvante com vinblastina e prednisolona, registou uma taxa de recidiva global de 10% (esta taxa foi de 7% para o grupo com excisão incompleta (N=15) e de 20% para o grupo com margens limpas (N=5)) 20% do total dos animais desenvolveram novas lesões tumorais. A menor taxa de recidiva foi com a hidroxiureia (20%). Estas não foram descritas nos restantes estudos de quimioterapia nem nos de inibidores de tirosinas-kinases.

4.5.6 Tempo de sobrevida global

O tempo de sobrevida global (TSG) (média) para o grupo de quimioterapia variou entre 67 e 193 dias (Tabela 10), sendo o máximo registado no estudo com lomustina, vinblastina e prednisolona. Animais tratados com prednisolona e clorambucilo sobreviveram em média 143 dias e os que fizeram hidroxiureia 67 dias. Este parâmetro não foi descrito nos restantes estudos.

Relativamente aos inibidores de tirosinas-kinases, o TSG foi apenas descrito

nos dois estudos com masitinib e variou entre 113 dias e 779 dias (Tabela 11). No estudo de masitinib versus placebo, foi de 491 dias e 340 dias, respectivamente; os animais com mutação do C-KIT sobreviveram 417 dias (182 dias no grupo placebo) e para os animais com “*wild type*” C-KIT este resultado não foi reportado. Não se registaram diferenças significativas entre a utilização de masitinib como primeira ou segunda linha de tratamento. No estudo de continuidade com o masitinib, este período foi de 617 dias (grupo masitinib) e 322 dias (grupo placebo) em animais com tumores não excisáveis; 533 dias (grupo masitinib) e 162 dias (grupo placebo) em animais com mutação C-KIT e finalmente, 779 dias (grupo masitinib) e 361 dias (grupo placebo) em animais com “*wild type*” C-KIT.

4.5.7 Taxa de sobrevida

A taxa de sobrevida foi apenas descrita no estudo de continuidade com masitinib versus placebo (Tabela 11). A taxa para animais com tumores não excisáveis no grupo tratado foi de 62% aos 12 meses e de 40% aos 24 meses; no grupo placebo, foi de 36% aos 12 meses e de 15% aos 24 meses. A taxa para animais com mutação C-KIT tratados com masitinib foi de 63% e 30% aos 12 e 24 meses, respectivamente; no grupo placebo com foi de 14% aos 12 meses e 0% aos 24 meses. A taxa de sobrevida para animais com “*wild type*” C-KIT foi de: 61% (grupo masitinib) e 44% (grupo placebo) aos 12 meses; e de 43% (grupo masitinib) e 17% (grupo placebo) aos 24 meses (Tabela 11).

4.5.8 Intervalo livre de progressão

O intervalo livre de progressão (ILP) médio atingiu um período máximo de 489 dias para o protocolo com lomustina, vinblastina e prednisolona, sendo que os animais que apresentavam mastocitomas de grau II atingiram um máximo de 954 dias, enquanto que os com grau III atingiram um período máximo de apenas 190 dias (Tabela 10). O paclitaxel micelar apresentou um ILP de 247 dias e o protocolo com clorambucilo com prednisolona de 116 dias (Tabela 10). Os restantes estudos não reportaram este intervalo.

Quanto aos ensaios clínicos com inibidores de tirosinas-cinases, no estudo

com masitinib versus placebo, este intervalo foi de 118 e 75 dias, respectivamente (Tabela 11); a utilização do masitinib como primeira linha de tratamento permitiu alcançar um período de 253 dias e de 75 dias para o grupo placebo; os animais do grupo de placebo positivos para a mutação C-KIT obtiveram um intervalo de 83 dias, enquanto que para o grupo de masitinib não foram reportados resultados. Por outro lado, os animais tratados com masitinib “*wild type*” registaram um intervalo de 253 dias e os do grupo placebo “*wild type*” atingiram apenas os 66 dias livres de progressão da doença (Tabela 11). No estudo de continuidade, o ILP médio atingiu um período máximo de 173 dias para o masitinib e o grupo de placebo atingiu um período de 75 dias (Tabela 11); deve-se salientar que se registaram diferenças significativas nos animais que apresentavam mutação C-KIT, ou seja 241 dias para o grupo masitinib e 83 dias para o grupo placebo; enquanto que, os animais “*wild-type*” do grupo masitinib atingiram apenas 140 dias sem progressão de doença e 75 dias para o grupo de placebo (Tabela 11). Durante a fase cega do estudo, o fosfato de toceranib registou um intervalo superior a 48 dias, enquanto que o grupo placebo atingiu apenas os 24 dias; na combinação da fase cega e de estudo aberto, registou-se um intervalo de 144 dias sendo que os animais com grau II apresentaram maiores períodos do que os de grau III (Tabela 11).

4.5.9 Taxa de resposta biológica observada

A taxa de resposta biológica máxima de 95% foi observada com a vinorelbina (Tabela 10). O paclitaxel micelar registou uma taxa de 90%, o clorambucilo de 76%; vinblastina e prednisolona de 70%; o protocolo alternado de lomustina, vinblastina e prednisolona de 65%; hidroxiureia de 39% e vincristina de 26%. No estudo com paclitaxel micelar em comparação com a lomustina a taxa obtida foi de 23% e 10%, respectivamente. E por fim, no estudo que utilizou duas dosagens diferentes de vinblastina, a taxa obtida para a dose de 2,0 mg/m² foi de 12% e para a dose de 3,5 mg/m² a taxa obtida foi 27% (Tabela 10).

Nos inibidores de tirosinas-kinases a taxa máxima, que foi de 60%, foi atingida pelo fosfato de toceranib (Tabela 11). Para o estudo com masitinib e placebo as taxas de resposta global registadas foram de 16% e 15%, respectivamente (Tabela 11); nos restantes estudos não se descreveram os resultados relativos a esta taxa. Num dos casos (Isotani *et al.*, 2008) não foi possível determinar esta taxa devido à falta de diferenciação de determinados valores (TRC e TRP; TDE e TPD) e no outro estudo (Hahn *et al.*, 2010)

não fazia parte dos objectivos, visto ser um estudo com cariz de seguimento de casos a longo-prazo.

4.6 Análise estatística de comparação dos resultados entre protocolos terapêuticos

4.6.1 Comparação da eficácia do tratamento com quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases

Analizou-se se a eficácia do tratamento com quimioterapia, em termos de resposta completa e parcial, seria igual à eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-cinases. A taxa de eficácia do grupo de quimioterapia foi de 18,5% e a taxa correspondente ao grupo de inibidores de tirosinas-cinases foi de 21,2%, concluindo-se que a diferença observada entre estes grupos terapêuticos não foi estatisticamente significativa (p -value = 0,419).

4.6.2 Comparação da eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-cinases versus placebo

Relativamente ao grupo tratado com inibidores de tirosinas-cinases, procurou-se analisar se a sua resposta seria igual à do grupo-controlo (placebo).

A taxa de eficácia (% de respostas completas e de respostas parciais) para o masitinib foi de 16,1% e a do placebo de 14,6%, concluindo-se que não existiram diferenças significativas na resposta objectiva ao tratamento com masitinib ou placebo (p -value = 0.839). A taxa de eficácia para o fosfato de toceranib foi significativamente superior (37,2%) à do placebo (7,9%) (p -value = 0,001).

4.6.3 Comparação entre a taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos nos dois grupos de tratamentos (quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases)

A taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos para o grupo de quimioterapia foi de 19,2%, enquanto que para o grupo de inibidores de tirosinas-cinases foi de 22,8%, não sendo significativamente diferente (p -value = 0,283).

4.6.4 Relação entre as taxas de interrupções associadas aos efeitos adversos e a resposta ao tratamento para o grupo de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases

Procurou-se saber se a presença de interrupções associadas aos efeitos adversos dos dois grupos terapêuticos teria influência na resposta ao tratamento. Contudo, não se observou uma associação estatisticamente significativa entre a presença de interrupções associadas aos efeitos adversos resultantes da quimioterapia (p -value = 0,274) ou dos inibidores de tirosinas-cinases (p -value = 0,774) e a resposta ao tratamento.

4.6.5 Heterogeneidade das respostas ao tratamento do grupo de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases: Análise Q de Cochran

Este teste estatístico foi utilizado para avaliar a heterogeneidade entre as respostas ao tratamento para os diferentes estudos de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases.

Quimioterapia

As respostas aos diferentes protocolos de quimioterapia não apresentaram uma heterogeneidade muito significativa ($p = 0,057$). Neste caso, a amostra é de tamanho reduzido pelo que a análise Q de Cochran tem um potencial baixo para mostrar potenciais diferenças nas respostas. Assim, analisou-se o I^2 que assumiu um valor de 44,1%, o que significa que as respostas aos diferentes protocolos são de facto apenas moderadamente heterogêneas entre si (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise Q de Cochran e I^2 (grupo de quimioterapia).

Análise Q de Cochran				
N	Q de Cochran	Graus de liberdade	p -value	I^2 (%)
4	17,907	10	0,057	44,1

N – Número de variáveis

Inibidores de tirosinas-cinases

As respostas ao tratamento com os diferentes inibidores de tirosinas-cinases não foram significativamente heterogêneas (p -value = 0,334). O valor de I^2 foi de 12,5%, o que reforçou o resultado do teste de Q de Cochran, permitindo concluir que os doentes tratados com os diferentes inibidores de tirosinas-cinases não experienciaram respostas significativamente diferentes (Tabela 15).

Tabela 15 - Análise Q de Cochran e I^2 (grupo de inibidores de tirosinas-cinases).

Análise Q de Cochran				
N	Q de Cochran	Graus de liberdade	p -value	I^2 (%)
4	4,571	4	0,334	12,5

N – Número de variáveis

5. Discussão

Neste estudo, foram revistos sistematicamente 9 estudos de quimioterapia e 4 estudos de inibidores de tirosinas-kinases que foram avaliados quanto à eficácia dos diferentes protocolos para o tratamento de mastocitomas caninos de grau II e III, não excisáveis ou recorrentes.

