

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

**ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DO MASTOCITOMA
EM CANINOS ATENDIDOS NO SERVIÇO DE ONCOLOGIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO ENTRE OS
ANOS 2011 E 2019**

MONICA YAMILE PADILLA BARRETO

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DO MASTOCITOMA
EM CANINOS ATENDIDOS NO SERVIÇO DE ONCOLOGIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO ENTRE OS
ANOS 2011 E 2019

MONICA YAMILE PADILLA BARRETO

Sob a Orientação do Professor
Julio Israel Fernandes

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ
Fevereiro, 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca
Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B273a Barreto, Monica Yamile Padilla, 1991-
Aspectos clínicos e epidemiológicos do mastocitoma
em caninos atendidos no serviço de oncologia da
Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro entre os
anos 2011 e 2019 / Monica Yamile Padilla Barreto. -
Seropédica/RJ, 2023.
103 f.: il.

Orientador: Julio Israel Fernandes.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
2023.

1. mastocitoma. 2. neoplasia. 3. metástase. 4.
predisposição em cães. 5. risco de desenvolvimento.
I. Israel Fernandes, Julio , 1979-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós
Graduação em Ciências Veterinárias III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 827/2023 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.011846/2023-01

Seropédica-RJ, 03 de março de 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

MONICA YAMILE PADILLA BARRETO

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor(a) em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 03/03/2023

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese.

(Assinado digitalmente em 13/03/2023 08:11)

ALEXANDRE JOSE RODRIGUES BENDAS

DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)

Matrícula: ###200#0

(Assinado digitalmente em 10/03/2023 10:25)

BRUNO RICARDO SOARES ALBERIGI DA SILVA

DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)

Matrícula: ###518#7

(Assinado digitalmente em 13/03/2023 22:37)

JULIO ISRAEL FERNANDES

PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

Matrícula: ###634#0

(Assinado digitalmente em 16/03/2023 17:09)

ARY ELIAS ABOUD DUTRA

CPF: ###.###.877-##

(Assinado digitalmente em 03/04/2023 16:04)

CAROLINA FRANCHI JOÃO CARDILLI

CPF: ###.###.796-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **827**, ano: **2023**, tipo: **ATA**, data de emissão: **03/03/2023** e o código de verificação: **ce5857ed9d**

DEDICATÓRIA

Dedicado à minha avó, porque desde que eu saí de casa com a sua bênção nunca deixou de me apoiar e acreditar que eu poderia realizar este sonho mesmo quando isso significava não poder acompanhá-la até o final dos seus dias. Isto é para ti, vovó!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela oportunidade, por me dar coragem para sair do meu país e me permitir viver essa experiência incrível.

À minha família, minha mãe Blanca Nieves Barreto Moreno, meu pai Gustavo Padilla Cuadros e meu irmão Mario Alejandro Delgado, por me apoiar todos os dias da minha vida, eu não teria chegado até aqui se não fosse por vocês, agradeço com todo meu coração, por ter aprendido com vocês a viver a vida da forma mais honesta possível e com muito desejo de vencer.

À Organização dos Estados Americanos, à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, obrigada pela oportunidade, porque fizeram meu sonho se tornar realidade.

A toda equipe do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, professores e residentes, obrigada por me deixar participar do dia a dia, foi uma oportunidade incrível, aprendi muito com os melhores.

Ao meu orientador o professor Julio Israel Fernandes, pela paciência, por receber essa estrangeira de braços abertos mesmo quando não podíamos nem nos comunicar. Obrigada por confiar em mim, por me compreender, por acreditar em mim, por ter me dado a oportunidade de ser sua “filha científica”. Obrigada por ter sido meu grande exemplo, você é uma inspiração.

À professora de letras Gisele Cristina quem me ensinou o português básico para sobreviver no Brasil, porque ela sempre teve a melhor disposição para me ensinar, obrigado por ser minha professora e amiga.

À minha pequena família no Brasil, obrigada por me acolher como um de vocês quando a pandemia me obrigou a ficar sozinha. Foram um grande apoio nos meus momentos mais difíceis.

Aos meus amigos e colegas de quarto que se tornaram meus irmãos, obrigado por todos os bons e maus momentos, tenho um lugar no meu coração para cada um de vocês espero por vocês na Colômbia.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)-Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa

RESUMO

PADILLA B, Monica Yamile. **Aspectos clínicos e epidemiológicos do mastocitoma em caninos atendidos no serviço de oncologia da Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro entre os anos 2011 e 2019.** 2023. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

O mastocitoma é o tumor cutâneo maligno mais comum em cães, sendo classificado como um tumor de células redondas que pode manifestar-se clinicamente como formações cutâneas de diferentes tamanhos e aspectos. Fatores como localização, sinais clínicos associados ao tumor, taxa de crescimento, tamanho, presença de síndromes paraneoplásicas, raça, sexo e estadiamento clínico podem influenciar o prognóstico. Como os estudos epidemiológicos no Brasil são escassos, objetivou-se com estudo avaliar a distribuição das características clínicas do mastocitoma e analisar o risco de desenvolvimento dessa neoplasia em relação a outros tumores cutâneos nos pacientes atendidos pelo serviço de oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O estudo epidemiológico retrospectivo incluiu 266 cães afetados por mastocitomas cutâneos com um grupo de referência de 581 pacientes diagnosticados com outros tumores cutâneos; a média da idade dos pacientes foi de 9 anos, sendo as fêmeas mais acometidas que os machos; a maior parte dos pacientes foram cães sem raça definida, seguido da raça Boxer, Labrador, Pitbull e Pinscher; os sinais clínicos como vômito, melena, prurido, caquexia, hemorragia, diarreia, convulsões, síncope, hematomas na pele e prostração foram encontrados em 14,3% dos pacientes. As regiões corporais mais afetadas foram o tronco e os membros pélvicos. Anemia, eosinofilia e trombocitopenia foram alterações comuns nos cães afetados; a cirurgia foi o tratamento escolhido para a maior parte dos pacientes e o protocolo quimioterápico de vimblastina com prednisolona o mais utilizado. Foi identificada predisposição nas raças Boxer, Pinscher, Pug, Bulldog francês e Sharpei contrário às raças Poodle, Cocker Spaniel e Rottweiler que apresentaram um risco menor de desenvolver mastocitoma. Os cães sem raça definida de mediano porte são mais predispostos a desenvolver mastocitoma nos membros em comparação com outros tumores da pele. A sobrevivência dos pacientes depende de muitos fatores como o estágio clínico, o grau histopatológico, presença de sinais paraneoplásicos, tipo de tratamento e presença de doenças concomitantes. Este é o primeiro estudo retrospectivo no Brasil que analisa tanto fatores epidemiológicos como clínicos de cães com mastocitoma.

Palavras-chave: mastocitoma, neoplasia, metástase, predisposição, risco de desenvolvimento.

ABSTRACT

PADILLA B, Monica Yamile. **Clinical and epidemiological aspects of mast cell tumor in dogs treated at the oncology service of the Federal Rural University of Rio De Janeiro between 2011 and 2019.** 2023. Thesis (PhD in Veterinary Science). Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Mast cell tumor is the most common malignant skin tumor in dogs, being classified as a round cell tumor that can manifest clinically as skin formations of different sizes and appearances. Factors such as location, clinical signs associated with the tumor, growth rate, size, presence of paraneoplastic syndromes, breed, sex, and clinical staging can influence the prognosis. Epidemiological studies in Brazil are scarce, so the objective of this study was to evaluate the distribution of clinical characteristics of mast cell tumor and analyze the risk of developing this neoplasm in relation to other skin tumors in patients attended by the oncology service of the Veterinary Hospital of the University Federal Rural of Rio de Janeiro. The retrospective epidemiological study included 266 dogs affected by cutaneous mast cell tumors with a reference group of 581 patients diagnosed with other cutaneous tumors; the mean age of the patients was 9 years, with females being more affected than males; most of the patients were mongrel dogs, followed by Boxer, Labrador, Pitbull and Pinscher; clinical signs such as vomiting, melena, pruritus, cachexia, hemorrhage, diarrhea, seizures, syncope, skin hematomas and prostration were found in 14.3% of patients. The most affected body regions were the trunk and pelvic limbs. Anemia, eosinophilia, and thrombocytopenia were common changes in affected dogs; surgery was the treatment chosen for most patients and the chemotherapy protocol of vinblastine with prednisolone was the most used. A predisposition was identified in the Boxer, Pinscher, Pug, French Bulldog and Sharpei breeds, contrary to the Poodle, Cocker Spaniel and Rottweiler breeds that presented a lower risk of developing mast cell tumor. Medium-sized mongrel dogs are more likely to develop mast cell tumors in the limbs compared to other skin tumors. Survival of patients depends on many factors such as clinical stage, histopathological grade, presence of paraneoplastic signs, type of treatment and presence of concomitant diseases. This is the first retrospective study in Brazil that analyzes both epidemiological and clinical factors in dogs with mast cell tumor.

Key words: mast cell tumor, neoplasm, metastasis, predisposition, risk of development.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios morfológicos atualmente usados para classificação de mastocitomas caninos em citopatologia	11
Tabela 2. Critérios morfológicos usados para classificação de mastocitomas caninos no sistema de dos níveis a través de citopatologia.....	13
Tabela 3. Sistema modificado de estadiamento para mastocitomas cutâneos em cães ...	26
Tabela 4. Esquema de pontuação de morbidade aguda por radiação do Grupo de Oncologia e Radioterapia Veterinária.....	31
Tabela 5. Fatores prognósticos dos mastocitomas em cães.....	50
Tabela 6. Pacientes com aumento de linfonodos diagnosticados com mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.....	62
Tabela 7. Resultados da estatística descritiva dos exames laboratoriais dos pacientes diagnosticados com mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.....	70
Tabela 8. Fármacos utilizados nos protocolos quimioterápicos e efeitos adversos apresentados pelos pacientes diagnosticados com mastocitoma cutâneo no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.....	75
Tabela 9. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para ocorrência de mastocitoma em várias raças de cães.....	77
Tabela 10. Frequência de mastocitoma de acordo com a idade, sexo, estado reprodutivo e localização nas raças predispostas.....	78
Tabela 11. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para idade, sexo, estado reprodutivo e localização em raças predispostas.....	79
Tabela 12. Frequência de mastocitoma de acordo com a idade, sexo, estado reprodutivo e localização no grupo de pacientes sem raça definida.....	80
Tabela 13. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para idade, sexo, estado reprodutivo e localização em cães sem raça definida.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografias de mastocitomas em localizações diversas dos pacientes atendidos no HVPA da UFRRJ no período de 2011 até 2019. A. Massa ulcerada em membro pélvico direito. B. múltiplos nódulos em anus ânus e base da cauda, eritematosos, não ulcerados. C. Massa na região perineal, não aderida, pigmentada, alopecias e ulcerada. D. Massa na região inguinal, subcutânea, aderida, não ulcerada. E. Massa em cavidade oral, lobulada aderida, pigmentada, ulcerada. F. Lesões em placa no tronco do paciente e face interna da coxa, eritematosas e ulceradas (Fonte: serviço de Oncologia Veterinária de Animais de Companhia HVPA UFRRJ).	7
Figura 2. Citologia de mastocitomas em cães. Coloração Wright, objetiva 100x Predominância de células redondas, com um núcleo redondo central a ligeiramente excêntrico e muitos grânulos intracitoplasmáticos (Fonte: arquivo pessoal).	10
Figura 3. Sistema de classificação citológica em dos níveis para mastocitomas em cães. Coloração Wright modificada, 1 -2: Mastocitoma de baixo grau citológico. 3-4: Mastocitoma de alto grau citológico (CAMUS et al., 2016).	12
Figura 4. Histopatologia de mastocitoma grau II. Fotomicrografia de mastocitoma canino, revelando proliferação de células redondas, com nucléolo evidente e granulação citoplasmática moderada. Coloração de hematoxilina e eosina, Objetiva: 40x (NARDI et al., 2022).	14
Figura 5. Padrões de imunocoloração do KIT. (A) Padrão 1, membrana associada. (B) Padrão 2, focal citoplasmático (paranuclear). (C) Padrão 3, citoplasmático difuso, contracoloração de hematoxilina. Ampliação original, 40X (DE BIASE et al., 2021).	21
Figura 6. Representação gráfica do número de caninos atendidos por ano no Serviço de Oncologia no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e número de casos de tumores cutâneos e de mastocitomas diagnosticados no período de 2011 até 2019.	54
Figura 7. Representação gráfica do número de pacientes diagnosticados com mastocitoma por raça acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.	57
Figura 8. Representação gráfica referente aos sinais clínicos dos pacientes com mastocitoma acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.	59
Figura 9. Representação gráfica da localização dos mastocitomas nos cães atendidos no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.....	61
Figura 10. Representação gráfica referente à classificação histopatológica mediante o sistema de Patnaik e Kiupel dos 100 pacientes diagnosticados por histopatologia no	

Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019. 64

Figura 11. Representação gráfica das alterações encontradas na radiografia de tórax dos pacientes com diagnóstico de mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019. 65

Figura 12. Representação gráfica das alterações encontradas na ultrassonografia abdominal dos pacientes com diagnóstico de mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019. 66

Figura 13. Representação gráfica dos locais de metástase mais frequentes em 51 cães diagnosticados com mastocitoma metastático no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019. 73

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

AgNOR: região organizadora do núcleo argirofílica

ALT: alanina amino transferase

BED: dose biológica efetiva

cAMP: Adenosina monofosfato cíclica

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CEUS: ultrassom com contraste melhorado

CI: intervalo de confiança

cMCT: mastocitoma cutâneo

DNA: ácido desoxirribonucleico

eMCT: mastocitoma extracutâneo/extramucosos

FA: fosfatase alcalina

HVPA: Hospital Veterinário de pequenos animais

IFN- γ : interferon gama

IL: interleucina

IV: intravenosa

KIT: tirosina quinase

MCT: mastocitoma

mMCT: mastocitoma da mucosa

MMP: matriz metaloproteinase

mRNA: ácido ribonucleico mensageiro

NLR: razão neutrófilos e linfócitos

OMS: Organização Mundial da Saúde

OR: razão de probabilidades “Odds Ratio”

PCNA: antígeno nuclear da célula proliferativa

PCR: reação em cadeia da polimerase

PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas

PDGFR β : receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas

PO: via oral

RNA: ácido ribonucleico

RX: raios x

SCF: fator de células tronco

scMCT: mastocitoma subcutâneo

SLN: linfonodo sentinela

SRD: sem raça definida

TC: tomografia computadorizada

TT: tigilanol tiglate

UFRRJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

USG: ultrassonografia

VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

VEGFR2: receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular

VRTOG: Grupo de Oncologia e Radioterapia Veterinária

\bar{X} : média

μL : microlitro

4-OHPC: 4-hidroxiciclofosfamida

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Carcinogênese do mastocitoma	3
2.2. Epidemiologia e fatores de risco.....	4
2.3. Apresentação clínica e síndromes paraneoplásicas	6
2.4. Diagnóstico	9
2.4.1. Citologia	9
2.4.2. Biópsia e histopatologia.....	13
2.4.3. Avaliação dos linfonodos.....	17
2.4.4. Marcadores moleculares	19
2.5. Estadiamento dos pacientes com mastocitoma	25
2.6. Abordagem terapêutica	26
2.6.1. Cirurgia	27
2.6.2. Radioterapia	29
2.6.3. Quimioterapia.....	31
2.6.4. Tratamentos baseados em eletroporação	38
2.6.5. Alternativas terapêuticas	43
2.7. Comportamento biológico e marcadores prognósticos	46
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.1. Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	51
3.2. Localização do estudo	51
3.3. Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes	51
3.4. Coleta de dados	51
3.5. Análise estatística	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS	83

1. INTRODUÇÃO

Os cães são animais de companhia considerados como membros da família pois se tornaram uma figura de apego para os seres humanos, além de proporcionarem grandes benefícios para a saúde mental e física de adultos e crianças. Essas razões fazem com que a cada dia aumente a preocupação com a saúde e o bem-estar dos animais de estimação, o que juntamente com os avanços da medicina veterinária têm gerado um aumento na sua expectativa de vida. O cão é o animal de estimação mais popular no Brasil e o aumento da longevidade desses animais levou a uma maior incidência de doenças crônicas como é o caso das neoplasias que são umas das principais causas de morte de cães mundialmente, incluindo cães do território brasileiro.