Quatro dos 13 estudos são ECRC que englobaram no total 600 participantes. Três ECRC eram duplamente cegos (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Vail *et al.*, 2012). A geração da sequência de alocação assim como a ocultação da alocação foram consideradas adequadas para os quatro ECRC (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Hahn *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2012), permitindo concluir que é improvável que o viés de selecção tenha ocorrido nestes estudos. Os doentes dos restantes nove estudos não foram randomizados pelo que poderá ter ocorrido um viés de selecção. A ocultação dos resultados aos avaliadores não foi aplicada num dos quatro ECRC (Hahn *et al.*, 2010), assim como, não foi aplicada nos restantes nove estudos prospectivos (McCaw *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 2004; Grant *et al.*, 2008; Isotani *et al.*, 2008; Rassnick *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2009; Rassnick *et al.*, 2010; Rassnick *et al.*, 2010^a; Rivera *et al.*, 2013). Deste modo, a avaliação dos resultados pode ter sido influenciada pelo viés de detecção. Apenas houve dois estudos (Isotani *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2012) em que se encontrou evidências de viés de performance (i.e. nenhum doente foi tratado com outros fármacos simultaneamente).

O viés de atrito pode ser causado devido aos desvios dos protocolos e/ou por perdas de seguimento (Jüni *et al.*, 2001). A transgressão dos critérios de elegibilidade e a não aderência ao tratamento são possíveis causas de desvios dos protocolos. Na maioria dos estudos avaliados o viés de atrito esteve presente visto que, ocorreram desvios dos protocolos em cerca de oito dos nove estudos de quimioterapia e em três dos quatro estudos de inibidores de tirosinas-kinases. Para reduzir o viés de atrito originado pela forte perda de seguimento, são aplicados esquemas de análise de ITT (Guyatt *et al.*, 2002). Somente os quatro ECRC analisados nesta revisão (Hahn *et al.*, 2008; London *et al.*, 2009; Hahn *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2012) incluíram uma análise de ITT, pelo que o atrito dos participantes incluídos nos restantes estudos foi considerado elevado, concluindo que este parâmetro provavelmente foi causa de viés nesta revisão.

Em suma, a validade interna desta revisão é afectada pelo modelo não randomizado da maioria dos estudos incluídos (9 em 13 estudos), pelo viés de selecção

em 9 estudos (33% do número total de participantes), pelo possível viés de detecção em 10 (48% do número total de participantes) e ainda pela alta taxa de viés de atrito em 11 estudos com desvios de protocolo (83% do número total de participantes) e 9 estudos sem inclusão de análise de ITT (59% do número total de participantes). Desta forma, as inferências clínicas realizadas a partir dos resultados desta RS devem ser interpretadas tendo em consideração estas possíveis fontes de enviesamento dos dados.

Quanto à validade externa esta refere-se à generalização dos resultados obtidos de uma população do estudo (Trevejo, 2007). Ou seja, a validade externa questiona se os resultados podem ser aplicados a uma população semelhante à que foi estudada. Os estudos incluídos foram realizados entre 1997 e 2013, e todos limitaram a selecção de participantes apenas a caninos com mastocitomas devidamente diagnosticados. Cerca de 45% do número total de participantes foram caracterizados quanto ao estadiamento tumoral. A maioria dos estudos determinou o grau histológico e só apenas 2% dos casos foram diagnosticados através de citologia não se conhecendo este parâmetro. A avaliação das respostas aos diferentes protocolos terapêuticos seguiram adequadamente os critérios de avaliação para tumores sólidos (RECIST) descritos por Therasse *et al.*, 2000. Deste modo, verificou-se que os estudos caracterizavam adequadamente os participantes, os parâmetros da doença e os medidores de resposta ao tratamento permitindo a extrapolação dos dados obtidos nesta revisão sistemática para o tratamento da população de caninos com mastocitomas de grau II e III, recorrentes ou incompletamente excisados com doença macroscópica, com ou sem metástases.

Quanto à duração dos tratamentos, é importar salientar que a maioria dos estudos tiveram uma duração relativamente curta; apenas quatro estudos tiveram duração de 3 meses ou mais. Em todos os estudos avaliados houve seguimento dos animais, contudo a duração destes seguimentos, foi bastante variável (mínimo de 1 semana e máximo de 24 semanas), o que dificulta extrair conclusões sobre a eficácia a longo prazo de alguns tratamentos.

O objectivo principal desta RS foi avaliar o grau de evidência científica da eficácia de cada protocolo de quimioterapia proposto na literatura. Assim, as conclusões deste trabalho quanto ao(s) tratamento(s) do mastocitoma cutâneo canino (grau II e III) serão propostas tendo em conta os resultados da análise minuciosa da evidência da sua eficácia e do prejuízo das intervenções reportadas. Quanto à evidência de eficácia da quimioterapia, os estudos que alcançaram a maior taxa de eficácia foram os que incluíram os seguintes protocolos: lomustina, vinblastina e prednisolona; vinblastina com

prednisolona (como tratamento adjuvante) e paclitaxel micelar. Todos estes estudos foram considerados com um nível de evidência científica 2B de acordo com a classificação “*Oxford Centre for Evidence-Based Medicine*” (Ball *et al.*, 2009) (apêndice IV), e portanto os benefícios obtidos com esses protocolos superaram os potenciais riscos associados.

O estudo aberto, com a combinação de lomustina, vinblastina e prednisolona (protocolo descrito por Rassnick *et al.*, 2010), apresentou 64% de resposta global, sendo que os caninos com mastocitomas não excisáveis apresentaram em 29% dos casos resposta completa durante 141 dias (média) e em 35% resposta parcial por 66 dias (média). A média do ILP foi de 16 meses, mas animais com mastocitomas de grau III e/ou metástases apresentaram um ILP mais curto (6 meses). Para 17 cães com grau III, a média do ILP foi de 6 meses comparado com os 32 meses dos 18 cães com grau II metastático. Assim, com base nestes resultados, a utilização deste protocolo após a ressecção de mastocitomas de grau III, parece não aumentar o ILP comparativamente com os animais que realizaram apenas cirurgia (ILP de 9 meses). Além disso, a toxicidade deste protocolo multimodal foi significativa em cerca de 1/3 dos doentes, pois desenvolveram hepatotoxicidade e neutropénia severas.

O protocolo com vinblastina e prednisolona como tratamento adjuvante empregado num estudo prospectivo (Davies *et al.*, 2004) revelou uma eficácia clínica elevada devido à taxa de resposta completa de 70% após 12 meses, contudo todos estes animais estavam em estadio 0. Somente 10% dos animais desenvolveram recidiva local e 15% novas lesões cutâneas. O tempo de sobrevida global e o ILD não foram determinados. Este protocolo demonstrou eficácia no controlo de recidivas locais e de metastização quando utilizado após a cirurgia para o tratamento de mastocitomas incompletamente excisados de grau II e III. Este protocolo foi bem tolerado na maioria dos doentes (toxicidades maioritariamente de baixo grau e em apenas 13% das doses) e apresentou elevada eficácia para animais com estadio 0 de doença. Deve-se ainda salientar que, o estudo retrospectivo de Thamm *et al.*, 2006 avaliou o mesmo protocolo adjuvante em mastocitomas com elevado risco de metastização, após cirurgia ou radioterapia. Este estudo reportou um elevado tempo médio de sobrevida para tumores de grau III (46 meses) assim como, um elevado ILP (44 meses) para animais com mastocitomas de grau II e III.

O protocolo com paclitaxel micelar do estudo prospectivo aberto e multicêntrico (Rivera *et al.*, 2013) apresentou igualmente uma elevada taxa de resposta global (59% para a melhor resposta e aproximadamente 30% para a taxa de resposta global a longo-prazo), sendo que o ILP foi de 247 dias (média) em animais com mastocitomas cutâneos de grau II e III, recorrentes ou não extirpáveis. Se se incluir também a taxa de doença estável, a resposta biológica (relativamente à melhor resposta) seria de 90%, o que significa que apenas 10% dos animais teve recidivas antes do período de avaliação. Os efeitos adversos foram transitórios e frequentemente subclínicos, contudo de elevado grau; 87% dos casos desenvolveu neutropénia severa, 24% letargia e 20% vômito de grau 3 e 4. Não foram reportadas quaisquer reacções de hipersensibilidade. 45% dos cães descontinuaram o estudo, incluindo 1 que morreu (por coagulação intravascular disseminada devido a sépsis) e 9 que foram eutanasiados devido a progressão da doença ou por opção do proprietário. Em 65% dos casos foi necessário reduzir a dose em 10 mg/m² em relação à dose inicial de 150 mg/m². Apesar da elevada taxa de eficácia deste protocolo, este apresenta toxicidades de elevado grau, assim como, elevadas taxas de casos de redução da dose de paclitaxel micelar e de descontinuidade do tratamento.

O único estudo de quimioterapia com evidência científica de nível 1B e grau A de recomendação foi o ECRCC de Vail *et al.* (2012). As taxas de resposta biológica observada (RBO) e de resposta global confirmada (RGC) foram superiores para o paclitaxel micelar (23% e 7%, respectivamente) em comparação com a lomustina. A taxa RBO da lomustina (10%) foi inferior à dos estudos anteriores. Os canídeos tratados com paclitaxel micelar foram 6,5 vezes mais propensos a obter uma RGC e 3,1 vezes mais propensos de experienciar uma RBO do que com a lomustina. No entanto, a avaliação da resposta ao paclitaxel micelar foi às 14 semanas enquanto que no caso da lomustina foi às 6 semanas. Contudo, a taxa de resposta global deste estudo apresentou valores diferentes comparativamente com o estudo anteriormente descrito, o que provavelmente se deve à ausência de avaliação objectiva das respostas de acordo com os critérios RECIST, após o último ciclo de tratamento. A maioria dos efeitos adversos associados ao paclitaxel micelar foram transitórios e reversíveis, mas de elevado grau (73% dos doentes desenvolveram neutropénias de grau 3 e 4, 4% acompanhados de febre; 1% interrompeu o tratamento; 2% morreram ou foram eutanasiados). O paclitaxel micelar apresentou toxicidades de elevado grau que conduziram a uma elevada percentagem de casos que necessitaram de reduzir a dose, o que pode comprometer a eficácia do tratamento. Quanto à lomustina cerca de 1/3 dos doentes descontinuaram o tratamento devido à

hepatotoxicidade que conduziu a uma população significativa de animais incapazes de continuar a avaliação da resposta ao tratamento às 14 semanas.

O estudo prospectivo e aberto com duas doses distintas de vinblastina (Rassnick *et al.*, 2008) apresentou igualmente evidência científica de nível 2B. A dose de vinblastina de 3,5 mg/m² demonstrou maior eficácia clínica (27% de resposta global; 4% de resposta completa e 23% de resposta parcial) do que a dose de 2,0 mg/m² (12% de resposta global, sendo relativa apenas a respostas parciais), contudo a duração de resposta para a dose mais alta foi inferior (média de 63 dias para as respostas completas e 28 dias para as respostas parciais versus média de 77 dias para as respostas parciais da dose mais baixa).

Apesar de terem ocorrido numericamente mais respostas do grupo com a dose superior, este estudo não se encontra adequadamente desenhado para realizar comparações estatísticas entre estes dois grupos e consequentemente, originar conclusões definitivas a respeito de uma possível relação entre a dose e o efeito do tratamento. No entanto, permitiu concluir que a utilização de um agente único de quimioterapia (vinblastina) tem uma taxa de resposta global inferior à do protocolo combinado (vinblastina + prednisolona), podendo este facto ser justificado através de vantagens (i.e. sinergia e a aditividade) que os protocolos combinados apresentam comparativamente com os protocolos de um só agente quimioterápico. Outra possível hipótese que justifica a baixa resposta deste protocolo de agente único traduz-se na possível resistência ao tratamento com vinblastina em animais que realizaram tratamento prévio com corticosteróides. Tanto a toxicidade hematológica (46% com neutropenias severas de grau 4) como a gastrointestinal (35% dos animais, mas nenhum com grau severo) foram superiores às do protocolo com a dose mais baixa. Apesar da alta incidência de mielosupressão, apenas 2 animais (8%) do grupo da dose superior, necessitaram de hospitalização; esta baixa percentagem de hospitalização pode estar relacionada com administração profilática de antibióticos aplicados a este grupo de animais.

O estudo prospectivo que utilizou o clorambucilo e a prednisolona (Taylor *et al.*, 2009) apresentou uma evidência científica de nível 2B e grau B de recomendação. Este protocolo obteve uma eficácia clínica de 38% (taxa de resposta global) em mastocitomas não excisáveis sendo que, a duração de resposta foi de 533 dias (média), o ILP de 116 dias (média) e o tempo de sobrevivência global de 143 dias (média). Possivelmente estes valores foram obtidos devido à duração do tratamento, em que animais com resposta completa só o descontinuaram após 6 meses; os restantes continuaram o tratamento até à sua morte. Deste modo, embora este protocolo tenha taxa de resposta global e ILP

inferiores aos anteriores, a duração das respostas é consideravelmente longa e a toxicidade quase inexistente, pelo que pode ser uma boa alternativa em mastocitomas não excisáveis de grau II e III, sobretudo para os proprietários que privilegiam um protocolo de administração por via oral ou de reduzida toxicidade.

O estudo aberto, multicêntrico com hidroxiureia (Rassnick *et al.*, 2010a) apresentou igual evidência científica, contudo as percentagens de resposta global (28%) bem como a sua duração (60 dias) foram inferiores às registadas com o clorambucilo. O principal efeito adverso associado à sua administração foi a mielosupressão. Os animais desenvolveram anemia moderada a severa mais frequentemente do que outras citopénias e os cães que apresentavam anemia antes da administração de hidroxiureia foram mais propensos a experienciar anemias clinicamente relevantes (grau 2 a 4) durante o tratamento. Estes animais receberam tratamento prévio com múltiplos agentes quimioterápicos, factor que poderá ter influenciado o surgimento de mielosupressão. Apenas 7% dos cães necessitaram de reduzir a dose de hidroxiureia devido aos efeitos adversos.

Os estudos prospectivos com vinorelbina (Grant *et al.*, 2008) e com vincristina (McCaw *et al.*, 1997) apresentaram igualmente evidência científica de nível 2B, mas apresentaram baixa eficácia clínica (13% e 7% de resposta global, respectivamente) e uma alta prevalência de toxicidade. Salienta-se que o tratamento com vinorelbina foi administrado apenas uma vez e a consequente resposta foi igualmente avaliada apenas uma vez (7 dias após o tratamento). Para além deste facto, existe uma outra limitação no estudo com vinorelbina, dado que o grau histopatológico não foi avaliado para a totalidade dos animais, pelo que não é possível determinar o impacto desta variável na resposta ao tratamento. A vinorelbina causou neutropénia em 54% de casos, toxicidade gastrointestinal em 50% e um animal necessitou de hospitalização. A vincristina foi descontinuada em 32% dos animais devido a sintomatologia gastrointestinal. Perante a reduzida eficácia combinada com níveis de toxicidade consideráveis, nenhum destes citotóxicos deve ser recomendado como primeira linha de tratamento quimioterápico para o mastocitoma cutâneo canino.

Em suma, as taxas de resposta biológica globais foram significativamente elevadas nos protocolos que empregaram os seguintes agentes quimioterápicos: vinorelbina, paclitaxel micelar, clorambucilo com prednisolona, vinblastina com prednisolona (tratamento adjuvante) e a combinação alternada de lomustina, vinblastina e prednisolona. Quanto à severidade dos efeitos adversos, em termos globais, cerca de

metade dos estudos apresentou toxicidades de grau moderado a elevado, com excepção dos protocolos combinados de clorambucilo e prednisolona e adjuvante com vinblastina e prednisolona. A taxa de redução da dose foi considerada baixa para todos os estudos de quimioterapia, com excepção do protocolo com paclitaxel micelar, o que indica que apesar das toxicidades estes tendem a ser bem tolerados pela maioria dos animais. De uma forma geral, a percentagem de hospitalizações ou de mortes associadas a efeitos adversos da quimioterapia foi considerada reduzida, inferiores a 8% e a 2%, respectivamente.

Relativamente à eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-cinases, o estudo que apresentou maior eficácia clínica foi o estudo prospectivo com mesilato de imatinib (Isotani *et al.*, 2008) com nível 2B de evidência científica, no qual 48% (taxa de resposta global) dos cães com mastocitomas responderam à terapia. A taxa de resposta global foi de 100% em cães cujos mastocitomas possuíam duplicação interna em tandem no seu C-KIT (n=5). Deve-se salientar de que não existem ainda estudos realizados em cães com mastocitomas que avaliassem a farmacocinética do mesilato de imatinib; a actual dose recomendada é baseada apenas na sua actividade clínica observada, não incluindo a sua farmacocinética e farmacodinâmica. Neste estudo, não há registo de toxicidades significativas com este medicamento, contudo a duração da aplicação foi relativamente curta na maioria dos animais (cerca de 6 dos 21 animais receberam o tratamento apenas por 14 dias), visto que, os tratamentos foram descontinuados devido ao seu elevado custo. Desta forma, a toxicidade e a eficácia a longo prazo não são conhecidas. Com efeito, a principal toxicidade descrita para o imatinib é a hepática, contudo, a verdadeira incidência de hepatotoxicidade em cães não é ainda conhecida. Num estudo de revisão, London (2009) concluiu que esta hepatotoxicidade parece ter natureza idiossincrática, resultando em severas elevações dos valores de ALT e de ALP que conduzem à necessidade de descontinuar o tratamento 2 semanas após o seu início.

O ECRCC com fosfato de toceranib (London *et al.*, 2009) apresentou uma evidência científica de nível 1B e um grau de recomendação A, devido ao seu modelo de estudo. Este estudo, direccionado para caninos com mastocitomas não excisáveis de grau II e III, apresentou uma taxa de resposta global significativamente superior ao grupo de controlo, sobretudo em animais positivos para a mutação do C-KIT. Os animais sem metástases nos gânglios linfáticos tiveram maior taxa de resposta global do que os com invasão ganglionar. De destacar que, apesar de ser uma terapia molecular e não um citotóxico, o fosfato de toceranib pode estar associado a efeitos adversos gastrointestinais

significativos, tendo-se verificado necessidade de redução da dose em 20% dos animais ou da frequência da administração em 48% dos casos. As neutropénias associadas são geralmente restringidas às de grau 1.

O ECRCC com masitinib (Hahn *et al.*, 2008) apresenta igualmente evidência científica de nível 1B e grau A de recomendação. Este estudo, que englobou mais de 200 caninos com mastocitomas de grau II e III, não excisáveis e sem metastização, não demonstrou diferenças significativas na taxa de resposta global entre o grupo medicado e o grupo placebo. Contudo, o grupo masitinib apresentou um maior ILP (mais 43 dias) do que o grupo placebo. Embora os cães com a presença de mutação C-KIT não tenham experienciado uma resposta global significativamente diferente com o masitinib, alcançaram um ILP significativamente superior. Tal como o verificado para o toceranib, estes resultados suportam a hipótese de que a actividade biológica dos inibidores de tirosinas-cinases é superior em animais com mutação, reforçando a importância de se fazer a pesquisa da mutação do C-KIT nos mastocitomas caninos antes de delinear o protocolo terapêutico. No estudo ECCR de continuação (Hahn *et al.*, 2010), comprovou-se que a taxa de sobrevivência e o tempo de sobrevida eram significativamente superiores aos do grupo placebo. Verificou-se que, o controlo tumoral aos 6 meses foi o principal factor prognóstico positivo para a sobrevivência. O masitinib é geralmente bem tolerado, apenas provocando diarreias e vómitos ligeiros a moderados (grau 1 e 2). Ocorreram também episódios de neutropénia, mas de baixo grau. Cerca de 7% dos cães desenvolveram nefropatia com perda de proteína com edemas associados e em 3% anemia hemolítica.

No que diz respeito aos objectivos específicos propostos para esta revisão sistemática, a comparação da eficácia (resposta completa e parcial) do tratamento com quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases, permitiu concluir que não houve diferença estatisticamente significativa entre estes (p -value = 0,419), ou seja, com base nesta amostra não existem diferenças clínicas entre a eficácia dos protocolos de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases. Contudo, nem todos estudos de quimioterapia utilizaram cães com mesmo estágio tumoral; e relativamente aos estudos de inibidores de tirosinas-cinases nenhum revelou informações sobre o estadiamento tumoral dos doentes, embora todos incluíssem animais com doença macroscópica ou mensurável.