No Brasil, há poucos serviços de oncologia veterinária disponíveis nas universidades e isso se reflete na escassez de estudos epidemiológicos das diferentes neoplasias dos animais de companhia como o mastocitoma. Os estudos epidemiológicos de mastocitoma realizados no país relatam a frequência do tumor em relação à raça, idade, sexo, região corporal, mas não analisam o risco de desenvolvimento do mastocitoma que tem as diferentes raças acometidas em determinadas faixas etárias, com determinado sexo e estado reprodutivo, ou se algumas raças têm um risco maior de desenvolver mastocitomas em determinadas regiões do corpo, dados que são importantes para a abordagem diagnóstica da doença. Além disso, os estudos existentes no Brasil estão focados na descrição das características macro e microscópicas do tumor, os métodos diagnósticos e os tratamentos utilizados deixando sub relatados outros aspectos clínicos importantes como as síndromes paraneoplásicas, achados de imagem e as alterações laboratoriais que podem apresentar os pacientes com mastocitoma.

Considerando a prevalência e o comportamento biológico variável dos mastocitomas em cães, conhecer a doença é o primeiro passo para estabelecer um correto diagnóstico e consequentemente adotar as melhores condutas terapêuticas. Extrapolar o comportamento biológico dos mastocitomas exclusivamente de relatos internacionais, pode ocasionar erros, principalmente sobre a localização, agressividade e a resposta aos tratamentos, é por isso que torna-se necessário o desenvolvimento de estudos epidemiológicos a fim de gerar dados próprios que possam orientar os clínicos veterinários a diagnosticar de maneira precoce os mastocitomas, baseados nos achados de anamnese, exame clínico, exames laboratoriais, fatores

epidemiológicos, com o objetivo final de orientá-los na seleção da terapia disponível que possa proporcionar melhor tempo de sobrevida, com qualidade de vida.

O serviço de oncologia do Hospital Veterinário de pequenos animais (HVPA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) possui uma casuística elevada e é considerado um serviço de referência nacional nessa importante especialidade, tornando-se uma valiosa fonte de informação para o desenvolvimento de trabalhos de epidemiologia.

O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição das características clínicas do mastocitoma e analisar o risco de desenvolvimento dessa neoplasia em relação a outros tumores da pele nos pacientes atendidos pelo serviço de oncologia veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os mastócitos são células encontradas na maioria dos órgãos e tecidos do corpo, especialmente em locais que interagem com o ambiente, como pele, pulmão e trato gastrointestinal; tem a capacidade de liberar quantidades significativas de mediadores pró-inflamatórios, citocinas e fatores de crescimento que estão contidos em grânulos citoplasmáticos (NOVIANA et al., 2003). O tumor de mastócitos foi relatado pela primeira vez em um cão em 1905 e até em 1942 foi descrito como uma proliferação anormal de mastócitos e foi chamado como mastocitoma (HESS, 1977). O mastocitoma é classificado como um tumor de células redondas, assim como o linfoma, histiocitoma, plasmocitoma e o tumor venéreo transmissível (MEUTEN, 2016).

2.1. Carcinogênese do mastocitoma

As causas subjacentes dos mastocitomas são desconhecidas. Como outros tipos de câncer, eles provavelmente são causados por uma combinação de fatores genéticos e ambientais, mas não existe suficiente informação para sugerir quais fatores estão diretamente relacionados com o desenvolvimento de mastocitomas (LONDON; SEGUIN, 2003). O fator de células tronco (SCF) é um importante fator de crescimento para os mastócitos que interage com o receptor KIT que é codificado pelo proto-oncogene c-kit; as interações kit-SCF são necessárias para a diferenciação, sobrevivência e função dos mastócitos. Demonstrou-se que as mutações no c-kit são causantes de mastocitose em humanos e alguns autores identificaram essa mutação em casos de mastocitomas em cães (WEBSTER et al., 2007; TAMLIN et al., 2017). As mutações no gene c-kit foram observadas em aproximadamente 15% dos mastocitomas cutâneos caninos, com uma maior incidência nos mastocitomas de alto grau (THAMM et al., 2019).

A progressão para tumor de mastócitos geralmente envolve estimulação descontrolada do receptor do fator de células tronco após a mutação do c-kit do receptor da superfície celular. KIT é um receptor de fator de crescimento de superfície, normalmente expresso nos mastócitos e codificado pelo proto-oncogene c-kit. O KIT consiste em um domínio extracelular de ligação ao ligante, uma região transmembranar e uma cauda citoplasmática com atividade de tirosina quinase dependente do ligante. O KIT ativado se liga e fosforila as proteínas do substrato intracelular, iniciando uma cascata de sinalização que culmina em uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo proliferação, migração, maturação e sobrevivência de células-

tronco hematopoiéticas. Dentro das mutações que tem sido identificadas em mastocitomas em cães são particularmente no exon 8, 9 e 11 incluindo diferentes mutações pontuais e duplicações em tandem na região de codificação da justamembrana (TAMLIN et al., 2017; CHEN et al., 2022), de fato, pelo menos 51 mutações exclusivas no gene KIT foram identificadas em neoplasias de mastócitos em cães. Pouco se sabe sobre as consequências dessas mutações, no entanto as mutações c-kit e localização aberrante da proteína KIT tem sido associados com aumento da expressão de Ki67 e das regiões organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNORs), ambas marcadores de aumento da proliferação celular (WELLE et al., 2008; TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019).

As mutações neste gene estão associadas ao desenvolvimento ou progressão de alguns mastocitomas em cães já que quando o SCF se liga ao KIT, a porção citoplasmática do receptor sofre autofosforilação e na presença de mutações no éxon 11, o receptor é fosforilado, independentemente de o SCF estar ligado. O receptor fosforilado ativa vias de sinalização que estimulam o crescimento de mastócitos neoplásicos. Portanto, a presença dessa mutação é diretamente responsável pela proliferação descontrolada do tumor que apresenta pior prognóstico (NARDI et al., 2022).

Mutações em outros genes são susceptíveis de estar envolvidos no início e progressão da maioria dos tumores de mastócitos como as mutações no gene TET2 que também tem sido identificadas numa pequena porcentagem de mastocitomas (TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019) e mutações no gene GNB1 provavelmente faz parte da patogênese dos tumores de mastócitos em cães (VOZDOVA et al., 2020). Além disso, substituições de nucleotídeos no gene GNAI2 e vários genes de hialuronidase em CFA14 e CFA20 tem sido significativamente associados ao aumento do risco de desenvolvimento de mastocitoma em cães de raça Golden Retriever (ARENDT et al., 2015). Os genes GNAI2 e hialuronidase estão envolvidos na sinalização celular e na metástase do câncer, respectivamente (TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019). Variações no gene DSCAM no cromossoma 31 do cão também foram relacionadas com o desenvolvimento de mastocitomas em Golden Retriever e Labrador Retriever (BIASOLI et al., 2019).

2.2. Epidemiologia e fatores de risco

Os mastocitomas são os tumores cutâneos malignos mais comuns em cães, representando do 7% ao 21% de todas as neoplasias cutâneas (VILLAMIL et al., 2011). A idade

média de apresentação de mastocitoma é de 8 anos e a incidência aumenta em animais idosos como é evidenciado em estudos epidemiológicos realizados no Brasil, EEUU, Polônia, Itália, Austrália, Inglaterra e Romênia (GARCÍA, 2011; SHOOP et al., 2015; COSTA et al., 2017; ŠMIECH et al., 2017, 2018, 2019; MACHADO et al., 2018; THAMM et al., 2019; LONDON; THAMM, 2020), porém existem relatos de casos em animais menores de um ano (PIERINI et al., 2019; NEGRU et al., 2021). Além de que a ocorrência de mastocitomas aumenta com a idade o risco de desenvolver tumores de alto grau ou grau III também aumenta em animais idosos conforme evidenciado pelos resultados de Šmiech e colaboradores em 2017 e 2018 onde os tumores de alto grau foram mais frequentes em animais maiores de 11 anos e os de baixo grau foram identificados com maior frequência em cães jovens entre 2-6 anos (ŠMIECH et al., 2017, 2018).

Embora não exista uma predileção sexual aparente os cães castrados apresentam um risco maior de desenvolvimento de mastocitoma como foi evidenciado no estudo de Shoop e colaboradores no 2015 onde 323/453 casos foram em animais esterilizados, semelhante ao estudo de Pierini e colaboradores em 2019 onde a maior ocorrência de mastocitoma foi nos animais castrados (SHOOP et al., 2015; PIERINI et al., 2019).

Os cães sem raça definida parecem ser os mais acometidos, no entanto, os diferentes estudos epidemiológicos mostram que raças como Boxer, American Staffordshire Terrier, Labrador Retriever, Bulldog inglês e francês, Golden Retriever, Shar-pei e Teckel parecem ter predisposição ao desenvolvimento dessa neoplasia (WARLAND; DOBSON, 2013; ŠMIECH et al., 2017, 2018, 2019; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019; NEGRU et al., 2021). A raça Pinscher também parece ser uma raça com alta prevalência de mastocitoma segundo os resultados de estudos epidemiológicos brasileiros (COSTA-CASAGRANDE et al., 2008; CARVALHO et al., 2017; COSTA et al., 2017; SOUZA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2020). Raças como o Sharpei e Weimaraner tem um maior risco de desenvolver mastocitomas de alto grau ou grau III, contrário ao Pug, Boxer e Bulldog Francês que tem maior predisposição ao desenvolvimento de mastocitomas de baixo grau ou grau I (ŠMIECH et al., 2017, 2018).

O peso do paciente parece ser também um fator de risco para o desenvolvimento de mastocitoma, tendo maior risco animais entre 30 e 40kg em comparação com animais menores de 10 Kg, dados que podem concordar com o peso padrão das raças mais predispostas ao tumor de mastócitos (SHOOP et al., 2015). A maioria dos mastocitomas em cães ocorrem na derme e no tecido subcutâneo, sendo principalmente nodulações únicas, porém 11 a 14% dos cães

apresentam lesões múltiplas (LONDON; THAMM, 2020). Conforme aos resultados dos diferentes estudos epidemiológicos é possível afirmar que as regiões como a axila, a região inguinal e a bolsa escrotal são locais onde existe um maior risco de desenvolvimento de tumores de alto grau de malignidade (ŚMIECH et al., 2017, 2018).

2.3. Apresentação clínica e síndromes paraneoplásicas

Dependendo dos órgãos afetados, os mastocitomas caninos podem ser divididos em mastocitomas cutâneos (cMCTs), mastocitomas subcutâneos (scMCTs), mastocitomas da mucosa (mMCTs) e leucemia de mastócitos (LCM) (WILLMANN et al., 2021). Os mastocitomas da pele podem se manifestar clinicamente como formações cutâneas de diferentes tamanhos e aspectos, podem ser bem delimitados ou irregulares, elevados, firmes ou moles, pruriginosos podendo apresentar eritema ao redor da lesão ou sem eritema, alguns mastocitomas podem confundir-se clinicamente com lipomas e outros nódulos cutâneos por essa razão o mastocitoma tem que ser considerado dentro dos diagnósticos diferenciais de qualquer tumor da pele. Aproximadamente 30% dos mastocitomas pode apresentar ulceração (WELLE et al., 2008; DE NARDI et al., 2022) e esta característica tem sido relacionada com alto grau de malignidade e com processos de metástase ao linfonodo regional e tempos de sobrevida menores (PIERINI et al., 2019) (Figura 1).

Os mastocitomas cutâneos e subcutâneos são macroscopicamente similares e só podem ser diferenciados por histopatologia (DE NARDI et al., 2022); a localização dos mastocitomas é variável, mas as regiões corporais mais acometidas são o tronco (ŚMIECH et al., 2018; PIERINI et al., 2019; LONDON; THAMM, 2020), períneo (LONDON; THAMM, 2020), extremidades, cabeça e pescoço (PIERINI et al., 2019). Outras regiões onde pode se desenvolver mastocitoma com frequência incluem axila, região inguinal, vulva, bolsa escrotal e cauda (REYNOLDS et al., 2019). Existem relatos de casos de mastocitoma na conjuntiva (FIFE et al., 2011), cavidade oral (HILLMAN et al., 2010), ureter (STEFFEY et al., 2004), glândula salivar (CARBERRY et al., 1987), nasofaringe (KHOO; LANE; WYATT, 2017), laringe (BEAUMONT et al., 1979) e coluna vertebral (MOORE et al., 2002), porém essas localizações são pouco frequentes.



Figura 1. Fotografias de mastocitomas em localizações diversas dos pacientes atendidos no HVPA da UFRRJ no período de 2011 até 2019. **A.** Massa ulcerada em membro pélvico direito. **B.** múltiplos nódulos em ânus e base da cauda, eritematosos, não ulcerados. **C.** Massa na região perineal, não aderida, pigmentada, alopecicas e ulcerada. **D.** Massa na região inguinal, subcutânea, aderida, não ulcerada. **E.** Massa em cavidade oral, lobulada aderida, pigmentada, ulcerada. **F.** Lesões em placa no tronco do paciente e face interna da coxa, eritematosas e ulceradas (Fonte: Serviço de Oncologia Veterinária de Animais de Companhia HVPA UFRRJ).

Os mastocitomas tem tendencia a se desenvolver como lesões solitárias mas podem aparecer como formações múltiplas independentes ou como progressão de um nódulo solitário situação que é muito difícil de diferenciar clinicamente (DE NARDI et al., 2022). Os tumores de mastócitos que são bem diferenciados ou de baixo grau de malignidade normalmente são

lesões solitárias, alopecicas e de crescimento lento, podendo estar presentes e sem mudanças por meses, diferente dos mastocitomas pouco diferenciados que são lesões de crescimento rápido, ulceradas e pruriginosas que algumas vezes tem pequenas lesões perto da principal e podem estar acompanhadas de linfadenopatia regional (BLACKWOOD et al., 2012; DE NARDI et al., 2018).