A comparação entre a taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos nos diferentes grupos terapêuticos (quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases), não foi considerada estatisticamente significativa pelo que se concluiu que, a taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos é semelhante. Além disso, os efeitos adversos não foram considerados como um factor que condicionasse a resposta ao tratamento, pois não se verificou uma relação estatisticamente significativa entre a taxa de interrupção do tratamento e diferenças na resposta.

Comparando as respostas nos grupos tratados com quimioterapia, verificou-se que as respostas aos diferentes protocolos foram apenas moderadamente heterogêneas entre si, ou seja, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre a eficácia dos protocolos estudados. Estes resultados podem ser justificados devido ao facto de a quimioterapia ser utilizada mais frequentemente com o intuito de atrasar ou prevenir a doença metastática (para além do tratamento cirúrgico do local primário da lesão), ou de atrasar a sua progressão, mas os estudos de eficácia são escassos. Assim, quanto às implicações clínicas pode-se afirmar que, embora existam inúmeros protocolos quimioterápicos descritos para o tratamento do mastocitoma cutâneo canino, não existe nenhum protocolo que se destaque significativamente dos outros. No entanto, estes resultados podem ter sido enviesados pelo facto de os estudos incluírem animais em diferentes estádios clínicos e portanto com diferentes prognósticos.

Relativamente aos inibidores de tirosinas-cinases, as respostas aos diferentes protocolos também não diferiram significativamente entre si, ou seja, não se pode concluir sobre um protocolo de eleição relativamente à terapia molecular. Actualmente, ainda existe um número limitado de estudos sobre a eficácia clínica da terapia molecular em Medicina Veterinária. Em certa parte, isto deve-se ao facto de não se conhecer claramente a maioria dos alvos de intervenção terapêutica nas neoplasias caninas e também devido ao elevado custo monetário destes tratamentos. Esperamos que no futuro, novos ensaios clínicos sejam realizados permitindo o esclarecimento de questões como qual a eficácia clínica dos inibidores de tirosinas cinases em outros tipos neoplásicos bem como quais as vantagens/inconvenientes do uso combinado entre terapia molecular e a terapêutica oncológica convencional (radioterapia e quimioterapia).

Com a informação actual, o tratamento sistémico com quimioterapia ou com inibidores de tirosinas-cinases devem ser considerados em cães com indicadores de mau prognóstico após a excisão cirúrgica do mastocitoma primário (i.e. grau III, grau II com alto índice mitótico, elevado índice de proliferação e/ou com mutação do C-KIT, e

metastização) ou com tumores não extirpáveis. Contudo, com os dados dos estudos publicados, a escolha do protocolo de eleição não é objectiva, pois os ensaios clínicos não foram homogêneos relativamente à amostra em estudo, o que dificulta a avaliação estatística dos resultados e impede a sua metanálise. Desta forma, o clínico oncologista, para seleccionar os protocolos de primeira linha versus os de segunda linha ou de resgate, depara-se com a necessidade de fazer uma ponderação entre eles tendo em conta percentagens de respostas versus efeitos adversos, custos associados, facilidade de administração e número de deslocações ao hospital. Após o estudo dos dados avaliados nesta revisão sistemática, e como forma de resumo, sugere-se como tratamento quimioterápico de primeira-linha para um animal com mastocitomas de grau II/III não extirpáveis cirurgicamente, o protocolo alternado de 24 semanas com lomustina, vinblastina e prednisolona (Rassnick *et al.*, 2010) visto ser o protocolo que apresenta maior taxa de resposta global, embora se tenha de lidar com efeitos adversos potencialmente severos em cerca de 30% dos casos. Como tratamento adjuvante em casos de mastocitomas com potencial metastático elevado ou com doença microscópica, ponderando eficácia e tolerabilidade, o protocolo de eleição seria vinblastina com prednisolona. Quanto a mastocitomas não extirpáveis, recorrentes e/ou metastáticos, e com mutação do C-KIT, deve-se considerar a terapia a longo-prazo com inibidores de tirosinas-cinases (fosfato de toceranib ou masitinib), se o factor monetário não for importante. Este tipo de terapia torna-se vantajosa pela sua forma de administração oral, contudo, tal como na terapia citotóxica convencional, os inibidores de tirosinas-cinases estão associados a diversos efeitos adversos que têm de ser monitorizados cuidadosamente.

Por fim, importa mencionar as principais limitações encontradas durante a realização desta revisão sistemática, nomeadamente: ausência de ensaios clínicos randomizados cegos com quimioterapia; amostras heterogêneas quanto a factores de prognóstico; falta de determinadas informações sobre factores de prognóstico em estudos de inibidores de tirosinas-cinases; ausência de informação na maioria dos estudos sobre a confirmação de mau prognóstico nos casos de mastocitomas de grau II; ausência de caracterização dos estadios tumorais em alguns estudos; presença de um número significativo de animais que realizaram tratamentos prévios aos protocolos de quimioterapia avaliados e falta de coerência na apresentação e avaliação dos resultados entre os estudos.

6. Conclusão

O mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas malignas mais comum da espécie canina. O seu aspecto macroscópico bem como o comportamento biológico são extremamente variáveis, podendo desenvolver-se desde uma simples massa bem definida e não invasiva até uma grave doença metastática. Os casos com potencial metastático elevado são tratados geralmente com terapia multimodal incluindo a quimioterapia e os inibidores das tirosinas-kinases. Na literatura existem vários protocolos de tratamento com estes fármacos, pelo que o objectivo principal deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática dos mesmos avaliando o seu grau de evidência científica.

Tendo em conta a análise dos estudos incluídos (13 estudos com um total de 898 caninos com mastocitomas cutâneos de grau II e III), o protocolo de quimioterapia com maior eficácia emprega a administração alternada de lomustina, vinblastina e prednisolona realizado num estudo prospectivo aberto. Contudo, deve-se ter em consideração que os efeitos adversos associados a este protocolo podem ser moderados a severos, nomeadamente mielosupressão, neutropénia e hepatotoxicidade, pelo que nestes casos o uso do protocolo somente com vinblastina e prednisolona será uma opção válida, com menor toxicidade e com uma taxa de eficácia também elevada. Como possíveis protocolos de resgate sugere-se: o paclitaxel, o clorambucilo e a hidroxiureia. A vinorelbina e a vincristina não demonstraram eficácia.

Quanto aos estudos dos inibidores de tirosinas-kinases, tanto o fosfato de toceranib como o masitinib são recomendados em situações de mastocitomas de grau II ou III, não extirpáveis, recorrentes e/ou metastáticos e com mutação do C-KIT. Estes são aplicáveis em casos em que não existe a possibilidade da realização de radioterapia em mastocitomas não excisáveis e recorrentes. Dos três inibidores de tirosinas-kinases estudados, o fosfato de toceranib foi o que apresentou uma maior taxa de eficácia clínica. Em geral, os efeitos adversos dos inibidores de tirosinas-kinases são semelhantes aos da quimioterapia e acontecem com a mesma frequência pelo que devem ser igualmente monitorizados.

Contudo, várias questões continuam por desvendar, incluindo a avaliação da sua atividade biológica em caso de doença microscópica, o período de tempo ideal de administração deste tratamento, assim como o estudo de protocolos terapêuticos que combinem estes fármacos com os meios terapêuticos tradicionais (cirurgia, quimioterapia e radioterapia).

Este trabalho documenta a necessidade de realizar ensaios clínicos randomizados

incluindo uma amostra com números estatisticamente valorizáveis e composta por grupos de doentes homogêneos, isto é com mastocitomas com factores de prognóstico semelhantes e no mesmo estadio clínico. Só assim será possível fazer comparações estatisticamente significativas entre os resultados dos diferentes protocolos terapêuticos e desta forma se definir qual o protocolo com maior evidência de eficácia para o tratamento dos mastocitomas cutâneos caninos.

Sugere-se também a realização de estudos que incluam a qualidade de vida como uma das respostas a avaliar durante os tratamentos, assim como, estudos que analisem a influência da dieta na evolução da doença e/ou na resposta aos diferentes tratamentos.

7. Referências Bibliográficas

- Abadie, J., Amardeilh, M., Delverdier, M. (1999). Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215, 1629-1634.
- Axiak, S., Parshley, J., Carreras, M., Endicott, K., Griffice, W., Wheeler, L. & DiBernardi, G. *et al.*, (2006). A novel c-Kit inhibitor (AB1010) shows therapeutic potential in dog mast cell tumors. *Genes, Dogs and Cancer: Fourth Annual Canine Cancer Conference*.
- Ayl, R., Couto, C., Hammer, A., Weisbrode, S., Ericson, J., Mathes, L. (1992). Correlation of DNA ploidy to histologic grade, clinical variables, and survival in dogs with mast cell tumors. *Vet Pathol* 29: 386-90.
- Bader, J. & Ismail, A. (2004). Survey of systematic reviews in dentistry. *Journal of the American Dental Association*, 135, 464-473.
- Baker-Gabb, M., Hunt, G. & France, M. (2003). Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs: clinical behavior and response to surgery. *Australian Veterinary Journal*, 81, 732-738.
- Ballegeer, E., Forrest, L., Dickinson, R., Schutten, M., Delaney, F. & Young, K. (2007). Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases (2002-2005). *Journal of the American Medical Association*, 230, 690-696.
- Barsoti, G., Marchetti, V. & Abramo, F. (2007). Primary conjunctival mast cell tumour in a Labrador Retriever. *Veterinary Ophthalmology*, 10, 60-64.
- Beltran, E., De Stefani, A., Stewart, J., De Risio, L. & Johnson, V. (2010). Disseminated mast cell tumor infiltrating the sphenoid bone and causing blindness in a dog. *Veterinary Ophthalmology*, 13, 184-189.
- Bensignor, E., Delisle, F. & Devauchelle, P. (1996). Les mastocytomes du chien. *Le Point Veterinary*, 27, 925-932.
- Blackwood, L. (2010). Tumours of the skin and subcutaneous tissues. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3^a Ed., pp. 13-158). BSAVA Publications.
- Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., *et al.*, (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10 (3), 1-29.
- Bonita, R., Beaglehole, R. & Kjellström, T. (2010). Epidemiologia Básica. *World Health Organization*, (2^a Ed., pp. 1-230). Geneva.