Os cães com mastocitoma podem apresentar sinais clínicos associados à presença do mastocitoma devido à liberação de substâncias bioativas presentes nos grânulos dos mastócitos como histamina, heparina e proteases, classificadas como síndromes paraneoplásicas (LONDON; THAMM, 2020). Localmente essas substâncias provocam edema, ulceração e inflamação com um possível retardo na cicatrização das feridas acompanhado de anormalidades na coagulação (BLACKWOOD et al., 2012). Ocasionalmente, a manipulação mecânica durante o exame clínico causa degranulação e subsequente eritema e formação de pápulas nos tecidos circundantes ao tumor; este fenômeno tem sido referido como "sinal de Darier" e pode ocorrer espontaneamente pelo que os tutores dos cães podem descrever um aumento periódico de tamanho seguido de diminuição do tumor, esse dado desempenha um papel importante no diagnóstico clínico da neoplasia (GARCÍA, 2011; LONDON; THAMM, 2020).

Além dos sinais no local da lesão considera-se que 50% dos casos tendem a manifestar sinais clínicos sistêmicos relacionados à liberação de histamina pelos mastócitos neoplásicos que estimula os receptores H2 nas células gástricas provocando uma secreção excessiva de ácido clorídrico e hiper mobilidade gástrica, o que de forma constante tem como consequência a formação de ulcerações gástricas e duodenais, cursando com dor abdominal, hematêmese, anorexia, hematoquezia, melena e anemia (GARCÍA, 2011; BLACKWOOD et al., 2012; DE NARDI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020).

Mudanças no hemograma do paciente também podem acompanhar a presença do mastocitoma, uma marcada eosinofilia paraneoplásica foi relatada em um cão de raça Labrador que apresentava um mastocitoma metastático ($23,96 \times 10^3$ cel/ μ l) (MUSSER et al., 2018). A neuropatia periférica também foi associada ao mastocitoma, foram evidenciadas alterações histopatológicas nas fibras nervosas, incluindo desmielinização do segmento paranodal, remielinização, degeneração axonal e glóbulos de mielina, causando reflexos espinhais reduzidos ou ausentes, fraqueza ou tônus muscular reduzido, paralisia flácida e atrofia muscular

neurogênica; além disso foram relatados sinais vestibulares caracterizada por “*head tilt*” e nistagmo horizontal. Embora a patogênese das neuropatias não tenha sido elucidada, acredita-se que a origem das lesões neurológicas seja autoimune, não havendo relação com distúrbios metabólicos, nutricionais, traumáticos, infecciosos ou tóxicos (BRAUND et al., 1987; RODIGHERI et al., 2008).

2.4. Diagnóstico

A avaliação diagnóstica de cães com suspeita de mastocitoma está focada no diagnóstico definitivo por meio de exame citopatológico, histopatológico e imuno-histoquímico; definir o estadiamento clínico completo; identificar síndromes paraneoplásicas concomitantes; e avaliar os fatores prognósticos associados (NARDI et al., 2022).

2.4.1. Citologia

É uma técnica rápida, de baixo custo, não invasiva e de grande utilidade para o diagnóstico precoce (NARDI et al., 2022). O exame citológico e sua avaliação celular permitem definir diagnósticos, determinar o prognóstico, além de ser extremamente importante para escolha da terapêutica, além de diferenciar processos inflamatórios dos neoplásicos. Em casos de processos neoplásicos é possível identificar critérios de malignidade úteis para tomar decisões (BRAZ et al., 2016, 2018). O exame citológico fornece um diagnóstico em 92% a 96% dos mastocitomas (BLACKWOOD et al., 2012).

Os mastócitos esfoliam com facilidade e podem ser identificados mediante coloração metacromática dos grânulos intracitoplasmáticos. A maioria dos mastócitos neoplásicos no cão se assemelham aos seus homólogos não neoplásicos, e os mastocitomas cutâneos e subcutâneos são identificados facilmente por aspirados com agulha fina. Citologicamente, os mastocitomas são caracterizados por uma predominância de células redondas monomórficas individualizadas, com um núcleo redondo central a ligeiramente excêntrico e tipicamente muitos grânulos magentas intracitoplasmáticos (Figura 2). Esses grânulos são frequentemente denominados metacromáticos, porque exibem propriedades tintoriais diferentes das aqueles exibidos pelos próprios componentes da mancha (BLACKWOOD et al., 2012; KIUPEL; CAMUS, 2019).

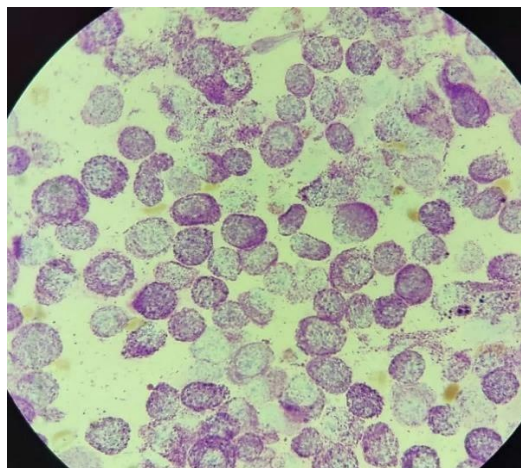


Figura 2. Citologia de mastocitoma cutâneo. Coloração Wright, objetiva 100x
Predominância de células redondas, com um núcleo redondo central a ligeiramente excêntrico e muitos grânulos intracitoplasmáticos **(Fonte: arquivo pessoal).**

Os corantes utilizados rotineiramente incluem azul de toluidina, Wright, Wright-Giemsa e Diff-Quik; os mastócitos podem não ter características típicas de coloração, por exemplo, em mastocitomas pouco diferenciados, os mastócitos neoplásicos podem ser altamente anaplásicos, resultando em características de coloração atípicas, incluindo ausência de grânulos tanto no citoplasma das células neoplásicas quanto no fundo. Uma possível explicação é a perda de diferenciação celular durante o processo de transformação maligna (STREFEZZI et al., 2009). Alternativamente, os mastócitos neoplásicos podem degranular, seja associado a trauma ou ao microambiente tumoral, resultando na ausência de grânulos fortemente corados dentro do citoplasma e uma abundância de grânulos detectáveis no fundo virando um desafio para o diagnóstico (KIUPEL; CAMUS, 2019). Outros corantes baseados na técnica Romanowski que são utilizados para a coloração de mastócitos são a May-Grünwald-Giemsa e Instant Prov, esses corantes são muito eficientes para a coloração dos grânulos dos mastócitos já que não apresentam as limitações da Diff-Quik (NARDI et al., 2022).

Os grânulos dos mastócitos contêm interleucina 5 que induz a migração de eosinófilos, por tanto é frequente encontrar grande número de eosinófilos misturados com os mastócitos além de fibroblastos que também podem observar-se na maioria dos mastocitomas em cães.

Outra característica comumente associada aos mastocitomas é a presença de colágeno, que aparece como bandas eosinófilas brilhantes cursando entre as células neoplásicas. A presença de colágeno é atribuída à indução da síntese de colágeno por mastócitos contendo triptase e quimase (KIUPEL; CAMUS, 2019). A coleta da amostra é feita com agulha fina com e sem aspiração, a agulha recomendada é de 13 × 4,5 mm (26 G) para evitar a contaminação sanguínea e aumentar a precisão do diagnóstico (NARDI et al., 2022).

A classificação em citologia é baseada em características celulares como anisocitose, pleomorfismo e hiper celularidade e critérios do núcleo como anisocariose, razão núcleo-citoplasma, figuras de mitose e células multinucleadas como podem observar-se na tabela 1 (CIFUENTES-ARIAS; OSORIO-MORALES; PEDRAZA-ORDÓÑEZ, 2021).

Tabela 1. Critérios morfológicos atualmente usados para classificação de mastocitomas caninos em citopatologia (PEDRAZA; GRANDI; ROCHA, 2011; CIFUENTES-ARIAS; OSORIO-MORALES; PEDRAZA-ORDÓÑEZ, 2021).

Grau Citológico	Critérios celulares	Critérios nucleares
Bem diferenciado	Anisocitose leve	
	Pleomorfismo leve	Anisocariose leve
	Hiper celularidade	
Moderadamente diferenciado	Anisocitose moderada	Anisocariose moderada
	Pleomorfismo moderado	Aumento moderado na razão citoplasmática nuclear
	Hiper celularidade	Figuras mitóticas atípicas moderadas
Pobrementemente diferenciado	Anisocitose marcada	Anisocariose marcada
	Pleomorfismo marcado	Aumento acentuado na razão citoplasmática nuclear
	Hiper celularidade	Figuras mitóticas atípicas aumentadas
		Células multinucleadas

Outros critérios de malignidade considerados para serem avaliados na citologia são a presença de lacunas nucleares, definidas como espaços vazios nucleares, que é um dos principais critérios de malignidade celular. A verificação da integridade da membrana nuclear é também muito importante porque uma ruptura na membrana pode causar um desarranjo acentuado da cromatina e escoamento da seiva nuclear, além disso o espessamento irregular da membrana nuclear, no entanto, o termo “irregular” é enfatizado por ser diferente do

espessamento “regular” da membrana nuclear que pode ocorrer na picnose de células em processos benignos ou não neoplásicos, por exemplo, processos inflamatórios crônicos. Para avaliar esses dois critérios de malignidade, é necessário o uso da coloração de Papanicolaou (PEDRAZA; GRANDI; ROCHA, 2011).

Outro sistema de classificação em citologia é um sistema de dois níveis (Figura 3) baseado no sistema de classificação de Kiupel em histopatologia (KIUPEL et al., 2011) e considera características como anisocariose, número de figuras mitóticas, multinucleação e granulação (Tabela 2); esse sistema de classificação tem uma sensibilidade de 86,8% e especificidade de 97,1% para avaliar a concordância entre a classificação histológica e citológica. O estadiamento citológico é promissor e pode fornecer informações pré-operatórias importantes, mas ainda é necessária validação adicional (CAMUS et al., 2016; BRAZ et al., 2018; NARDI et al., 2022).

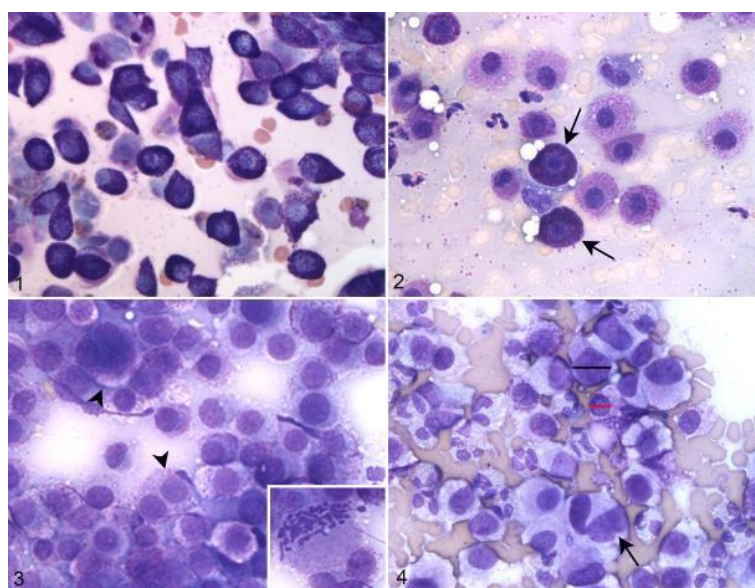


Figura 3. Sistema de classificação citológica em dos níveis para mastocitomas em cães. Coloração Wright modificada, 1 -2: Mastocitoma de baixo grau citológico. 3-4: Mastocitoma de alto grau citológico (CAMUS et al., 2016).

A citologia é também o método recomendado para a detecção de processos metastáticos aos linfonodos, no entanto, resultados falso-negativos podem ocorrer, pois a área puncionada

pode não cobrir a área afetada pelo desenvolvimento neoplásico. Portanto, linfadenectomia e avaliação histopatológica de todo o linfonodo são sempre recomendadas (NARDI et al., 2022).

Tabela 2. Critérios morfológicos usados para classificação de mastocitomas caninos no sistema de dos níveis a través de citopatologia (CAMUS et al., 2016).

Características citológicas	Alto grau	Baixo grau
Granulação	A maior parte dos mastócitos são mastócitos mal granulados	A maior parte dos mastócitos são bem granulados ou com granulação mista (mistura de células mal e bem granuladas)
Anisocariose	Marcada anisocariose com diferenças do tamanho dos núcleos em até um 50% das células que além apresentam pleomorfismo nuclear	Mínima anisocariose
Binucleação ou multinucleação	Binucleação ou multinucleação	Não
Figuras de mitose	Figura de mitose são frequentes	Não

2.4.2. Biópsia e histopatologia

A biópsia cirúrgica para análise histopatológica é necessária para diferenciar entre mastocitomas cutâneos e subcutâneos. Os mastocitomas cutâneos podem estar localizados em qualquer parte da derme e comumente estendem-se à epiderme, causando ulceração grave. Eles também podem se estender para o tecido subcutâneo. Apenas aqueles mastocitomas que estão localizados inteiramente dentro do tecido subcutâneo e são circundados por tecido adiposo são identificados como mastocitomas subcutâneos. Nas biopsias os mastócitos neoplásicos são similares aos mastócitos na citologia. Em cortes corados com hematoxilina-eosina, os mastócitos neoplásicos têm quantidades moderadas de citoplasma rosa pálido que geralmente contém grânulos cinza claro/azul abundantes (Figura 4). Os mastócitos neoplásicos podem ser compactados em camadas densas ou aparecem individualizados, comumente formando fileiras que se infiltram entre os feixes de colágeno (KIUPEL; CAMUS, 2019).

Uma análise histopatológica correta depende da qualidade da amostra coletada, bem como boas práticas de embalagem, fixação e transporte. É importante levar em consideração que biópsias incisionais podem não representar fielmente a formação, o que pode interferir tanto na identificação da localização cutânea ou subcutânea quanto na classificação e identificação de critérios e parâmetros para avaliação prognóstica. Nos casos em que a terapia citorrredutora é necessária, recomenda-se a coleta prévia de material por biópsia incisional, considerando que os protocolos citorrredutores podem alterar a avaliação do índice de proliferação celular. Nos casos em que uma biópsia incisional é necessária, recomenda-se o máximo cuidado com a manipulação do tumor, a fim de evitar a degranulação dos mastócitos que pode dificultar o diagnóstico e representa maior risco para o paciente (NARDI et al., 2022).

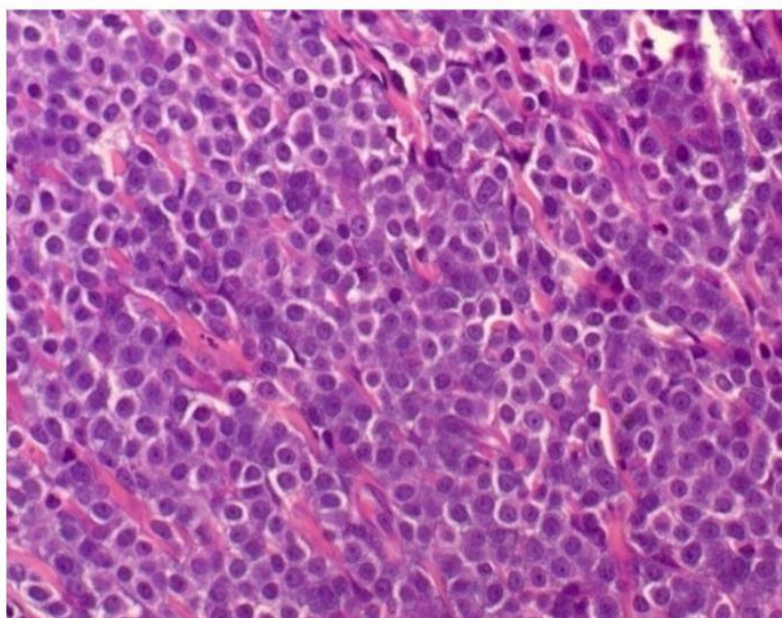


Figura 4. Histopatologia de mastocitoma de grau II. Fotomicrografia de mastocitoma canino, revelando proliferação de células redondas, com nucléolo evidente e granulação citoplasmática moderada. Coloração de hematoxilina e eosina, Objetiva: 40x (NARDI et al., 2022).

Nos casos em que é realizada uma biópsia excisional é necessário identificar as margens cirúrgicas para melhor avaliação, recomenda-se o uso de nanquim ou suturas para identificar as margens laterais e profundas; quando houver múltiplos nódulos, a apresentação deve ser preenchida separadamente com as identificações correspondentes, que permitem a análise

individual de cada lesão; o linfonodo sentinela deve ser encaminhado para exames sempre que possível e embalado separadamente para permitir investigação de metástase (KAMSTOCK et al., 2011).

Em termos de análise de margem, a realização de uma análise patológica transcirúrgica para auxiliar na excisão completa de uma formação pode ser recomendada. Não há critérios bem definidos, comprovados e publicados para definir margens livres, suspeitas ou comprometidas. Além disso, é impossível diferenciar mastócitos normais de mastócitos neoplásicos na maioria dos casos. Assim, as interpretações atuais são empíricas, embora apoiadas pela medicina baseada em evidências e, portanto, requerem mais estudos (NARDI et al., 2022).

A classificação histopatológica tem sido a principal ferramenta para que os patologistas veterinários avaliem o comportamento biológico potencial dos mastocitomas em cães, além de que é utilizada para determinar a conduta terapêutica. Os sistemas de classificação de três níveis desenvolvidos por Bostock em 1973 e Patnaik et al em 1984 foram durante muitos anos os sistemas mais comumente usados para classificar os mastocitomas cutâneos. No entanto, eles classificam os mastocitomas na ordem inversa uns dos outros, com mastocitomas bem diferenciados sendo Patnaik grau 1 e Bostock grau 3, tumores com diferenciação intermediária sendo Patnaik e Bostock grau 2 e tumores pouco diferenciados sendo Patnaik grau 3 e Bostock grau 1 (BOSTOCK, 1973; PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). Kiupel et al em 2011 desenvolveu um novo sistema de classificação em dois níveis, separando os mastocitomas em Alto e Baixo grau (KIUPEL et al., 2011).

As características histopatológicas dos três níveis do sistema de classificação do Patnaik são apresentadas a seguir:

O grau I corresponde a lesões confinadas à derme e espaços foliculares, mastócitos bem diferenciados dispostos em fileiras ou pequenos grupos, separados por fibras colágenas maduras da derme; citoplasma redondo, monomórfico, amplo e distinto, com grânulos de tamanho médio; núcleo redondo com cromatina condensada; sem evidência de edema ou necrose nem presença de figuras de mitose.

O grau II corresponde a neoplasias de moderadamente a altamente celulares, e as células neoplásicas infiltram ou substituem o tecido dérmico inferior e subcutâneo. Alguns tumores se estendem aos músculos esqueléticos ou tecidos circundantes. Células

moderadamente pleomórficas dispostas em grupos com fino estroma fibrovascular. As células neoplásicas são de redondas a ovóides com presença de células fusiformes e gigantes dispersas. A maioria das células tem citoplasma distinto com finos grânulos intracitoplasmáticos; no entanto, o citoplasma em alguns casos é indistinto e os grânulos grandes e hipercromáticos. Os núcleos são redondos a recortados com cromatina dispersa e nucléolos únicos; células ocasionais apresentam núcleos duplos. Figuras mitóticas raras, variando de 0 a 2 por campo de alta potência. Presença de áreas de edema difuso e necrose.

No grau III estão os mastocitomas com células pleomórficas, e o tecido neoplásico substituiu os tecidos subcutâneo e profundo. As células neoplásicas são pleomórficas, de tamanho médio, redondas, ovóides ou fusiformes, dispostas em folhas bem compactadas. O citoplasma é indistinto com grânulos intracitoplasmáticos finos ou grânulos que não são óbvios. O estroma é fibrovascular ou espesso e fibrocolágeno com áreas de hialinização. Os núcleos recortados a redondos vesiculados com um ou mais nucléolos proeminentes. Células binucleadas são comuns. Presença de muitas células gigantes e células multinucleadas dispersas. Figuras mitóticas também são comuns, variando de 3 a 6 células por campo de alta potência. Edema, hemorragia e necrose são frequentes (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984).

Os mastocitomas de grau I têm um excelente prognóstico a longo prazo, enquanto o grau III está associado a um prognóstico reservado a ruim devido a uma maior recorrência e taxa metastática. O comportamento biológico dos mastocitomas de grau II é mais difícil de prever; de facto, a maioria segue uma evolução clínica benigna, enquanto cerca de 20% se caracterizam por um comportamento clínico agressivo o que representa uma limitação para esse sistema. Outra limitação é a subjetividade de sua aplicação por diferentes patologistas com a resultante variabilidade na atribuição dos graus principalmente para mastocitomas de grau I e II. Para superar essas duas limitações, um sistema de classificação de dois níveis foi desenvolvido por Kiupel em 2011 (BERLATO et al., 2021).

O sistema de Kiupel divide os mastocitomas em duas categorias baseadas em critérios morfológicos celulares que incluem figuras mitóticas, multinucleação, núcleos bizarros e cariomegalia (KIUPEL et al., 2011). O alto grau é outorgado a qualquer tumor que apresente alguns dos seguintes critérios:

1. Nas regiões de maior atividade mitótica devem evidenciar-se ≥ 7 figuras de mitose em 10 campos de alta potência

2. As células multinucleadas (mais de 3 núcleos) devem estar presentes \geq de 3 células multinucleadas em 10 campos de alta potência.
3. Os núcleos bizarros com recortes marcados, segmentação e forma irregular devem estar presentes \geq de 3 células multinucleadas em 10 campos de alta potência.
4. Cariomegalia: pelo menos 10% das células neoplásicas variam em 2 vezes.

Os tumores que não apresentam nenhuma das anteriores características são denominados tumores de baixo grau.

Uma vantagem do sistema de graduação de Kiupel é que os critérios para atribuição do grau são definidos de forma mais objetiva, aumentando a concordância entre os patologistas. A limitação desse sistema de classificação é que ele não leva em consideração o padrão de crescimento ou extensão do mastocitoma (infiltrativo ou não) (BERLATO et al., 2021).

Um estudo que comparou os dois sistemas de classificação e concluiu que o sistema de dois níveis proposto por Kiupel tem um valor prognóstico superior para os mastocitomas cutâneos de cães e esse sistema parece capaz de fornecer aos oncologistas as informações mais importantes de quais cães requerem terapia adicional para tratar doenças sistêmicas, no entanto o estudo também confirma que a gradação histológica por si só é incapaz de prever o comportamento biológico pelo que é necessário complementar o diagnóstico com métodos moleculares (SABATTINI et al., 2015).

2.4.3. Avaliação dos linfonodos

A avaliação dos linfonodos é importante para identificar processos de metástase e embora a metástase no linfonodo esteja correlacionada com um pior prognóstico a abordagem diagnóstica para detectar metástase é um desafio. O primeiro desafio é a identificação do linfonodo correto já que o linfonodo regional que é o mais próximo anatomicamente pode não ser o sentinela de drenagem; para identificar qual é o linfonodo sentinela (SLNs) existem diversas técnicas como o mapeamento com corante azul de metileno, linfocintilografia (WORLEY, 2014), linfografia/linfangiografia por tomografia computadorizada (TC) (LIPTAK; BOSTON, 2019; GRIMES et al., 2020; RANDALL et al., 2020; LAPSLEY et al., 2021) e ultrassom com contraste (FOURNIER et al., 2021).

O mapeamento com azul de metileno é uma técnica transcirúrgica utilizada para mapeamento linfático; o azul de metileno estéril diluído com solução salina estéril é injetado peritumoralmente em quatro quadrantes, cinco minutos antes do início da cirurgia para permitir

a absorção linfática peritumoral e facilitar ao cirurgião a identificação do drenagem dos tratos linfáticos do tumor e, ao seguir esses tratos, permite identificação do linfonodo sentinela (WORLEY, 2014; BEER et al., 2018; LIPTAK; BOSTON, 2019).

A linfocintilografia regional é uma técnica de medicina nuclear que deve ser feita com sedação ou anestesia geral dependendo do caso; é injetado peritumoralmente um colóide de enxofre de tecnécio filtrado com microcuries e são capturadas imagens em uma câmera gama de tomografia computadorizada por emissão de fóton único usando janelas de aquisição de imagem dinâmica de 120 segundos em série a cada 5 min até que o primeiro linfonodo drenado é visualizado. Marcadores de cobalto são usados para referência e interpretação de imagem, algumas vezes é necessário obter vistas ortogonais para melhor localização dos linfonodos (WORLEY, 2014).

A radiografia é uma ferramenta útil para a identificação de linfonodos sentinelas; a linfografia radiográfica é feita a través da injeção de contrastes radiopacos de forma direta nos vasos linfáticos ou de forma indireta a través de uma injeção peritumoral, técnica que é mais valiosa para a detecção de linfonodos sentinelas em pacientes com câncer. Após a injeção, o contraste iodado é drenado para o linfonodo sentinela através do sistema linfático. Tirar radiografias em série minutos após a injeção permite delinear esses vasos linfáticos e os linfonodos sentinela. Os linfonodos permanecem radiopacos por vários dias a meses até que o contraste seja eliminado do sistema linfático. Os agentes de contraste também podem ser injetados diretamente no tecido tumoral, embora não seja recomendado devido ao risco de dano capsular e subsequente propagação de células tumorais. As principais vantagens da linfografia radiográfica são a disponibilidade geral do equipamento, o procedimento não invasivo e a técnica simples tornando-a viável para a prática clínica (BEER et al., 2018).

A TC é frequentemente usada na clínica para avaliar linfonodos para doença metastática. Este método tem demonstrado utilidade clínica na avaliação de metástases linfonodais (LIPTAK; BOSTON, 2019). A linfografia por TC é uma técnica de contraste que mostra com precisão a localização anatômica dos linfonodos sentinela e os detalhes do tecido circundante; ao visualizar diretamente os vasos linfáticos aferentes do linfonodo sentinela, uma diferenciação entre esse linfonodo e os linfonodos distantes é possível sem sobreposição radiográfica devido à imagem tridimensional que proporciona a TC. A técnica de injeção, os agentes de contraste, sua captação e distribuição linfática (10 min é o tempo de varredura ideal) e possíveis complicações são semelhantes entre TC e linfografia radiográfica. Um dos agentes

de contraste usados é o Iopamidol (LAPSLEY et al., 2021) além do Iodo que também parece ter resultados promissores na identificação dos linfonodos sentinelas (RANDALL et al., 2020).

Diferentes padrões de opacificação dos linfonodos foram descritos e a captação do contraste por parte dos linfonodos foi comparada com sua aparência histopatológica: (1) um realce bastante homogêneo devido à distribuição uniforme do agente de contraste, (2) um padrão de distribuição heterogêneo do contraste, opacificação apenas da periferia do linfonodo sentinela ou opacificação de áreas únicas e (3) falta de captação de contraste no linfonodo sentinela; uma distribuição homogênea de contraste é observada em linfonodos livres de metástases, um padrão heterogêneo é associado a metástases (BEER et al., 2018).

O ultrassom com contraste melhorado (CEUS) é usado principalmente para examinar o fluxo sanguíneo e a perfusão tecidual de órgãos abdominais como o fígado, baço, pâncreas ou rins. Devido ao problema de que o ultrassom convencional não pode detectar com precisão os linfonodos sentinelas devido à incapacidade de visualizar os vasos linfáticos aferentes, o CEUS parece ser uma ferramenta útil para o mapeamento do linfonodo sentinela. Para tornar os vasos linfáticos visíveis, agentes de contraste ultrassonográfico, que consistem em pequenas microbolhas cheias de gás presas em um invólucro lipídico, são injetados no tecido peritumoral (BEER et al., 2018; FOURNIER et al., 2021).

A alta afinidade do contraste lipídico com o sistema linfático faz que ele entre nos vasos linfáticos segundos após da injeção e drene para o linfonodo sentinela dentro de alguns minutos, dependendo da distância entre o local da injeção e o linfonodo. Realçados pela escala de cinza ou ultrassom Doppler, eles começam a oscilar, refletindo assim um sinal várias vezes maior que o de tecido corporal. O agente de contraste que tem sido testado em cães é o SonoVue® (Bracco Imaging, Milão, Itália), baseado em microbolhas estabilizadas de hexafluoreto de enxofre envoltas por um invólucro fosfolipídico com tamanho médio de 2,5 µm (BEER et al., 2018; FOURNIER et al., 2021).

2.4.4. Marcadores moleculares

Muitos estudos tem usado a imuno-histoquímica como uma ferramenta para analisar marcadores que auxiliam no diagnóstico diferencial e na compreensão do comportamento biológico do mastocitoma, no entanto outras técnicas moleculares também são utilizadas para identificação de marcadores prognósticos (DE BIASE et al., 2021); os marcadores mais

utilizados na avaliação prognóstica dos mastocitomas em cães são o KIT (c-kit) e o Ki-67 (índice proliferativo) (NARDI et al., 2022).

2.4.4.1. KIT

O proto-oncogene c- kit foi identificado pela primeira vez como o componente oncogênico do vírus do sarcoma felino Hardy-Zuckerman 4 (HZ4-FeSV), de transformação aguda e deficiente, que induz o fibrossarcoma multicêntrico no gato doméstico. O c-kit codifica o KIT, um receptor de tirosina quinase transmembranar que está estruturalmente relacionado aos receptores para fator de crescimento derivado de plaquetas, fator 1 estimulador de colônias e ligante Flt-3; o ligante para KIT é o fator de células tronco e promove desenvolvimento de mastócitos a partir de precursores hematopoiéticos e pode atuar sinergicamente com várias citocinas diferentes para estimular o desenvolvimento e diferenciação adicional de várias células progenitoras da medula óssea. Além de induzir o desenvolvimento de mastócitos, as interações KIT/SCF promovem a sobrevivência, proliferação, diferenciação tecidual, quimiotaxia e atividade secretora de mastócitos (LONDON et al., 1999; TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2020).

A proteína KIT é composta por um domínio extracelular (codificado pelos exons 1–9), uma porção transmembrana (exon 10), justamembrana (exons 11 e 12), citoplasmática (exon 13) e lóbulos fosfotransferase (exon 17). Mutações em domínios extracelulares são chamadas de mutações do tipo regulador, enquanto mutações em domínios intracelulares (exons 13-21) são chamadas de mutações do tipo enzimático (CHEN et al., 2022; NARDI et al., 2022).