- Bookbinder, P., Butt, M. & Harvey, H. (1992). Determination of the number of mast cells in lymph node, bone marrow and buffy coat cytologic specimens from dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200, 1648-1650.
- Bostock, D. (1986). Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *The British Veterinary Journal*, 142, 1-19.
- Bostock, D. & Dye, M. (1973). The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 14, 27-40.
- Brocks, B., Neyens, I., 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.
- Cahalane, A., Payne, S., Barber, L., Duda, L., Henry, C., Mauldin, G. & Frimberger *et al.*, (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without surgical treatment: 68 cases (1994-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225, 401-408.
- Carlsten, K., London, C., Haney, S., Burnett, R., Avery, C. & Thamm, D. (2012). Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 135-141.
- CEBM (2009). Oxford Centre for Evidence-based Medicine. Acedido em Setembro 2014 em <http://www.cebm.net/>
- Chaffin, K. & Thrall, D. (2002). Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 43, 392-395.
- Clarke, M. (2000). The QUORUM statement. *Lancet*, 355, 756-757.
- Cole, W. (1990). Mast cell tumor in a puppy. *The Canadian Veterinary Journal*, 31, 457.
- Cook, D.J., Guyatt, G.H., Laupacis, A., Sackett, D.L. & Goldberg, R.J. (1995). Clinical recommendations using levels of evidence antithrombotic agents. *Chest*, 108, 227S-230S.
- Cooper, M., Tsai, X. & Bennett, P. (2009). Combination CCNU and Vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumors: 57 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 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.

- Davies, B. J., Page, R., Sannes, P. L. & Meutes, D. J. (1992). Cutaneous Mastocytosis in a dog. *Journal of Veterinary Pathology*, 29, 363-365.
- Davies, D., Wyatt, K., Jardine, J., Robertson, I. & Irwin, P. (2004). Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of American Animal Hospital Association*, 40, 124-130.
- Derenzini, M. (2000). The AgNORs. *Micron*, 31, 117-120.
- Dickersin, K. & Berlin, J.A. (1992). Meta-analysis: state-of-the-science. *Epidemiologic reviews*, 14, 154-176.
- Dobson, J.M., Cohen, S. & Gould, S. (2004). Treatment of canine mast cell tumors with prednisolone and radiotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2, 132-141.
- 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, 424-431.
- Downing, S., Chien, M. B., Kass, P. H., Moore, P. F. & London, C. A. (2002). Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 63, 1718-1723.
- Dubreuil, P., Letard, S., Ciufolini, M., Gros, L., Humbert, M., Castéran, N. & Borge, L. *et al.*, (2009). Masitinib (AB1010), a Potent and Selective Tyrosine Kinase Inhibitor Targeting KIT. *PLOS ONE A Peer-Reviewed Open Access Journal*, 4, 7258.
- Dunn, T. B. & Potter, H. (1957). A transplantable mast cell neoplasm in the mouse. *Journal of the National Cancer Institute*, 18, 587-601.
- Ehrlich, P. (1877). Beiträge zur kenntniss der quilin-färbungen und ihrer verivendung in der mikroskopischen technik. *Alch Mikros Anat*, 13, 31-37.
- Forrest, L. (1997). Combination cancer treatment: Surgery and radiation therapy. *Veterinary Medicine*, 92, 1043-1049.
- Forrest, J.L. (2008). Glossary of evidence-based terms. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 8, 55-61.
- Fox, L., Rosenthal, R. & Jwedt, D. (1989). Plasma histamine and gastrine concentration in 17 dogs with mast cell tumors, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 4, 242-246.
- Frimberger, A., Moore, A., Cincotta, L., Cotter, S. & Foley, J. (1998). Photodynamic therapy of naturally occurring tumors in animals using a novel benzophenothiazine photosensitizer. *Clinical Cancer Research*, 4, 2207-2218.
- Gaschen, F. & Teske, E. (2005). Paraneoplastic syndromes. In S. J. Ettinger & E. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (6^a Ed., pp. 789-795). St. Louis: Saunders.

- Gil da Costa, R. M., Matos, E., Rema, A., Lopes, C., Pires, M. & Gärtner, F. (2007). CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers. *BioMedCentral Veterinary Research*, 3, 1-7.
- Ginn, P. E., Fox, L. E., Brower, J. C., Gaskin, A., Kurzman, I. D. & Kubilis, P.S. (2000). Immunohistochemical detection of p53 tumor-suppressor protein is a poor indicator of prognosis for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 37, 33-39.
- Gerritsen RJ, Teske E, Kraus JS. (1998). Multiagent chemotherapy for mast cell tumors in the dog. *Veterinary Quarterly*. 1998; 20: 28-31.
- Gieger, T., Théon, A., Wener, J., McEntee, M. & DeCock, H. (2003). Biologic Behaviour and Prognostic Factors for Mast Cell Tumors of the Canine Muzzle: 24 Cases (1990-2001). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17, 687-692.
- Goldschmidt, M. & Hendrick, M. (2002). Tumors of the Skin and Soft Tissues. *Tumors in Domestic Animals*, (4^a Ed., pp. 455-117). Blackwell
- Goldschmidt, M. & Shoffer, F. (1994). Skin Tumors in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice*, 35, 325.
- Govier, S. (2003). Principles of treatment for mast cell tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 103-106.
- Grahn, B., Wolfer, J. & Randall, J. (1994). Diagnostic Ophthalmology. *Canadian Veterinary Journal*, 35, 730-731.
- Grant, I., Rodriguez, C., Kent, M., Sfilgoi, G., Gordon, I., Davis, G. & Lord, L. *et al.*, (2008). A phase II clinical trial of vinorelbine in dogs with cutaneous mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 388.
- Grier, R., Di Guardo, G., Myers, R., Merkley, D. (1995). Mast cell tumor destruction in dogs by hypotonic solution. *Journal of Small Animal Practice*, 36, 385-388.
- Grier, R., Di Guardo, G., Schaffer, C., Pedrosa, B., Myers, R., Merkley, D. & Thouvenelle, M. (1990). Mast cell tumor destruction by deionized water. *American Journal of Veterinary Research*, 51, 1116-1120.
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J. & Affolter, V. K. (2005). Mast cell tumors. In: T. L. Gross, P.J. Ihrke, E. J Walder & V. K. Affolter, *Skin Diseases of the Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis* (2^a Ed., pp. 853-865). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Hahn, K., King, G. & Carreras, J. (2004). Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *The Journal of American Veterinary Medical Association*, 224, 79-82.

Hahn, K., Legendre, A., Shaw, N., Phillips, B., Ogilvie, G., Prescott, D. & Atwater, S. *et al.*, (2010). Evaluation of 12 and 24 month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 1354-1361.

Hahn, K., Ogilvie, K., Rusk, T., Devauchelle, P., Leblanc, A., Legendre, A. & Powers, B. *et al.*, (2008). Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1301-1309.

Haynes, R.B., Sackett, D.L., Guyatt, G.H. & Tugwell, P. (2006). Conducting systematic reviews. *Clinical epidemiology how to do clinical practice research*, (3^a Ed., pp. 15-48). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

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*.

Higgins, J. & Greens, S. (2011). Cochrane Handbook for Sistematic Review of Interventions, versão 5.1.0. Acedido em 26 de Junho de 2014 em www.cochrane-handbook.org

Hill, P. B., & Martin, R. J. (1998). A review of mast cell biology. *Veterinary Dermatology*, 9, 145-166.

Hopewell, S., Clarke, M., Moher, D, Wager, E., Middleton, P., Altman, D.G., Schulz, K.F., *et al.*, (2008). CONSORT for reporting randomized controlled trials in journal and conference abstracts: explanation and elaboration. *PLoS medicine*, 5, 20.

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

Hottendorf, G. H. & Neilsen, S. W. (1967). Survey of 300 extirpated canine mastocytomas. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 14, 272-281.

Hottendorf, G.H. & Nielsen, S. (1968). Pathologic report of 29 necropsies on dogs with mastocytoma. *Veterinary Pathology*, 5, 102-121.

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

Isotani M, Ishida N, Tominaga M., Tamura, K., Yagihara, S., Ochi, R., Kato, T., *et al.*, (2008). Effect of tyrosine kinase inhibition by imatinib mesylate on mast cell tumors in dogs. *J Vet Intern Med*. 22(4): 985-988.

- Jaffe, M. H., Hosgood, G., Taylor, H. W., Kerwin, S.C., Hedlund, C. S., Lopez, M. K. & Davidson, J. R. *et al.* (2000). Immunohistochemical and clinical evaluation of p53 in canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 37, 40-46.
- Johnson, S., Sherding, R., & Bright, R. (2006). Diseases of the stomach. In S. Birchard & R. Sherdin, *Saunders Manual of Small Animal Practice* (3^a Ed., pp. 664-690). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Kitayama, H., Kanakura, Y., Furitsu, T., Tsujimura, T., Oritani, K., Ikeda, H., Mitsui, H. *et al.*, (1995). Constitutively Activating Mutations of c-Kit Receptor Tyrosine Kinase Confer Factor-Independent Growth and Tumorigenicity of factor-dependent Hematopoietic Cell Lines. *Blood*, 85, 790-798.
- Kiupel, M., Webster, J., Bailey, K., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. & Fitzgerald, S. *et al.*, (2011). Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology*, 48, 147-155.
- Kiupel, M., Webster, J., Miller, R. & Kaneene, J. (2005). Impact of tumour depth, tumor location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 52, 280-286.
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cör, A. & Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumors. *In Vivo*, 23, 55-62.
- Kravis, L., Vail, D., Kisseberth, W., Ogilvie, G. & Volk, L. (1996). Frequency of argyrophilic nucleolar organizer regions in fine-needle aspirates and biopsy specimens from mast cell tumors in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 209, 1418-1420.
- Kumar V., Abbas AK. Fausto N. Robbins & Cotran (2005). *Patologia – bases patológicas das doenças*. (7^a Ed) Rio de Janeiro: Elsevier.
- Lagoretta, R., Denmam, D., Kelley, M., *et al.*, (1988). Use of hyperthermia and radiotherapy in treatment of a large mast cell sarcoma in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 193, 1545-1548.
- Lemarié, R., Lemarié, S. & Hedlund, C. (1995). Mast Cell Tumors: Clinical Management. *Compendium on Continuiug Education for the practicing veterinarian*, 17, 1085-1130.
- Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S. & Moussy, A. *et al.* (2008). Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Molecular cancer research*, 6, 1137-1145.