A expressão do receptor KIT em mastocitomas e a detecção do receptor KIT é feita mediante imuno-histoquímica; diferentes padrões de expressão de KIT têm sido descritos em mastócitos normais e em mastócitos neoplásicos. Mastócitos normais e alguns mastócitos neoplásicos expressam KIT principalmente na membrana celular, enquanto em muitos mastócitos neoplásicos o KIT se acumula no citoplasma, principalmente adjacente ao núcleo. Para a realização da técnica as amostras do tecido tumoral são fixadas em formalina ao 10% e realizados cortes de 5µm esparafinizados com xileno, reidratados em etanol graduado e enxaguados em água destilada, a recuperação antigênica é obtida pela incubação de lâminas em solução de recuperação antigênica em um vaporizador por 20 minutos; um anticorpo humano anti-c-kit (anticorpo de coelho) é utilizado para identificar o KIT (KIUPEL et al., 2004; WEISHAAR et al., 2018).

A coloração que exibem as células pode ajudar a diferenciar mastócitos neoplásicos e não neoplásicos e dependendo do padrão de imunocoloração (Figura 5) é possível prever o comportamento biológico do tumor. Segundo um estudo realizado por Kiupel et al em 2011 o padrão de coloração KIT I consiste em mastócitos neoplásicos (>90% das células) que coram ao longo da membrana citoplasmática e apenas uma coloração citoplasmática mínima; a intensidade de coloração varia de mastócitos neoplásicos com coloração extremamente fraca associada à membrana e sem coloração citoplasmática a células com coloração intensa associada à membrana e pequenas quantidades de coloração citoplasmática.

O padrão de coloração KIT II é caracterizado por mastócitos neoplásicos com uma coloração citoplasmática intensa focalmente agrupada que pode ser visualizada como um pontilhado em todo o citoplasma. Essas células não apresentam coloração da membrana. O padrão de coloração KIT III são mastócitos neoplásicos (>10% das células) com coloração citoplasmática difusa o que não permite ver todas as características do citoplasma. Ambos os padrões II e III são associados a uma diminuição do tempo de sobrevida global e a um aumento da incidência de recorrência local (KIUPEL et al., 2004; KIUPEL; CAMUS, 2019; DE BIASE et al., 2021).

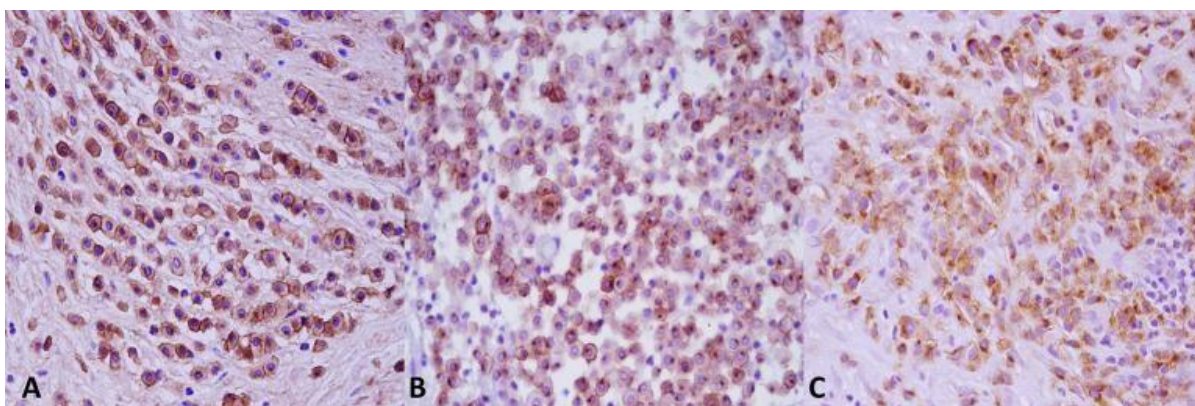


Figura 5. Padrões de imunocoloração do KIT. (A) Padrão 1, membrana associada. (B) Padrão 2, focal citoplasmático (paranuclear). (C) Padrão 3, citoplasmático difuso, contracoloração de hematoxilina. Ampliação original, 40X (DE BIASE et al., 2021).

2.4.4.2. Ki-67

A Ki67 é uma proteína nuclear que é expressa em todas as fases do ciclo celular, mas não é expressa em células não cíclicas. O número relativo de células positivas para Ki67 em

um determinado tecido é usado para determinar o índice de proliferação ou o número relativo de células ativamente envolvidas no ciclo celular (fração de crescimento) (WEBSTER et al., 2007). Este marcador imuno-histoquímico tem sido utilizado em estudos tumorais de cães e humanos, como uma medida da taxa de proliferação celular e em alguns tumores caninos, incluindo o mastocitoma, a frequência de expressão de Ki-67 por células neoplásicas está significativamente associada ao prognóstico tumoral (MAGLENNON et al., 2008; BERLATO et al., 2013; FONSECA-ALVES et al., 2015).

Para a coloração imuno-histoquímica são necessárias seções de 5µm do tecido fixado em formol e embebido em parafina. Após esse processo os cortes devem ser desparafinizados em xileno, reidratadas em etanol graduado e enxaguadas em água destilada. O anticorpo monoclonal MIB-1 de camundongo é usado para detectar a expressão da proteína Ki-67 em uma diluição de 1:50 por 32 minutos. Para a avaliação imuno-histoquímica de Ki67, as áreas com a maior proporção de mastócitos neoplásicos imunopositivos é identificada em aumento de 100x usando um microscópio de luz. Após a identificação de áreas altamente proliferativas, o número de células imunopositivas presentes em uma área de grade de 10 × 10 mm deve ser contado usando um retículo de grade de 1 cm² 10 × 10 com ampliação de 400x. O número de células imunopositivas por área da grade é avaliado em 5 campos de alta potência e posteriormente calculado para obter um índice médio da fração de crescimento no caso da imunocoloração Ki-67 (WEBSTER et al., 2007). Um valor de Ki-67 > 23 células positivas em cinco campos de maior ampliação está associado a maiores riscos de recorrência e desenvolvimento de metástases (NARDI et al., 2022).

2.4.4.3. PCNA

O antígeno nuclear da célula proliferativa (PCNA) é a subunidade auxiliar da DNA polimerase delta e está envolvido em vários processos adicionais no núcleo, principalmente na replicação do DNA; as funções do PCNA também estão associadas a outros processos celulares vitais, como remodelamento da cromatina, reparo do DNA, coesão entre cromátides-irmãs e controle do ciclo celular. Os níveis de expressão de PCNA estão associados à proliferação ou transformação neoplásica. O controle da replicação do DNA é um elemento chave para o bom funcionamento de uma célula e pode influenciar a estabilidade do genoma. A duplicação do material genético que ocorre na fase S do ciclo celular deve ser coordenada com outros

processos celulares, por exemplo, a mitose. A replicação do DNA é regulada principalmente na etapa de iniciação como resultado da cooperação entre diferentes vias de sinalização que controlam o ciclo celular (STRZALKA; ZIEMIENOWICZ, 2011).

O processo de imunocoloração segue as mesmas etapas que a coloração para identificação de Ki-67 e são usados anticorpos monoclonais de camundongo anti-PCNA. Para a avaliação imuno-histoquímica de Ki67, as áreas com a maior proporção de mastócitos neoplásicos imunopositivos é identificada em aumento de 100x usando um microscópio de luz. Após a identificação de áreas altamente proliferativas, o número de células imunopositivas presentes em uma área de grade de 10×10 mm deve ser contado usando um retículo de grade de 1 cm^2 10×10 com ampliação de 400x. O número de células imunopositivas por área da grade foi é avaliado em 5 campos de alta potência e posteriormente calculado para obter um índice médio da fase de síntese (fase S) porque embora PCNA tenha uma meia-vida estendida e esteja envolvido em múltiplas funções nucleares, a expressão máxima de PCNA é comumente observada na fase S do ciclo celular (WEBSTER et al., 2007).

Estudos tem demonstrado que o PCNA pode atuar como um marcador prognóstico independente para mastocitomas e outros tumores de células redondas, porém outros estudos recomendam a avaliação conjunta com outros índices de proliferação celular como Ki-67 e AgNORs (BERGMAN et al., 2004; WEBSTER et al., 2007; TIWARI et al., 2016).

2.4.4.4. AgNOR

A região organizadora do núcleo argirofílica (AgNOR) está formada por subestruturas proteicas nucleolares que estão envolvidas na transcrição do RNA ribossômico. AgNOR é um marcador de proliferação celular que em combinação com outros marcadores previamente mencionados se correlacionam fortemente com a sobrevida de pacientes caninos com mastocitoma e recorrência local do tumor (WILLMANN et al., 2021).

As AgNORs podem ser identificados em cortes histológicos como discretos focos nucleolares pretos com um método de coloração à base de prata, devido à afinidade pela prata das proteínas associadas. A quantidade de AgNORs por núcleo tem mostrado estar correlacionada com a taxa de proliferação celular ou com o tempo de duplicação celular *in vitro* e com a taxa de crescimento tumoral *in vivo*. A coloração histoquímica AgNOR é realizada usando uma técnica de coloração de prata, cortes de $5 \mu\text{m}$ de tecido fixado em formol e

embebido em parafina são cortados, desparafinizados em xileno, reidratados em etanol graduado e enxaguados em água destilada. As lâminas são incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente no escuro com solução de coloração AgNOR feita na hora, consistindo em 0,02 g de gelatina em 1 ml de ácido fórmico a 1% e 1 g de nitrato de prata em 2 ml de água destilada. Após a coloração AgNOR, as lâminas são lavadas com água destilada, desidratadas com etanol graduado e xileno e cobertas com lamela (WEBSTER et al., 2007).

As contagens de AgNOR são determinadas contando 100 mastócitos neoplásicos selecionados aleatoriamente ao longo do tumor em aumento de 1000 ×, contando o número de AgNORs dentro de cada núcleo individual, e calculando a média das contagens dentro dessas 100 células neoplásicas (SMITH et al., 2015).

2.4.4.5. Outros marcadores

Outros marcadores moleculares têm sido estudados, no entanto a utilidade clínica ainda não está bem estabelecida já que os resultados são controversos, por exemplo o TP53 é um gene supressor de tumor que desempenha um papel central na regulação da proliferação celular, estabilidade genômica e morte celular programada. Mutações no gene TP53, principalmente em seu domínio de ligação ao DNA (exons 5-8), foram descritas em uma variedade de tumores humanos e caninos, no entanto, a análise do status da mutação TP53 no mastocitoma canino não está bem dilucidada e os estudos revelam que as mutações TP53 parecem não ser fatores prognósticos úteis para o mastocitoma canino (VOZDOVA et al., 2019).

O ácido ribonucleico (RNA) é um indicador ideal das mudanças de expressão genética dinâmica em uma célula; assim, surgiu como um recurso para descobrir novos biomarcadores. Vários autores exploraram recentemente o papel do c-KIT RNA mensageiro (mRNA) como um potencial marcador biológico e prognóstico para mastocitomas caninos, avaliando seus níveis de expressão por reação em cadeia da polimerase (PCR) no sangue ou tecido neoplásico. A detecção e medição da expressão do mRNA com técnicas tradicionais que requerem o isolamento de células únicas de seu contexto nativo, como a PCR, podem mascarar as variações célula a célula na expressão gênica e podem resultar na perda de informações importantes especialmente na relação espacial das células analisadas (GIANTIN et al., 2012a; DE BIASE et al., 2021).

RNAScope é um kit comercial disponível de fluorescência de RNA in situ que permite a visualização de moléculas únicas de RNA em células individuais em uma variedade de tipos de amostras, incluindo tecido embebido em parafina fixado em formalina; um estudo realizado com esse kit comercial concluiu que existe uma correlação estatisticamente significativa entre o grau histológico e a expressão do c-KIT mRNA, porém não foram encontradas correlações entre o padrão de distribuição imuno-histoquímica da proteína KIT e a expressão do c-KIT mRNA. São necessários mais estudos do papel potencial e significativo como um marcador biológico prognóstico e preditivo para o resultado clínico dos mastocitomas caninos (DE BIASE et al., 2021).

2.5. Estadiamento dos pacientes com mastocitoma

Uma vez estabelecido o diagnóstico mastocitoma, os procedimentos de estadiamento podem determinar a disseminação da doença em vários órgãos. O estadiamento clínico inclui exame físico completo, exames hematológicos e bioquímica sanguínea, citologia aspirativa com agulha fina de linfonodos regionais (mesmo estejam de tamanho normal), ultrassonografia abdominal (com ou sem aspiração com agulha fina de fígado e baço) e radiografia torácica (WARLAND et al., 2014; LONDON; THAMM, 2020). A determinação de linfonodos sentinelas (SLNs) para aspiração, em vez de selecionar o linfonodo tributário com base na localização anatômica é o método mais eficiente e na maioria dos cães, os mastocitomas inicialmente se espalham para os SLNs, depois para o baço e o fígado e, finalmente, para outros órgãos viscerais e, em alguns casos, para a medula óssea; o envolvimento pulmonar é muito raro nos cães com mastocitoma cutâneo (CARTAGENA-ALBERTUS et al., 2019; WILLMANN et al., 2021).

Somente nos casos que apresentem anormalidades significativas no hemograma ou envolvimento visceral é recomendado realizar exame da medula óssea, pode ser citologia (esfregaço) ou histopatologia, nos demais casos o análise da medula óssea não é clinicamente útil já que a maior parte dos casos não terão infiltração da medula na primeira apresentação da neoplasia (MARCONATO et al., 2008; LONDON; THAMM, 2020; WILLMANN et al., 2021).

Com base nos resultados do exame clínico e os exames de laboratório os mastocitomas são classificados segundo o sistema de classificação clínica da Organização Mundial da Saúde

(OMS) publicado em 1980 (OWEN, 1980); esse sistema tem quatro estágios baseados no envolvimento de linfonodos e órgãos, porém, não sempre está relacionado com o prognóstico do paciente, já que há controvérsia sobre o prognóstico de pacientes com múltiplos mastocitomas porque é incerto se este fenômeno representa uma forma atípica de metástase ou múltiplos tumores não relacionados surgindo independentemente; por essa razão um sistema de classificação mais recente foi desenvolvido incluindo um estágio adicional com mastocitomas cutâneos disseminados/múltiplos (≥ 3 tumores) sem acometimento de órgãos nem linfonodos como pode-se observar na Tabela 3. Alguns autores incluem o estágio 0 que corresponde com um tumor não extirpado completamente da derme, identificado histologicamente, sem envolvimento de linfonodos regionais (LONDON; THAMM, 2020; WILLMANN et al., 2021; NARDI et al., 2022).

Tabela 3. Sistema modificado de estadiamento para mastocitomas cutâneos em cães (WILLMANN et al., 2021).

Estágio clínico	Critérios
Estágio I	Tumor único, sem comprometimento de linfonodos regionais.
Estágio II*	Tumores múltiplos/disseminados (≥ 3), sem envolvimento de linfonodos regionais.
Estágio III	Tumor único, com comprometimento de linfonodos regionais.
Estágio IV	Tumores grandes e infiltrativos, sem delineamento, ou múltiplos tumores (≥ 3), com envolvimento de linfonodos regionais
Estágio V	Qualquer tumor com metástase à distância, incluindo invasão da medula óssea e presença de mastócitos no sangue periférico

* Em comparação com o sistema de estadiamento original da OMS, foi incluído o Estágio II apresentando múltiplos tumores cutâneos.