- Liao, A., Chien, M., Shenoy, N., Mendel, D., McMahon, G., Cherrington, J. & London, C. (2002). Inhibition of constitutively active forms of mutant kit by multitargeted indolinone tyrosine kinase inhibitors. *Blood*, 100, 585-593.
- London, C. (2008). Management of canine mast cell tumours. Obtido em 26 de Agosto de 2014, em: www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/london2.pdf
- London, C. (2009). Tyrosine kinase inhibitors in veterinary medicine. *Topics in companion animal medicine*, 24, 106-112.
- London, C. (2010). Mast Cell Cancer. In: D. J. Weiss & K. J. Wardrop, *Schalm's Veterinary Hematology* (6ª Ed., pp. 483-490). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- London, C. A., Galli, S. J., Yuukib, T., Hub, Z. Q., Helfand, S. & Geissler, E. N. (1999). Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Experimental Hematology*, 27, 689-697.
- London, C., Malpais, P., Follis, S., Boucher, J. (2009). Multicenter, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clinical Cancer Research*, 15, 3856-3865.
- London, C., & Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 33, 473-489
- London, C. & Thamm, D. (2013). Mast cell tumours. In: Withrow SJ, Vail DM, Page RL (Eds) Withrow and MacEwen's *Small Animal Clinical Oncology*, (5ª Ed., pp. 335-346). Elsevier Health Sciences.
- Lopes, A. (2000). Medicina Baseada em Evidências: a arte de aplicar o conhecimento científico na prática clínica. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 46, 285-288.
- Marchetti, V., Barsotti, G. & Abramo, F. (2007). Primary conjunctival mast cell tumor in a Labrador Retriever. *Veterinary Ophthalmology*, 10, 60-64.
- Marconato, L., Bettini, G., Giacoboni, C., Romanelli, G., Cesari, A., Zatelli, A. & Zini, E. (2008). Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1001-1007.
- Marques, D.N., Mata, A.D., Silveira, J. & Marques, J.F. (2008). Medicina dentária baseada na evidência – novas opções para velhas práticas. *Revista Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 49, 171-178.
- Mayer, M. (2006). Radiation therapy for canine mast cell tumors. *The Canadian Veterinary Journal*, 47, 263-265.
- Mayr, B., Reifinger, M., Brem, G., Feil, C. & Schleger, W. (1999). Cytogenetic, ras, and p53: studies in cases of canine neoplasms (hemangiopericytoma, mastocytoma, histiocytoma, chloroma). *The Journal of Heredity*, 90, 124-128.

McCaw, D., Miller, M. & Bergman, P. (1997). Vincristine therapy for mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11, 375-378.

McManus, P. (1999). Frequency and severity of mastocytemia in dogs with and without mast cell tumors: 120 cases (1995-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215(3): 355-57.

Michels, G., Knapp, D., DeNicola, D., Glickman, N. & Bonney, P. (2002). Prognosis Following Surgical Excision of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors with Histopathologically Tumor-Free Versus Non-Tumor Free Margins: A Retrospective Study of 31 cases. *Journal of American Animal Hospital Association*, 38, 458-466.

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

Moher, D., Altman, D. & Schulz, K. (2010). CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Journal of Clinical Epidemiology*, 63, 1-37.

Moher, D., Cook, D., Eastwood, S., Olkin, I., Rennie, D. & Stroup, D. (1999). Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. *Lancet*, 354, 1896-1900.

Moher, D., Schulz, K.F. & Altman, D.G. (2001). The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet*, 357, 1191-1194.

Monografia Masivet (2009). Masivet ® The Efficacy of Targeted Therapy in Veterinary Medicine. *AB SCIENCE*.

Montori, V.M., Wilczynski N.L., Morgan, D. & Haynes, R.B. (2005). Optimal search strategies for retrieving systematic reviews from Medline: analytical survey. *BMJ (clinical research)*, 330, 68.

Moore, L., Garrett, L., DeBey, B. & Biller, D. (2002). Spinal Mast Cell Tumor in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38, 67-70.

Morini, M., Bettini, G., Preziosi, R. & Mandrioli, L. (2004). C-kit gene product (CD117) Immunoreactivity in canine and feline paraffin sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 52, 705-708.

Mullins, M., Dernel, W., Withrow, S., Ehrhart, E., Thamm, D. & Lana, S. (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, 91-95.

Mulrow, CD. (1987). The medical review article: state of the science. *Annals of internal medicine*, 106, 485-488.

- Mulrow, CD. (1994). Rationale for systematic reviews, *BMJ (Clinical research ed.)*, 309, 597-599.
- Murphy, S. (2007). Mast Cell Tumors. In: L. B. Dobson JM, *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3^a Ed., pp. 161-167). Gloucester, British Small Animal Veterinary.
- Murphy, S., Sparkes, A., Blunden, A., Brearley, M. & Smith, K. (2006). Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *The Veterinary Record*, 158, 287-291.
- 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. *Vet Rec* 154: 743-46.
- Neyens, I., Kirpensteijn, J., Grinwis, G., Teske, E. (2004). Pilot study of intraregional deionised water adjunct therapy for mast cell tumors in dogs. *The Veterinary Record*, 154, 90-91.
- Nilsson, G. & Metcalfe, D. (1996). Contemporary issues in mast cell biology. *Allergy and asthma proceedings: the official journal of regional and state allergy societies*, 17, 59-63.
- North, S. & Banks, T. (2009). Mast Cell Tumour. In S. North & T. Banks, *Introduction to Small Animal Oncology*, (1^a Ed., pp. 183-196). Saunders-Elsevier.
- Northrup, N., Roberts, R., Harrell, T., *et al.*, (2004). Iridium-192 interstitial brachytherapy as adjunctive treatment for canine cutaneous mast cell tumors, *J Am Hosp Assoc*, 40, 309-315.
- Ogilvie, G., Hensel, P., Kitchell, B., Dubreuil, P. & Ahn, A. (2011). Masitinib, a targeted therapy with applications in veterinary oncology and inflammatory diseases. *CAB reviews: Perspectives in Agriculture Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 21, 1-11.
- O'Keefe, D. (1990). Canine Mast Cell Tumors. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 20, 1105-1115.
- Owen, L. (1980). TNM Classification of Tumors in Domestic Animals. *Genebra, World Health Organization*.
- Oxman AD. & Guyatt, GH. (1988). Guidelines for reading literature reviews. *Canadian Medical Association Journal*, 138, 697-703.
- Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K. & Namara, I. (2002). Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. *Veterinary Pathology*, 39, 557-564.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J. & MacEwen, E. G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumors: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*, 21, 469-474.

Patruno R., Arpaia, N., Gadaleta, C.D., Passantino, L., Zizzo, N., Misino, A., Lucarelli, N., *et al.*, (2009). VEGF concentration from plasma-activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13, 555-561.

Peterson, S. L. (1985). Scar-associated canine mast cell tumor. *Canine practice*, 12, 23-29.

Pocock, S.J. & Simon, R. (1975). Sequential treatment assignment with balancing for prognostic factors in the controlled clinical trial. *Biometrics*, 31, 103-115.

Powers, B. (2011). Critically appraising qualitative evidence for clinical decision making. In Melnyk, B. & Fineout-Overholt, E. *Evidence-based practice in nursing & healthcare: A guide to best practice*, (2^a Ed., pp. 135-164). Arizona: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins.

Preziosi, R., Sarli, G. & Paltrinieri, M. (2004). Prognostic Value of Intratumoral Vessel Density in Cutaneous Mast Cell Tumours of the Dog. *Journal of comparative pathology*, 130, 143-151.

Preziosi, R., Sarli, G. & Paltrinieri, M. (2007). Multivariate Survival Analysis of Histological Parameters and Clinical Presentation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *Veterinary Research Community*, 31, 287-296.

Pryer, N. K., Lee, L. B., Zadovaskaya, R., Yu, X., Sukbuntherng, J., Cherrington, J. M. & London, C. A. (2003). Proof of target for SU11654: Inhibition of KIT phosphorylation in canine mast cell tumors. *Clinical Cancer Research*, 9, 5729-2734.

Rassnick, K., Al-Sarraf, R., Bailey, D., Chretien, J., Philips, B. & Zwhalen, C. (2010a). Phase II open-label study of single-agent hydroxyurea for treatment of mast cell tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8, 103-111.

Rassnick, K., Bailey, D., Flory, A., Balkman, C., Kiselow, M., Intile, J. & Autio, K. (2008). Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumors. *J Vet Intern Med*, 22, 1390-1396.

Rassnick, K., Bailey, D., Russell, D., Flory, A., Kiselow, M., Intile, J., Malone, E., *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. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8, 138-152.

Rassnick, K., Moore, A., Williams, L., London, C., Kintzer, P., Engler, S. & Cotter, S. (1999). Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (Lomustine). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13, 601-605.

Rivera, P., Akerlund-Denneberg, N., Bergvall, K., Kessler, M., Rowe, A., Willmann, M., Persson, G., *et al.*, (2013). Clinical efficacy and safety of a water-soluble micellar placitaxel (Paccal Vet) in canine mastocytomas. *Journal of Small Animal Practice*, 54, 20-27.

Robat, C., London, C., Bunting, L., McCartan, L., Stingle, N., Selting, K., Kurzman, I. & Vail, D. *et al.*, (2012). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia ®) in dogs: a phase I dose-finding study. *Veterinary Comparative Oncology*, 10, 174-183.

Rogers, K. (1993). Common questions about diagnosing and treating canine mast cell tumors, *Vet Med*, 88, 246-250.

Romansik, E., Reilly, C., Kass, P., Moore, P. & London, C. (2007). Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 44, 335-341.

Sackett, D., Rosenberg, W., Gray, J., Haynes, R. & Richardson, W. (1996). Evidence based Medicine: what it is and what it is and what it isn't. *BMJ*, 7023, 71.

Sackett DL, Straus SE, Richardson WS, *et al.* (2000). *Evidence-based medicine: how to practice and teach EBM*. (2^a Ed). Edimburgo: Churchill Livingstone.

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

Séguin, B., Leibman, N., Bregazzi, V., Ogilvie, G., Powers, B., Dernell, W. & Fettman, M. *et al.*, (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, 1120-1123.

Simões, J. & Schoning, P. (1994). Canine mast cell tumors: a comparison of staining techniques. *Journal of veterinary diagnostic investigation, American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, 6, 458-465.

Schultheiss, P., Gardiner, D., Rao, S., Olea-Popelka, F. & Tuohy, J. (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Med Assoc*, 238, 1464-1469.

Scott, D., Griffin, C. & Miller, Jr. (2001). Neoplastic and Non-neoplastic tumors. In D. W. Scott, C. E. Griffin & W.H. Miller Jr, Muller and Kirk's *Small Animal Dermatology*, (6^a Ed., pp. 1236-1414). Elsevier Health Sciences.

- Sfiligoi, G., Rassnick, K., Scarlett, J., Northrup, N. & Gieger, T. (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1368-1374.
- Spugnini, P., Vincenti, B., Baldi, F., Citro, G., & Baldi, A. (2006). Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Research*, 26, 4585-4590.
- Spugnini, P., Vincenti, B., Baldi, F., Citro, G., Dotsinsky, I., Mudrov, T. & Baldi, A. (2011). Evaluation of cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 407-411.
- Stanclift, R. & Gilson, S. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisolone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 232, 53-62.
- Steffey, M., Rassnick, K., Porter, B. & Njaa, B. (2004). Ureteral Mast Cell Tumor in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40, 82-85.
- Strefezzi, R., Xavier, J. & Catão-Dias, J. (2003). Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 40, 268-275.
- Sutherland, S.E. & Matthews, D.C. (2004). Conducting systematic reviews and creating clinical practice guidelines in dentistry: lessons learned. *Journal of the American Dental Association*, 135, 747-753.
- Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Matsunaga, S., Mochizuki, M., Nishimura, R. & Sasaki, N. (2000). Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216, 222-226.
- Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Mochizuki, M., Matsunaga, S., Nishimura, R. & Sasaki, N. (1997). Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumor. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 995-1001.
- Takeuchi, Y., Fujino, Y., Watanebe, M., Nakagawa, T., Ohno, K., Sasaki, N. & Sugano, S. *et al.* (2010). Aberrant autophosphorylation of c-Kit receptor in canine mast cell tumor cell lines. *Veterinary immunology and immunopathology*, 137, 208-216.
- Tanabe, S., Yamaguchi, M., Iijima, M (2004). Fluorescence detection of a new photosensitizer, PAD-S31, in tumour tissues and its use as a photodynamic treatment for skin tumors in dogs and a cat: a preliminary report. *Veterinary Journal*, 167, 286-293.
- Thamm, D., Turek, M. & Vail, D. (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., & Vail, D. M. (2007). Mast Cell Tumour. In D. Thamm, D. M. Vail, & M. E. Withrow SJ, *Small animal clinical oncology*. (4^a Ed., pp. 402-424). Missouri: Saunders.

Taylor, F., Gear, R., Hoather, T. & Dobson, J. (2009). Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumors: 21 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 50, 284-289.

Theon, A., Madewell, B., & Castro, J. (1993). High dose-rate remote afterloading brachytherapy: Preliminary results in canine and feline cutaneous and subcutaneous tumors, *Proceeding Annual Conference of Veterinary Cancer Society*, 23, 109-110.

Thompson, J., Pearl, D., Yager, J., Best, S., Pearl, D., Coomber, B., Torres, R. & Kiupel, M. *et al.*, (2011). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48, 156-168.

Torabinejad, M. & Bahjri, K. (2005). Essential elements of evidence-based endodontics: steps involved in conducting clinical research. *Journal of endodontics*, 31, 563-569.

Turrel, J., Kitchell, B., Miller, L. & Théon, A. (1988). Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 193, 936-940.

Tyrrel, D. & Davis, R. (2001). Progressive neurological signs associated with systemic. *Australian Veterinary Journal*, 79, 106-108.

Vail, D., von Euler, H., Rusk, A., Barber, L., Clifford, C., Elmslie, R., Fulton, L., *et al.*, (2012). A randomized trial investigating the efficacy and safety of water soluble micellar paclitaxel (paccal vet) for treatment of nonresectable grade 2 or 3 mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1-10.

Van Gelderen, A., Archer, J. & Herrtage, M. (2010). Pre- and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumours. *Comparative Clinical Pathology*, 20, 209-215.

Varandas T. & Carneiro, AV. (2006) Types of clinical studies. Systematic reviews. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 25, 233-246.

VCOG-CTCAE (2011). Veterinary cooperative oncology group - common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1. *Vet Comp Oncol*, 1-30.

Viera, A. & Bangdiwala, S. (2007). Eliminating bias in randomized controlled trials: Importance of allocation concealment and masking. *Family Medicine*, 39, 132-137.

Webster, J., Kiupel, M., Kaneene, J., Miller, R. & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology*, 41, 371-377.

- Webster, J., Kiupel, M. & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2006a). Evaluation of the kinase domain of c-KIT in canine cutaneous mast cell tumors. *BMC Cancer*, 6, 1-8.
- Webster, J., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Miller, R., Kaneene, J. & 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.
- Weidner N. (1995) Intratumoral microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol.* 147. 9-19.
- Weisse, C., Shofer, F. & Sorenmo, K. (2002). Recurrence Rates and Sites for Grade II Canine Cutaneous Mast Cell Tumors Following Complete Surgical Excision. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38, 71-73.
- Welle, M., Bley, C., 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., Vail, D., & Page, R. (2013). *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology* (5^a Ed.). St. Louis: Elsevier, Saunders.
- Yarden, Y., Kuang, W., & Yang-feng, T. (1987). Human proto-oncogene c-kit gene: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO Journal*, 6, 3341- 3351.
- Zavodovskaya, R., Chien, M. & London, C. (2004). Use of kit internal tandem duplications to establish mast cell tumor clonality in 2 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 915-917.
- Zemke, D., Yamini, B. & Yuzbasyam-Gurkan, V. (2002). Mutations in the juxtamembrane domain of c-kit are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Veterinary Pathology*, 39, 529-535.

Apêndices

Apêndice I. Formulário para selecção dos estudos - Colaboração Cochrane (Higgins & Green, 2011)

Análise do título e resumo para verificar a elegibilidade do estudo.

Autor(es):			
Título do estudo:			
Revista:			
Volume:	Número:	Ano:	Páginas:
Local do estudo:			

1) A intervenção está relacionada com a utilização de protocolos de quimioterapia ou de inibidores de tirosina-cinase para o tratamento dos mastocitomas caninos?
Sim – continuar a responder ()
Não. Excluir. Qual o tema deste estudo?
O resumo não relata/ausência de resumo – analisar o estudo na íntegra ()

2) Os participantes do estudo são canídeos com mastocitomas de grau II e/ou III com ou sem metástases?
Sim – continuar a responder ()
Não. Excluir. Quais são os participantes?
O resumo não relata/ausência de resumo – analisar o estudo na íntegra ()

3) O desenho do estudo é um ensaio clínico randomizado e controlado ou um estudo prospectivo?
Sim, é um ensaio clínico randomizado e controlado () ou Sim, é um estudo prospectivo ()
Não. Excluir. Qual é o desenho do estudo?
O resumo não relata/ausência de resumo – analisar o estudo na íntegra ()

Apêndice II. Formulário de colheita de dados - Colaboração Cochrane (Higgins & Green, 2011)

Título: Quimioterapia e terapia molecular no tratamento de mastocitomas caninos:
Revisão Sistemática

Autor(es):			
Título do estudo:			
Revista:			
Volume:	Número:	Ano:	Páginas:

1) Elegibilidade / Motivo de exclusão:
A intervenção que utilizou protocolos de quimioterapia ou inibidores de tirosinas- cinases foi avaliada quanto à sua eficácia em mastocitomas de grau II e/ou III? Sim – continuar a responder () Não – não elegível () Não se encontra claro ()
Os participantes são canídeos com mastocitomas de grau II e/ou III com ou sem metástases? Sim – continuar a responder () Não – não elegível ()
O desenho do estudo é um ensaio randomizado e controlado ou um estudo prospectivo? Sim, é um ensaio clínico randomizado e controlado – elegível () ou Sim, é um estudo prospectivo – elegível () Não – não elegível () Não está claro ()

2) Métodos	
Duração total do estudo:	Não está descrito ()
Aplicado apenas a ensaios clínicos randomizados e controlados	
Geração da sequência:	Não está descrito ()
Ocultação da alocação:	Não está descrito ()
Ocultação	Profissional: sim (), não (), não está descrito ()
	Proprietário do animal: sim (), não (), não está descrito ()
	Avaliador do desfecho: sim (), não (), não está descrito ()

3) Participantes
Número total de participantes:
Critérios de inclusão:
Idade (média):
Género (%): Fêmeas (); Machos ()
Castrados?
Peso (médio)
Raças:

4) Intervenções
Número total de grupos de intervenções:
Especificar a intervenção:
Detalhar a intervenção:
Duração da intervenção:

5) Desfechos (“ <i>Outcomes</i> ”)
Quais os desfechos analisados?
Como foram medidos?
Quando foram medidos?