2.6. Abordagem terapêutica

A principal modalidade terapêutica para mastocitoma cutâneo em cães é a excisão cirúrgica que deve ser realizada nos casos que seja possível, de acordo com as condições clínicas e estadiamento do paciente; a cirurgia dos mastocitomas menos graves (baixo grau) pode ser o único tratamento requerido para uma cura completa. O tratamento cirúrgico consistena excisão da massa neoplásica com margens de segurança adequadas para prevenir a recorrência pós-cirúrgica do tumor, mas a excisão cirúrgica dos mastocitomas garantindo

margens de segurança em todos os lados da massa tumoral nem sempre é fácil ou possível de ser realizada, além que os tumores de alto grau precisam de uma modalidade combinada com radioterapia e quimioterapia (OLIVEIRA et al., 2020; BELLAMY; BERLATO, 2022; NARDI et al., 2022).

2.6.1. Cirurgia

Embora a cirurgia seja a base da terapia para mastocitoma e seja curativa em uma grande porcentagem dos casos, a inflamação, o edema peritumoral e a localização do tumor muitas vezes representam um desafio para o cirurgião no momento de realizar a excisão cirúrgica do mastocitoma especialmente em grandes massas tumorais. Em alguns tumores presentes nos membros a amputação e consequentemente, a ressecção completa da massa tumoral, respeitando as margens de segurança, representa uma opção agressiva que potencialmente compromete a qualidade de vida e bem-estar do paciente, devendo por isso ser cuidadosamente ponderada (OLIVEIRA et al., 2020).

A maioria dos mastocitomas caninos não são biopsiados antes da excisão devido ao risco de degranulação, de modo que o grau histológico é frequentemente desconhecido no momento da cirurgia. Comumente, a extensão da doença macroscópica é determinada pela palpação manual, que tem uma concordância interobservador muito pobre, e raramente por imagem avançada (SELMIC; RUPLE, 2020). A doença microscópica de mastócitos pode se estender além das margens tumorais macroscópicas palpáveis, portanto, tradicionalmente, margens amplas de 2 a 3 cm lateralmente e um plano fascial de profundidade têm sido recomendadas para ressecção de todos os mastocitomas, independente do grau histopatológico e dos fatores prognósticos associados (SIMPSON et al., 2004; GARRETT, 2014), no entanto, outros estudos têm indicado diferentes abordagens relacionadas a fatores prognósticos específicos, principalmente estadiamento clínico e gradação histopatológica (NARDI et al., 2022).

A aplicação de margens proporcionais foi sugerida inicialmente como alternativa conservadora para cães acometidos por mastocitoma e que nunca tem sido submetidos intervenção cirúrgica. Nesses casos a proposta é ressecar os tumores com margens laterais equivalentes ao maior diâmetro medido do tumor e uma profundidade mínima de um plano fascial bem definido profundamente ao tumor. Os resultados obtidos nesse estudo foram

satisfatórios, porém, uma porcentagem de pacientes tiveram uma excisão incompleta da neoplasia (PRATSCHKE et al., 2013). Mais recentemente as margens proporcionais ao diâmetro do tumor foram reavaliadas e foi concluído pelos autores que são uma boa alternativa para a excisão de mastocitomas relativamente pequenos (< 2cm) e de baixo grau (CHU et al., 2020; ITOH et al., 2021).

O conceito foi adaptado, sendo recomendado para tumores de grau 1 ou 2 maiores a 2cm de diâmetro uma margem lateral com limite superior de 2 cm e uma margem de segurança profunda do plano fascial, proporcionando efetivo controle local da doença (CHU et al., 2020; SAUNDERS et al., 2021). Nos tumores de alto grau o grau III a cirurgia como monoterapia não é uma alternativa muito viável já que independentemente das margens cirúrgicas utilizadas há um alto risco de recorrência local do mastocitoma (DONNELLY et al., 2015; NARDI et al., 2022).

Em algumas localizações anatômicas não é possível conservar umas margens tão estritas é por isso que se o mastocitoma está localizado no escroto, são realizadas orquiectomia e ablação da bolsa testicular, e quando o prepúcio está envolvido, a penectomia associada à uretostomia é recomendada; no caso dos tumores nos membros, deve ser considerada a amputação ou exérese tumoral, associada a técnicas reconstrutivas como retalhos subdérmicos ou axiais de avanço, rotação, transposição e interpolação, ou enxertos livres que possam ajudar a cobrir o defeito (NARDI et al., 2022). Nos casos onde os mastocitomas estão localizados nas orelhas dos cães, conchectomia parcial ou total é recomendada, no entanto os mastocitomas de alto grau tem risco de recorrência local mesmo se são ressecados cirurgicamente (SCHWAB et al., 2014).

A linfadenectomia associada à excisão cirúrgica do tumor pode ser um procedimento profilático ou pode fazer parte da terapia se existe evidência de metástase ao linfonodo (SABATTINI et al., 2021). A metástase ao linfonodo é um indicador de prognóstico negativo bem conhecido em mastocitomas cutâneos caninos devido a que isso implica um maior risco de disseminação à distância e necessidade de quimioterapia adjuvante, independentemente das características do tumor primário, como grau histológico e índices de proliferação. A detecção precoce de metástases ganglionares é fundamental para a pronta e adequada proposta terapêutica, bem como para o correto estadiamento e prognóstico (FERRARI et al., 2018) e a palpação não oferece informação fiável assim como a citologia tem valor limitado na previsão de metástase já que foi associada a uma alta proporção de resultados falsos positivos e

negativos, além de que todos os linfonodos não são viáveis para realizar aspiração (KU; KASS; CHRISTOPHER, 2017).

A histopatologia é o padrão ouro e a extirpação do linfonodo regional deve ser sempre realizada para se obter um correto estadiamento da doença, mesmo em ausência de suspeita clínica de metástase (FERRARI et al., 2018). Existe evidência de que os mastocitomas de baixo grau, submetidos à excisão cirúrgica do tumor primário e linfadenectomia eletiva do linfonodo regional apresentam um melhor prognóstico e não requerem de terapias adjuvantes (MARCONATO et al., 2020). A linfadenectomia deve ser sugerida também em cães que apresentam cicatrizes de excisão prévia de tumor sólido, considerando que é necessário conhecer o estado metastático para o estadiamento do paciente (GARIBOLDI et al., 2022). Ante a evidência de metástase a linfadenectomia regional tem potencial terapêutico já que tem mostrado diminuição do risco de recorrência local e desenvolvimento de metástases a distância (MARCONATO et al., 2020).

Durante o procedimento cirúrgico se devem ter alguns cuidados para evitar a implantação do tumor, é por isso que se a remoção do tumor é realizada antes da remoção do linfonodo, recomenda-se a troca do material e campos cirúrgicos. Assim mesmo quando é realizada a linfadenectomia nos linfonodos intracavitários, se deve avaliar o risco e o benefício em cada caso, já que a localização dos linfonodos pode complicar o procedimento cirúrgico e gerar maior risco para o paciente (NARDI et al., 2022).

2.6.2. Radioterapia

Embora a cirurgia seja o tratamento de escolha para os mastocitomas já que é curativo quando as margens estão completas, porém a excisão completa não é possível em todos os casos pelo que a terapia adjuvante é necessária; as linhagens de células tumorais de mastócitos são de radiosensibilidade média, em comparação com uma variedade de outras linhas de células tumorais em cães, porém, a radiação tem sido usada há muitos anos e tem demonstrado eficácia para tumores de mastócitos em cães (TURREL et al., 1988; LADUE et al., 1998; CHAFFIN; THRALL, 2002). A radiação adjuvante é considerada padrão de tratamento para mastocitomas de graus I e II incompletamente excisados quando a cirurgia de revisão não é possível e as taxas de recorrência são baixas após a radioterapia adjuvante em casos de mastocitomas cutâneos e subcutâneos (6,6%) (MASON et al., 2021).

O uso da radioterapia como terapia profilática em linfonodos regionais com alto risco de metástase tem tido resultados controversos; Poirier et al e 2006 não encontrou nenhuma diferença na taxa de sobrevida global entre os cães que receberam e não receberam irradiação profilática do linfonodo regional (POIRIER et al., 2006), porém estudos mais recentes confirmam que a irradiação profilática em cães com mastocitomas de alto grau é benéfica e melhora o resultado clínico (MENDEZ et al., 2020).

Dose biológica efetiva (BED) é um conceito que define as prescrições de radiação em relação aos seus efeitos agudos (Gy 10) e tardios (Gy 3) no tumor e nos tecidos e é mais apropriadamente usado para descrever protocolos do que a dose total. A radiosensibilidade é influenciada por vários fatores e pode variar amplamente entre os tumores, mesmo aqueles de histopatogênese semelhante (MASON et al., 2021).

A radioterapia em cães com mastocitoma pode ser realizada com protocolos definitivos (consistindo de 12–19 frações realizadas 3–5 vezes por semana), antes da cirurgia, ou no pós-operatório em casos de ressecção incompleta, ou com protocolos paliativos (3–6 frações realizadas 1 vez por semana) em para reduzir parcialmente o volume do tumor e controlar a dor (NARDI et al., 2022). Vários protocolos de radiação adjuvantes são relatados para cães com MCT, com doses totais entre 48 e 57 Gy em frações diárias alternadas de 3 a 4 Gy (MASON et al., 2021).

A dificuldade de acesso aos equipamentos de radioterapia, os custos financeiros associados e as frequentes reações cutâneas adversas agudas associadas aos protocolos de radioterapia, principalmente na face e no períneo, devem ser levados em consideração antes de decidir realizar tratamentos de irradiação (OLIVEIRA et al., 2020). Os efeitos colaterais agudos decorrentes da radioterapia incluem eritema e depilação na área tratada, que se iniciam a partir da segunda semana de tratamento. Alopecia, hiperpigmentação e espessamento da pele na área afetada também podem ser vistos como efeitos tardios (NARDI et al., 2022).

Os efeitos colaterais da toxicidade são avaliados mediante o esquema de pontuação de morbidade aguda e tardia por radiação Grupo de Oncologia e Radioterapia Veterinária (VRTOG) estabelecido em 2001 e que pode observar-se na tabela 4 (LADUE; KLEIN, 2001).

Tabela 4. Esquema de pontuação de morbidade aguda por radiação do Grupo de Oncologia e Radioterapia Veterinária.

Órgão/tecido	0	1	2	3
Pele	Sem mudança	Eritema, descamação seca, alopecia.	Descamação úmida irregular sem edema.	Descamação úmida confluenta com edema e/ou ulceração, necrose, hemorragia.
Membranas mucosas/Cavidade oral	Sem mudança	Injeção sem mucosite.	Mucosite irregular com paciente aparentemente sem dor.	Mucosite fibrinosa confluenta necessitando de analgesia, ulceração, hemorragia, necrose.
Olhos	Sem mudança	Conjuntivite leve e/ou injeção escleral.	Cerato conjuntivite seca, conjuntivite moderada ou irite necessitando de terapia.	Ceratite grave com ulceração da córnea e/ou perda de visão, glaucoma.
Orelhas	Sem mudança	Otite externa leve com eritema, prurido e descamação.	Otite externa moderada requerendo medicação tópica.	Otite externa grave com secreção e descamação úmida.
Gastrointestinal	Sem mudança	Mudança nos hábitos intestinais, desconforto retal.	Diarreia que requer medicamentos parassimpatolíticos, desconforto retal que requer analgesia.	Diarreia que requer apoio parenteral, secreção sanguinolenta que requer atenção médica, fístula, perfuração.
Geniturinário	Sem mudança	Mudança na frequência de micção que não requer medicação.	Mudança na frequência de micção necessitando de medicação.	Hematúria macroscópica ou obstrução.
SNC	Sem mudança	Sinais neurológicos menores que só precisa terapia com prednisona.	Sinais neurológicos que precisam tratamento além da prednisona.	Comprometimento neurológico grave, como paralisia, coma.
Pulmão	Sem mudança	Infiltrado alveolar; tosse sem necessidade de tratamento.	Infiltrado alveolar denso; tosse requer tratamento.	Dispneia.

2.6.3. Quimioterapia

A quimioterapia é convencionalmente recomendada para o controle de mastocitomas metastáticos com alto risco de metástase nos casos em que a excisão cirúrgica completa não é alcançada. Embora a classificação histopatológica seja considerada o critério mais confiável de

valor prognóstico em mastocitomas, outros fatores prognósticos devem ser considerados ao tomar decisões sobre quimioterapia, como atividade proliferativa, localização do tumor e presença de múltiplos tumores (OLIVEIRA et al., 2020; NARDI et al., 2022).

A quimioterapia pode também ser usada no pré-operatório com a finalidade de fazer citorredução do tumor para um controle local mais adequado; prednisolona tem sido usada para citorredução obtendo uma taxa de resposta objetiva de 70% a doses de 1,0 a 2,2mg/kg via oral a cada 24 horas; a dose de prednisolona não está significativamente associada à resposta (STANCLIFT; GILSON, 2008). É importante ressaltar que a resposta ao tratamento quimioterápico neoadjuvante tende a ser temporária, com duração média de 40 a 70 dias, sendo recomendada intervenção cirúrgica nesse período (NARDI et al., 2022).

Vários agentes quimioterápicos têm sido descritos para a abordagem terapêutica dos mastocitomas em cães; a vimblastina é um fármaco usado como tratamento de primeira linha em combinação com a prednisolona e seus efeitos citotóxicos resultam do impedimento da ligação dos microtúbulos durante o ciclo mitótico, o que leva à morte celular (OLIVEIRA et al., 2020), junto à prednisolona que se liga aos receptores citoplasmáticos, entrando no núcleo e alterando a transcrição do DNA, modificando o metabolismo celular (MCCAW et al., 1994), além disso o uso combinado da vimblastina com prednisolona demonstrou ter uma diminuição nas características histopatológicas de malignidade dos mastocitomas como os índices de AgNORs, PCNA e Ki-67 (WEBSTER et al., 2008; RUNGSIPIPAT et al., 2009).

O uso da vimblastina como monoterapia também demonstrou atividade contra mastocitomas em cães, porém, a resposta é menor que nos protocolos combinados com corticoide (RASSNICK et al., 2008); o protocolo quimioterápico compreende pelo menos quatro sessões com vimblastina a doses de 2,0 a 3,0 mg/m² intravenoso administrado semanalmente e prednisolona a 2,0mg/kg via oral a cada 24 horas diminuindo a dose a cada semana (THAMM; MAULDIN; VAIL, 1999; DAVIES et al., 2004; THAMM; TUREK; VAIL, 2006). Comparando as duas doses de vimblastina, os resultados demonstraram que não existe diferença significativa na resposta dos pacientes, porém os pacientes tratados com doses de 3,0mg/m² tiveram uma menor taxa de recidiva (KLUTHCOVSKY et al., 2020). Doses maiores de 3,0 mg² aumentam o risco de leucopenia e sinais gastrointestinais como efeitos adversos (RASSNICK et al., 2008, 2010).

Protocolos com doses escalonada de vimblastina também tem sido testados, iniciando com uma dosagem de 2,0mg/m², aumentando semanalmente para 2,3mg/m², 2,6mg/m² e 32

finalmente 3,0mg/m² e mantendo essa última durante duas semanas (VICKERY et al., 2008; SERRA VARELA et al., 2016). As taxas de resposta geral dos cães com mastocitoma tratados com vimblastina descritas na literatura oscilam entre o 47% a 78% (THAMM; MAULDIN; VAIL, 1999; DAVIES et al., 2004; THAMM; TUREK; VAIL, 2006).

A lomustina é um quimioterápico amplamente utilizado e é a segunda opção de tratamento adjuvante depois da vimblastina, o efeito da lomustina consiste em interferir na síntese e função do DNA, RNA e proteínas. A lomustina é ativada no fígado e eliminada pela via renal; a dose recomendada de lomustina como monoterapia é de 70 a 90mg/m² via oral, a cada três semanas (RASSNICK et al., 1999; NARDI et al., 2022). Protocolos combinados com prednisolona tem mostrado bons resultados em cães com mastocitomas de alto grau completamente excisados (HAY; LARSON, 2019) e em aqueles onde a excisão completa não foi possível virando a lomustina um adjuvante pós-operatório útil e alternativa à radioterapia (HOSOYA et al., 2009). A dose de lomustina nos protocolos combinados é de 60 a 70mg/m², combinado com doses de prednisolona de 40mg/m² ou 0,5-1,0 mg/kg em dose decrescente; os efeitos adversos descritos são aumentos na alanina aminotransferasa (ALT), anemia, neutropenia e trombocitopenia além de letargia, anorexia, vômito e diarreia (HOSOYA et al., 2009; GARCÍA, 2011; HAY; LARSON, 2019).

Protocolos combinados de vimblastina com lomustina mostrou uma taxa de resposta global de 57% em 56 cães com doença macroscópica e microscópica e sobrevida livre de progressão de 30 semanas e um tempo médio de sobrevida global de 35 semanas; a lomustina foi administrada numa dose média de 59mg/m² e vimblastina 2mg/m². Os tratamentos foram administrados a cada 2 semanas, com um plano de tratamento para 4-6 ciclos. O número de ciclos administrados foi baseado na resposta e na tolerância do paciente; toxicidade foi registrada em 54% dos cães tratados, sendo a maioria dos eventos leves. Este protocolo de quimioterapia parece ser bem tolerado e deve ser considerado para mastocitomas caninos (COOPER; TSAI; BENNETT, 2009).

Vimblastina, lomustina e prednisolona foi um protocolo testado em 17 cães com tumores não ressecáveis o incompletamente ressecados, cães com doença local extensa, múltiplos tumores ou tumores metastáticos; o protocolo com doses altas consistia em administração alternada de de lomustina a 70mg/m² e vimblastina 3,5mg/m² a cada dois semanas; a taxa de resposta em cães com mastocitomas irressecáveis foi de 65%; o tempo médiogerl de sobrevida livre de progressão em cães tratados com esse protoco adjuvante foi de 489

dias. Neutropenia com febre ocorreu em 8% dos cães após o tratamento com vimblastina e em 2% após o tratamento com lomustina. A elevação persistente da alanina aminotransferase sérica, sugestiva de hepatotoxicidade, ocorreu em 9% dos cães (RASSNICK et al., 2010).

Outro estudo realizado combinando vimblastina, lomustina e prednisolona foi realizado em 2015, porém as doses dos fármacos utilizados foram mais baixas; vimblastina 2mg/m² em bolus intravenoso, alternado com lomustina 60mg/m² via oral a cada dois semanas durante seis ou sete ciclos, dependendo da tolerância e resposta dos pacientes. Os resultados deste estudo sugerem que, na presença de metástase linfonodal loco-regional em mastocitomas grau II, o uso de prednisona, vimblastina e lomustina após terapia local-regional adequada pode fornecer uma sobrevida média superior a 40 meses (LEJEUNE et al., 2015).

O clorambucil é um agente alquilante, sua disponibilidade, formulação oral e ausência de efeitos colaterais comuns a longo prazo o tornam uma escolha atraente para quimioterapia metronômica (LEACH et al., 2012); o clorambucil interfere na replicação do DNA e induz a apoptose celular por meio do acúmulo de p53 citosólico e subsequente ativação de BAX, um promotor da apoptose (IARC, 2012). Cães portadores de mastocitomas mensuráveis, inadequados para tratamento por cirurgia ou radioterapia, foram tratados com prednisolona na dose inicial de 40mg/m² por via oral uma vez ao dia por 14 dias, reduzindo para 20mg/m² por dia em dias alternados, combinado com 5mg/m² de clorambucil por via oral a cada 48 horas. Nos casos em que ocorreu remissão completa sustentada, o protocolo foi interrompido após seis meses e, em todos os outros casos, o protocolo foi administrado continuamente; não foram observados efeitos adversos nos cães tratados (TAYLOR et al., 2009).

Um protocolo de quimioterapia metronômica como monoterapia foi testado em cães com mastocitomas, sarcomas e carcinomas demonstrando boa atividade antitumoral; o protocolo estabelecido foi clorambucil na dosagem de 4 mg/m² por via oral uma vez ao dia. Para cães com peso >8 kg, a dose foi arredondada para os 2 mg mais próximos para facilitar a dosagem com os comprimidos de 2 mg disponíveis comercialmente. Para cães com peso ≤8 kg, o clorambucil foi combinado em 4 mg/m² para dosagem precisa (LEACH et al., 2012).

O clorambucil também foi utilizado em protocolo combinado com lomustina e vimblastina para mastocitomas de risco intermediário ou alto de recorrência ou metástase; quimioterapia sistêmica com lomustina, na dosagem de 60-90 mg/m² a cada 21 dias, por 3-4 sessões, seguida de protocolo de oito semanas com clorambucil em doses de 4- 6mg/m², a cada 48 horas durante oito semanas foi fortemente recomendado para pacientes de alto risco e para

os pacientes de risco intermediário foram tratados com vimblastina adjuvante na dosagem de 2 mg/m² semanalmente, por quatro sessões, e depois a cada 14 dias por mais quatro sessões seguidas pelo protocolo de clorambucil de oito semanas. Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que a lomustina associada sequencialmente com clorambucil aumenta os intervalos livres de doença e a sobrevida global (HORTA et al., 2017).

A ciclofosfamida é outro quimioterápico alquilante comumente utilizado na oncologia veterinária, é administrado por via intravenosa ou pela via oral. A ciclofosfamida é um pró-fármaco de oxazafosforina e deve sofrer ativação para formar 4-hidroxíciclofosfamida (4-OHPC) antes de exercer um efeito citotóxico e a biotransformação da ciclofosfamida ocorre no fígado através do sistema citocromo P450. A 4-OHCP que é capaz de atravessar a membrana celular com facilidade, dentro da célula é transformada em mostarda de fosforamida e acroleína, (metabólito citotóxico final da ciclofosfamida) resultando na ligação cruzada do DNA (WARRY et al., 2011). A ciclofosfamida em combinação com vimblastina e prednisolona é eficaz para o tratamento de mastocitomas de grau II com metástase ao linfonodo e grau III, demonstrando efeito antitumoral e evitando a progressão da doença (CAMPS-PALAU et al., 2007).

A vinorelbina é um alcaloide da vinca semissintético de segunda geração derivado da vimblastina, como os alcaloides da vinca mais conhecidos, o principal mecanismo de atividade antitumoral da vinorelbina é a interrupção da estrutura e função dos fusos mitóticos celulares. Isso se reflete na falha da divisão celular na metáfase. Além de sua atividade anti-mitótica, a vinorelbina também pode interferir no metabolismo de aminoácidos e proteínas, metabolismo de cAMP, metabolismo de glutatona, transporte de cálcio dependente de calmodulina, atividade ATPase, respiração celular, biossíntese de ácidos nucleicos ou biossíntese de lipídeos (GRANT et al., 2008; WOUDA et al., 2015).

Os ensaio existente com vinorelbina em dose única de 15 mg/m² intravenoso, para o tratamento de mastocitoma em cães demonstrou que o quimioterápico não é eficiente para o tratamento de mastocitomas, além de que apresenta uma alta prevalência de neutropenia como efeito adverso, no entanto estudos adicionais são indicados para determinar se a dosagem repetida de vinorelbina ou a combinação de vinorelbina com outras drogas aumenta a atividade biológica observada contra o mastocitoma canino (GRANT et al., 2008).

Os inibidores do receptor de tirosina quinase (KIT), como o toceranib, masitinibe e imatinibe, têm sido usados com segurança e eficácia no tratamento de mastocitomas cutâneos de alto grau não ressecável ou metastático. A família de receptores de tirosina quinase mencionada anteriormente está envolvida nos mecanismos de proliferação, diferenciação, migração, angiogênese e ativação celular. Estes agem bloqueando a ligação do ATP ao receptor por um mecanismo de inibição competitiva impedindo a fosforilação e a proliferação celular e a sinalização da angiogênese (OLIVEIRA et al., 2020; NARDI et al., 2022).

Outro inibidor recente da tirosina quinase (tirosina quinase de Bruton-BTK) é o ibrutinib que está sendo estudado como um possível futuro medicamento alternativo para tratar o mastocitoma cutâneo em cães. O ibrutinibe inibe o crescimento tumoral e suprime a liberação de histamina dependente de IgE em mastócitos caninos neoplásicos, visando o BTK (GAMPERL et al., 2019). Os efeitos adversos associados à administração dos inibidores de tirosina quinase são mielosupressão, vômito, diarreia, e hepatotoxicidade (GARCÍA, 2011).

O Toceranib está indicado em mastocitomas recorrentes e não ressecáveis de grau II e III, além de inibir o KIT descobriu-se que toceranib inibe o receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2) e o receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR β). Uma redução mensurável da fosforilação do KIT foi encontrada 8 horas após a primeira administração de toceranib (LONDON et al., 2009). London et al., em 2003 avaliaram a eficácia do toceranib em vários tipos de tumor e obtiveram taxas de resposta de aproximadamente 90% em mastocitomas com mutações no KIT e 25% em mastocitomas sem tais mutações, os resultados indicaram que a presença das mutações no c-kit e a localização aberrante da proteína KIT (padrões 2 e 3) nos tumores de mastócitos eram fatores preditivos de resposta ao tratamento com inibidores de tirosina quinase (LONDON et al., 2003). Um estudo posterior confirmou esses resultados já que o toceranib foi avaliado em cães com mastocitomas recidivantes ou metastáticos, de grau alto ou intermediário, e concluíram que a presença de mutação no KIT e a ausência de metástases linfonodais foram significativamente associadas a uma maior resposta, objetivamente (LONDON et al., 2009).

Mais recentemente ensaios clínicos indicaram que a resposta ao tratamento não está associada ao estado mutacional já que os resultados de Weishaar et al, demonstraram que o status da mutação de c-kit não prevê a resposta ao tratamento; essa conclusão foi baseada nos resultados de um estudo que comparou resposta de cães com mastocitomas ressecáveis e irressecáveis, em vários estágios ao tratamento com o protocolo de vimblastina em dose de 2,5

mg/m² intravenosa, quatro sessões a cada 7 dias e quatro sessões a cada 14 dias e toceranib em dose 2,75 mg/kg, a cada 48 h pela via oral (WEISHAAR et al., 2018).

Apesar desses resultados, um relato de caso também demonstrou que o toceranib combinado com prednisolona foi eficiente no manejo terapêutico de um paciente com um mastocitoma de alto grau recorrente no focinho, com metástase ao linfonodo submandibular e com mutação no exon 8 do c-kit; o protocolo instaurado foi toceranib oral 3,25mg/kg a cada 48 horas e prednisolona 1,0mg/kg diminuindo para 0,5mg/kg a cada 24 horas logrando a remissão total do tumor um mês após de iniciado o tratamento (KIM; KIM, 2020).

Um protocolo de vimblastina, prednisolona e toceranib foi recentemente avaliado em cães com mastocitomas de graus II e III; vimblastina foi administrada a 1,6 mg/m² IV a cada 2 semanas para um total de oito doses (curso de 16 semanas). O fosfato de toceranib foi administrado em 2,5 mg/kg por via oral na segunda, quarta e sexta-feira durante o curso de 16 semanas. A prednisolona foi administrada a 1 mg/kg por via oral uma vez ao dia durante o curso. Tanto a prednisolona quanto o fosfato de toceranib foram continuados nas mesmas taxas de dosagem e intervalos após a conclusão do protocolo por até 12 meses, a menos que o animal estivesse em remissão completa. Esta combinação demonstrou resposta em 90% (26/29) dos pacientes com doença mensurável e os efeitos colaterais predominantes relacionados a esta combinação de quimioterapia foram de origem gastrointestinal (vômito ou diarreia) (OLSEN et al., 2018).

O toceranib administrado em pulso combinado com lomustina foi testado como alternativa de tratamento em 47 cães com mastocitomas irressecáveis; o fosfato de toceranib foi administrado via oral nos dias 1, 3 e 5 de um ciclo de 21 dias em uma dosagem alvo de 2,75 mg/kg. A lomustina foi administrada PO no dia 3 de cada ciclo em uma dosagem inicial de 50 mg/m². Os resultados do estudo demonstram que o protocolo é bem tolerado e pode ser uma opção de tratamento razoável para cães com mastocitoma irressecável ou metastático (BURTON et al., 2015).

O masitinibe também demonstrou eficácia e segurança para o tratamento de mastocitomas em cães independentemente do estado de mutação do c-kit, bloqueia o crescimento dos mastocitomas inibindo o KIT e além disso o masitinibe também inibe de forma potente o receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) igual que o efeito do toceranib (HAHN et al., 2008; SMRKOVSKI et al., 2015; GRANT; NORTH; LANORE, 2016). Um estudo controlado com placebo em 202 cães com mastocitoma recorrente ou não

ressecável não metastáticos evidenciou que o masitinibe retarda a progressão dos mastocitomas grau II e grau III não metastáticos com uma dose de 12,5mg/kg a cada 24 horas durante 6 meses ou por tempo indefinido dependendo da resposta do paciente (HAHN et al., 2008).

Smrkovski et al., avaliaram a eficácia de masitinibe no tratamento de mastocitomas de grau II e III, na dose de 12,5 mg/kg, como terapia de resgate ou tratamento de primeira linha, e obtiveram um tempo médio de sobrevida de 630 dias. A toxicidade foi registrada em 61,5% dos cães tratados, mas a maioria dos eventos adversos foi leve e autolimitada (SMRKOVSKI et al., 2015). Outro estudo foi desenvolvido para a avaliação da mesma dose de 12,5 mg/kg de masitinib em cães com mastocitomas macroscópicos e os resultados obtidos foram diferentes ao estudo anterior já que os pacientes tratados tiveram um tempo médio de sobrevida de apenas 159 dias, porém, tem que ser considerando que, na maioria dos casos, masitinibe foi instituído como terapia de resgate (GRANT; NORTH; LANORE, 2016).

O imatinibe tem como alvo BCR-ABL, KIT, receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas, receptor do fator 1 estimulador de colônias, ABL1, ABL2 e proteína tirosina quinase específica de linfócitos, porém outras células que possuem mutações nas tirosinas quinases como os mastócitos também são susceptíveis à terapia com esse quimioterápico (BONKOBARA, 2015). Na medicina veterinária o mesilato de imatinibe é eficaz contra mastocitomas caninos portadores da mutações do c-kit no éxon 8, 9 ou 11 (ISOTANI et al., 2008; YAMADA et al., 2011; KOBAYASHI et al., 2012), porém mastocitomas que não tem esse tipo de mutações também tem uma boa resposta ao tratamento com imatinibe (KIM et al., 2017). A dose que tem demonstrado efeito antitumoral é de 10mg/kg a 12,7mg/kg a cada 24 horas, alcançando uma remissão completa entre dois e oito semanas (NAKANO et al., 2014; MACEDO et al., 2022).