6) Resultados
Número de participantes em cada grupo de intervenção:
Tamanho da amostra:
Perdas de participantes no estudo:
Dados de cada grupo de intervenção:

7) Conclusões
Principais conclusões do estudo:

Apêndice III. Ferramenta de avaliação do risco de viés dos ensaios clínicos randomizados controlados - Colaboração Cochrane (Higgins & Green, 2011)

Domínios	Descrição	Apreciação do autor
Viés de selecção		
Geração da sequência de alocação	Descrever detalhadamente o método utilizado para gerar a sequência de alocação, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis.	A sequência de alocação foi gerada adequadamente? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()
Ocultação da alocação	Descrever detalhadamente o método utilizado para ocultar a sequência da alocação para se determinar se a intervenção alocada poderia ter sido prevista com antecedência ou durante o recrutamento.	A alocação foi adequadamente ocultada? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()
Viés de realização		
Ocultação dos proprietários dos animais e dos clínicos	Descrever todas as medidas utilizadas para ocultar os proprietários dos animais e dos profissionais relativamente à intervenção que o animal recebeu. E fornecer informações, caso a ocultação tenha sido efectiva.	O conhecimento sobre a intervenção alocada foi adequadamente ocultada aos proprietários dos animais e aos profissionais durante o estudo? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()
Viés de detecção		
Ocultação dos resultados aos avaliadores	Descrever todas as medidas utilizadas para ocultar os avaliadores dos resultados do estudo em relação ao	O conhecimento sobre a intervenção alocada foi adequadamente ocultada aos

	conhecimento da intervenção fornecida a cada participante. E fornecer informações, caso a ocultação tenha sido efectiva.	avaliadores dos resultados durante o estudo? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()
Viés de atrito		
Desfechos incompletos	Descrever se os dados relacionados aos desfechos estão completos para cada desfecho principal, incluindo perdas e exclusões da análise. Referir se as perdas e exclusões foram relatadas no estudo, assim como as respectivas razões de exclusão. E ainda, referir se houve alguma re-inclusão de algum participante.	Os dados incompletos foram adequadamente relatados? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()
Outras viés		
Outras fontes de viés	Declarar qualquer outro viés que não se enquadra nos outros domínios desta ferramenta de avaliação.	O estudo está aparentemente livre de outros problemas que podem colocá-lo em alto risco de viés? Sim – baixo risco de viés () Não – alto risco de viés () Não está claro – risco de viés incerto ()

Apêndice IV. Nível de Evidência Científica segundo a classificação de “Oxford Centre for Evidence-based Medicine - Levels of Evidence” (Março, 2009) adaptado de Centre for Evidence-based Medicine.

Grau de recomendação	Nível de evidência	Estudos terapêuticos
A	1A	Revisão sistemática (com homogeneidade) de ensaios clínicos controlados e randomizados (ECCR).
	1B	ECCR com intervalo de confiança estreito.
	1C	Resultados terapêuticos do gênero “tudo ou nada”.
B	2A	Revisão sistemática (com homogeneidade) de estudos de coorte.
	2B	Estudos de coorte (incluindo ensaio clínico randomizado de menor qualidade).
	2C	Observação de resultados terapêuticos (“outcomes research”). Estudo ecológico.
	3A	Revisão sistemática (com homogeneidade) de estudos de casos-controle.
	3B	Estudos de caso-controle.
C	4	Relato de casos (incluindo coorte ou caso-controle de menor qualidade).
D	5	Opinião desprovida de avaliação crítica ou baseada em matérias básicas (estudo fisiológico ou estudo com animais).

Apêndice V. Tabela de efeitos adversos secundários à quimioterapia, com base no VCOG-CTCAE (Adaptado de VCOG-CTCAE, 2011).

Efeitos adversos		Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Alterações gastrointestinais	Letargia	Sem letargia	Letargia ligeira	Letargia moderada	Severamente restringido às actividades diárias	Incapacitado
	Anorexia	Sem anorexia	Inapetência parcial	Apetite reduzido < 3 dias	Apetite reduzido 3-5 dias	Risco de vida
	Vômito	Sem vômito	< 3 episódios em 24h	3-5 episódios em 24h	>5 episódios em 24h	Risco de vida
	Diarreia	Sem diarreia	>2 episódios de defecação em 24h	2-6 episódios de defecação em 24h	>6 episódios de defecação em 24h	Risco de vida
	Desidratação	Sem desidratação	Mucosas secas; < turgor cutâneo	Fluidoterapia (IV ou SC) <48h	Fluidoterapia IV >48h	Risco de vida
Alterações de medula	Neutropénia	$\geq 3,000$ neutrófilos μ/L	1,500-2,999 neutrófilos μ/L	1,000-1,499 neutrófilos μ/L	500-999 neutrófilos μ/L	<500 neutrófilos μ/L
	Trombocitopénia	$\geq 180\,000$ plaquetas μ/L	100 000-179 999 plaquetas μ/L	50 000-99 999 plaquetas μ/L	25 000-49 999 plaquetas μ/L	<25 000 plaquetas μ/L
	Anemia	$\geq 41\%$ hematócrito	30-40% hematócrito	25-29% hematócrito	20-24% hematócrito	<20% hematócrito
Febre		Sem febre	39.5-40°C	>40.0-41°C	>41-42°C	>42°C
Perda de peso		Sem perda de peso	<10% do peso inicial	10-15% do peso inicial	>15% do peso inicial	-
Alopécia		Sem alopécia	Alopécia focal	Alopécia generalizada	-	-

Apêndice VI. Tabela de efeitos adversos (creatinina, ureia, alanina aminotransferase) secundários à quimioterapia, com base no VCOG-CTCAE (Adaptado de VCOG-CTCAE, 2011).

Efeitos adversos	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Creatinina	>1 – 1,5x padrão; >limite máximo a 1,5x limite máximo	>1,5 – 3x padrão; >1,5 – 2,0x limite máximo	>3x padrão; >2,0 – 3x limite máximo	>3x limite máximo
BUN	>1 - 1,5x padrão; >limite máximo a 1,5x limite máximo	>1,5 – 3x padrão; >1,5 – 2,0x limite máximo	>3x padrão; >2,0 – 3x limite máximo	>3x limite máximo
ALT	>limite máximo a 1,5x limite máximo	>1,5 – 4,0x limite máximo, transitório (< 2 semanas)	>4,0 – 10x limite máximo	>10x limite máximo
ALP	>limite máximo a 2,5x limite máximo	>2,5 – 5,0x limite máximo, transitório (< 2 semanas)	>5,0 – 20x limite máximo	>20x limite máximo
AST	>limite máximo a 1,5x limite máximo	>1,5 – 2,0x limite máximo	>2,0 – 10x limite máximo	>10x limite máximo

Anexos

Análise Estatística Descritiva

Grupo de quimioterapia

Idade

Anexo I – Valores de análise descritiva para a variável “idade” (anos).

Grupo de quimioterapia			Estatística	Erro Padrão
Idade	Média		9,1250	,38002
	95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	8,2886	
		Limite superior	9,9614	
	Mediana		9,0000	
	Variância		1,733	
	Desvio Padrão		1,31642	

Peso

Anexo II – Valores de análise descritiva para a variável “peso” (Kg).

Grupo de quimioterapia			Estatística	Erro Padrão
Peso	Média		28,4500	,69302
	95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	26,8823	
		Limite superior	30,0177	
	Mediana		28,0000	
	Variância		4.803	
	Desvio Padrão		2,19152	

Grupo de inibidores de tirosinas-cinases

Idade

Anexo III - Valores de análise descritiva para a variável “idade” (anos).

Grupo de inibidores de tirosinas-cinases			Estatística	Erro Padrão
Idade (TKI)	Média		9,0800	,26533
	95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	8,3433	
		Limite superior	9,8167	
	Mediana		8,9000	
	Variância		,352	
	Desvio Padrão		,59330	

Peso

Anexo IV - Valores de análise descritiva para a variável “peso” (Kg).

Grupo de inibidores de tirosinas-cinases			Estatística	Erro Padrão
Peso	Média		24,4667	6,27836
	95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	-2,5469	
		Limite superior	51,4803	
	Mediana		29,4000	
	Variância		118,253	
	Desvio Padrão		10,87443	

Comparação da eficácia do tratamento (resposta completa e resposta parcial) com quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases

Anexo V – Teste de Chi-quadrado (Diferenças de proporções – eficácia do tratamento com quimioterapia versus inibidores de tirosinas-cinases).

	Valor	df	Significância Sig. (2 lados)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	,654 ^a	1	,419	,447	,234
Correção de continuidade ^b	,524	1	,469		
Razão de verossimilhança	,652	1	,420		
Teste Exato de Fisher					
N de Casos Válidos	1033				

a. 0 células (0,0%) esperavam uma contagem menor que 5. A contagem mínima esperada é 74,22.

b. Computado apenas para uma tabela 2x2

Comparação da eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-kinases versus placebo

Anexo VI – Teste de Chi-quadrado (Diferenças de proporções – eficácia do tratamento com inibidores de tirosinas-kinases versus placebo).

	Valor	df	Significância Sig. (2 lados)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	,041 ^a	1	,839		
Correção de continuidade ^b	,000	1	1,000		
Razão de verossimilhança	,042	1	,838		
Teste Exato de Fisher				1,000	,528
N de Casos Válidos	234				

a. 0 células (0,0%) esperavam uma contagem menor que 5. A contagem mínima esperada é 6,43.

b. Computado apenas para uma tabela 2x2

Comparação entre a taxa de interrupções associadas aos efeitos adversos nos dois grupos de tratamentos (quimioterapia versus inibidores de tirosinas-kinases)

Anexo VII - Teste de Chi-quadrado (Diferenças de proporções – taxa de interrupções do grupo de quimioterapia versus inibidores de tirosinas-kinases).

	Valor	df	Significância Sig. (2 lados)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	1,154 ^a	1	,283		
Correção de continuidade ^b	,985	1	,321		
Razão de verossimilhança	1,148	1	,284		
Teste Exato de Fisher				,290	,160
N de Casos Válidos	1084				

a. 0 células (0,0%) esperavam uma contagem menor que 5. A contagem mínima esperada é 78,42.

b. Computado apenas para uma tabela 2x2

Relação entre as taxas de interrupções associadas aos efeitos adversos e a resposta ao tratamento para o grupo de quimioterapia e de inibidores de tirosinas-cinases

Quimioterapia

Anexo VIII – Teste de Chi-quadrado (Relação entre taxa de interrupção e a resposta à quimioterapia).

	Valor	df	Significância Sig. (2 lados)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	1,195 ^a	1	,274		
Correção de continuidade ^b	,895	1	,344		
Razão de verossimilhança	1,149	1	,284		
Teste Exato de Fisher				,303	,171
N de Casos Válidos	526				

a. 0 células (0,0%) esperavam uma contagem menor que 5. A contagem mínima esperada é 17,28.

b. Computado apenas para uma tabela 2x2

Inibidores de tirosinas-cinases

Anexo IX – Teste de Chi-quadrado (Relação entre taxa de interrupção e a resposta aos inibidores de tirosinas-cinases).

	Valor	df	Significância Sig. (2 lados)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	,082 ^a	1	,774		
Correção de continuidade ^b	,018	1	,892		
Razão de verossimilhança	,081	1	,775		
Teste Exato de Fisher				,764	,440
N de Casos Válidos	372				

a. 0 células (0,0%) esperavam uma contagem menor que 5. A contagem mínima esperada é 18,05.

b. Computado apenas para uma tabela 2x2