2.6.4. Tratamentos baseados em eletroporação

A eletroporação ou eletropermeabilização descreve um aumento na permeabilidade da membrana celular devido à aplicação de um campo elétrico. A entrega de pulsos elétricos curtos de alta voltagem causa a formação de estruturas permeáveis nas membranas celulares,

permitindo assim a passagem de íons e moléculas solúveis em água para o citosol. O fator chave para a permeabilização bem-sucedida é a tensão transmembrana induzida, que é gerada na presença de um campo elétrico externo devido à diferença nas propriedades elétricas da membrana e do meio externo.

Na prática clínica existem dois tipos de eletrodos usados para eletroporação os penetrantes como a fila de agulhas e hexagonais e não penetrantes ou em placa (NEMEC et al., 2020). Os eletrodos são selecionados individualmente, dependendo da profundidade do nódulo tumoral e das propriedades do tecido alvo. Em geral, eletrodos de placa são usados para tumores superficiais e eletrodos de agulha ou hexagonais são usados para tumores mais profundos para alcançar a eletroporação em todo o tumor. O eléctrodo de agulha única e uma matriz de eletrodos múltiplos com pinos foram desenvolvidos mais recentemente para as terapias baseadas em eletroporação (GEHL et al., 2018).

2.6.4.1. Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia é um novo tratamento tumoral local que combina a administração intratumoral e/ou intravenosa de drogas quimioterápicas, cisplatina ou bleomicina, com a aplicação de pulsos elétricos no tumor. Baseia-se na aplicação local de pulsos elétricos curtos e intensos às células ou tecidos que permeabilizam transitoriamente a membrana celular e, assim, permitem o influxo de moléculas estranhas do espaço extracelular para o citoplasma (KODRE et al., 2009). Além dos efeitos citotóxicos diretos, a eletroquimioterapia também tem efeitos antitumorais indiretos por meio da ação na vasculatura tumoral e na imunidade local. Os efeitos vasculares levam à vasoconstrição e destruição da vasculatura local, e os efeitos imunológicos levam à sinalização de morte celular imunogênica (NARDI et al., 2022).

Para a realização da técnica é necessário o uso de gel condutor já que pode facilitar a eficiência da técnica melhorando a distribuição do campo elétrico na região tratada; a presença da droga injetada nos tecidos-alvo determina a eficiência da terapia; ao injetar, o sinal de boa retenção tecidual é o clareamento tecidual, que pode ser verificado visualmente. Algum vazamento de solução pode ocorrer através dos orifícios produzidos pela agulha no tumor ou em tecidos necrotizantes em sessões posteriores. Atingir concentrações de 2 mg/cm³ (cisplatina) ou 3 mg/cm³ (bleomicina) pode ser puramente teórico nesses casos e o objetivo é

tentar reter o máximo possível de solução nos tecidos-alvo. Além disso, os pulsos elétricos devem ser aplicados o mais rápido possível para obter o efeito vasoconstritor que contribui para a retenção da solução. O efeito vasoconstritor da eletroporação pode ser benéfico no tratamento do mastocitoma, pois pode impedir a liberação de mediadores inflamatórios na corrente sanguínea devido à possível degranulação das células neoplásicas durante a manipulação (KODRE et al., 2009).

A aplicação de pulsos elétricos segue a administração intratumoral de cisplatina ou bleomicina, ou administração intravenosa de bleomicina. Ao administrar por via intratumoral, o citostático deve ser aplicado lentamente para evitar vazamentos. Para administração intravenosa, os citostáticos devem ser aplicados em bolus com duração aproximada de 30 segundos. Se o citostático for administrado por via intravenosa, se deve aguardar 8 min e o intervalo de tempo para entrega de pulsos elétricos é de 20 min. Se o citostático for administrado por via intratumoral, se deve iniciar com a aplicação de pulsos elétricos imediatamente o 1 minuto após aplicação. A condutividade dos géis deve estar entre 0,5-1 S/m¹. Os eletrodos da placa devem ser colocados de forma que o tumor fique englobado entre eles. Além disso, para obter uma melhor distribuição do campo elétrico, a aplicação de pulsos elétricos deve ser realizada duas vezes na direção perpendicular. Se o tumor for maior que a distância entre os eletrodos, a aplicação dos eletrodos deve começar pelas margens do tumor (incluindo a margem de segurança) e progredir em direção ao centro do tumor. No caso de eletrodos de agulha, deve-se tomar cuidado para que todas as agulhas sejam inseridas no tecido para obter a distribuição adequada do campo elétrico (TOZON et al., 2016).

A eletroquimioterapia em mastocitoma cutâneo pode ser utilizada como terapia única, associada ao período transoperatório, ou como terapia adjuvante à cirurgia quando as margens estão comprometidas (NARDI et al., 2022). Eletroquimioterapia com cisplatino intralesional foi usada como monoterapia obtendo taxas de recuperação similares às obtidas em pacientes que só foram submetidos a excisão cirúrgica; assim os autores concluem que a eletroquimioterapia pode ser um tratamento alternativo à cirurgia, especificamente para nódulos menores em que uma resposta completa e de longa duração pode ser obtida após apenas uma sessão de tratamento (KODRE et al., 2009; TOZON et al., 2016; RANGEL et al., 2019).

Eletroquimioterapia com bleomicina intralesional tem sido usada como coadjuvante em pacientes com mastocitoma incompletamente ressecado e a taxa de resposta global foi de 85% (SPUGNINI et al., 2006). O cisplatino também tem sido testado no tratamento de mastocitoma com margens comprometidas e em casos de tumores recidivantes mostrando uma boa resposta com efeitos adversos mínimos (SPUGNINI et al., 2011).

Um estudo comparou o efeito da eletroquimioterapia com bleomicina como monoterapia, como protocolo intracirúrgico e como adjuvante à excisão cirúrgica obtendo como resultado que a eletroquimioterapia como único tratamento é uma boa alternativa em tumores menores e pode ser combinada com cirurgia no intraoperatório ou no pós-operatório para lesões maiores sem toxicidade significativa (LOWE et al., 2017).

2.6.4.2. Eletrogenoterapia

É uma técnica baseada na eletroporação que utiliza o mesmo princípio que a eletroquimioterapia e é usada para a entrega intracelular de outras moléculas como o DNA plasmidial. A combinação da injeção direta de DNA plasmidial contendo um gene terapêutico no tecido-alvo, juntamente com a entrega local de pulsos elétricos, é chamada de terapia eletrogênica (PAVLIN et al., 2011). O procedimento é similar à eletroquimioterapia, uma solução estéril do plasmídeo é injetada diretamente no tumor (intratumoral), intramuscular, via intradérmica ao redor do tumor (peritumoral) e transcorridos dez minutos são administrados pulsos elétricos (CEMAZAR et al., 2011, 2017; PAVLIN et al., 2011; BRLOZNIK et al., 2021).

A IL-12 exibe uma gama de atividades biológicas, potencialmente importantes na imunoterapia do câncer. Estes incluem, por exemplo, ativação de células natural killer, indução de IFN- γ , inibição da angiogênese e estimulação da produção de óxido nítrico (PAVLIN et al., 2011). A terapia gênica usando IL-12 já demonstrou notável atividade antitumoral em diferentes modelos tumorais no nível pré-clínico e já avançou para vários ensaios clínicos em cães com mastocitoma (CEMAZAR et al., 2011, 2017; PAVLIN et al., 2011; PAVLIN; CEMAZAR; TOZON, 2016).

A eletrogenoterapia intratumoral com IL-12 demonstrou que pode provocar uma redução significativa do tamanho segundo os resultados de um ensaio clínico de oito cães com mastocitomas cutâneos, variando de 13% a 83% (mediana de 50%) do volume tumoral inicial. Além disso, foi observada uma mudança na estrutura histológica dos nódulos tratados já que houve redução do número de mastócitos malignos e infiltração de células inflamatórias dos tumores tratados (PAVLIN et al., 2011).

Um estudo realizado em cães com mastocitomas e outros tumores espontâneos testou a eletrogenoterapia com a injeção intramuscular de IL-2 seguida de administração de pulsos eléctricos e embora alguns pacientes tiveram um aumento marcado no tempo de sobrevida, não foi observada mudança no volume dos nódulos pelo que a IL-2 administrada pela via intramuscular como monoterapia parece não ter um bom efeito antitumoral, contrário a isso o protocolo com injeção intramuscular junto a excisão cirúrgica em mastocitomas de grau I e II demonstrou boa resposta clínica. Esse mesmo protocolo de eletrogenoterapia foi testado num paciente com mastocitoma de grau III junto a excisão cirúrgica e quimioterapia mostrando boa resposta, sem recorrência local, nem metástase e com tempos de sobrevida prolongados (CEMAZAR et al., 2011).

A eletroquimioterapia combinada com eletrogenoterapia ou seja terapia eletroquimogênica tem mostrado resposta clínica em pacientes com mastocitoma cutâneo, como o demonstram os resultados de Pavlin et al em 2016 onde uma terapia combinada de eletroquimioterapia com cisplatino e aplicação intradérmica peritumoral de IL-2 mostrou uma resposta completa em 72% dos pacientes com mastocitomas cutâneos, com taxa de resposta completa de 100% em tumores menores ($<2\text{cm}^3$), além disso em pacientes sem metástases antes do tratamento, a doença não progrediu e os tumores não metastatizaram, apesar de que alguns casos eram tumores de grau superior o que demonstra que a terapia eletroquimogênica com cisplatino e IL-2 é altamente eficaz e segura para pacientes com tumores de mastócitos (PAVLIN; CEMAZAR; TOZON, 2016). Esses resultados são confirmados pelo estudo de Cemazar em 2016, quem avaliou a eficácia e segurança da eletroquimioterapia com cisplatino e bleomicina e eletrogenoterapia com IL-2 alcançando uma resposta completa em 72% dos cães tratados.

A resposta à terapia correlacionou-se com o tamanho do tumor, porque a resposta completa foi alcançada em todos os oito módulos com volume $< 2 \text{ cm}^3$ e a taxa de resposta em tumores maiores foi de 60% (PAVLIN; CEMAZAR; TOZON, 2016). Mais recentemente foi desenvolvido um estudo onde além de demonstrar a eficácia da terapia combinada foi feito seguimento com ultrassom de contraste dinâmico, encontrando diferenças significativas entre a perfusão e a heterogeneidade do tecido nos pacientes com resposta completa e aqueles com resposta parcial, informação que pode ser de importância para prever os resultados do tratamento e a necessidade de uma terapia repetida ou diferentes combinações de tratamento em pacientes individuais, porém estudos com maior número de pacientes são indispensáveis para investigar a utilidade clínica da técnica de imagem (BRLOZNIK et al., 2021).

2.6.5. Alternativas terapêuticas

2.6.5.1. Tigilanol tiglate

Tigilanol tiglate (TT) é uma nova molécula extraída da semente da *Fontainea picrosperma* nativa da Austrália e purificada por cromatografia líquida de alta pressão. Registrada como um medicamento veterinário para o tratamento intratumoral de mastocitomas em cães com nome comercial Stelfonta® dos Laboratórios Virbac®, a composição do medicamento é de 1 mg/ml. É um medicamento que deve ser armazenado estritamente a uma temperatura de 2–8 °C (PANIZZA et al., 2019; NARDI et al., 2022).

A dose varia dependendo do volume do tumor e a ação do medicamento é multifatorial, resultando tanto na destruição do tumor tratado quanto na indução de respostas de cicatrização de feridas nos tecidos ao redor do local de tratamento. A formação de um déficit tecidual após a descamação da massa tumoral necrótica 3 a 14 dias após o tratamento intratumoral de mastocitomas com TT é um aspecto fundamental do modo de ação da droga; o valor médio das margens mediadas por TT aumentou com o aumento do volume do tumor; para a maioria dos cães no estudo, as margens mediadas por TT eram menos da metade do comprimento das margens correspondentes que teoricamente teriam sido aplicadas usando margens proporcionais modificadas ou margens largas de 3 cm (DE RIDDER et al., 2021a).

Para poder usar TT em cães, devem pelo menos estar três meses sem tratamento e a lesão deve ter um diâmetro maior de 1 cm e não apresentar ulceração; a dose é de 0,5ml / cm³ do volume do tumor; o volume do tumor é determinado usando o cálculo de volume modificado para estruturas elipsóides = $1/2 \times \text{comprimento} \times \text{largura} \times \text{profundidade (cm)}$. Para aplicar o medicamento deve ser inserida a agulha no tumor em um único ponto de injeção e movida de maneira radial em 2 e 3 dimensões com 0,1 ml de medicamento administrado a cada 0,2 cm³ da massa tumoral. Os efeitos adversos são associados à manipulação e degranulação do mastocitoma pelo que a administração de corticoides, anti-histamínicos, antiácidos, antieméticos e analgésicos pode ser recomendada (MILLER et al., 2019; DE RIDDER et al., 2021b).

O TT causa ruptura vascular e resposta inflamatória local aguda em 4 horas, seguida de necrose em 1 a 4 dias e destruição do tumor por um período de 4 a 7 dias, com posterior resolução da ferida em um período que varia de 28 a 35 dias (REDDELL et al., 2021). Quando não ocorre a remissão total do tumor, a TT pode ser reaplicada após 28 dias, embora o volume deva ser calculado novamente (NARDI et al., 2022). A duração do efeito foi avaliada e os resultados demonstram que uma pequena porcentagem de pacientes (7%) pode desenvolver recorrência dentro dos primeiros seis meses, porém, na maioria dos pacientes o TT forneceu uma resposta local duradoura a longo prazo (JONES et al., 2021).

No caso dos mastocitomas de alto grau que apresentam altas taxas de recorrência no local de tratamento, o tumor pode ser controlado com ciclos de tratamento adicionais o que vira o tratamento com TT uma alternativa de tratamento local para cães com mastocitomas de alto grau em pacientes nos que a anestesia representa um risco inaceitável ou a localização do tumor representa um desafio ao tentar a excisão cirúrgica (BROWN et al., 2021).

2.6.5.2. Vírus oncolíticos

Terapia oncolítica com alguns vírus tem sido testada como tratamento alternativo para mastocitomas em cães, por exemplo o reovírus que foi descoberto pela primeira vez como um vírus oncolítico que infectava e matava células transformadas, mas deixava as células normais

ilesas; as linhas de células dos mastocitomas são altamente susceptíveis ao reovírus, conforme indicado pela morte celular acentuada, produção elevada de vírus descendentes e replicação do vírus em estudos *in vitro* e *in vivo* (HWANG et al., 2013). A morte celular por reovirus está relacionada com a degradação do c-kit em todos os linhagens de células dos mastocitomas, o que produz uma regulação negativa da sinalização posterior de c-kit que pode conduzir à morte celular (HWANG et al., 2019).

Os potenciais oncolíticos do vírus Sendai foram estudados principalmente no Japão. O vírus Sendai pertence à família Paramyxoviridae e sua patogenicidade é restrita ao hospedeiro para roedores. O vírus Sendai atenuado (por meio de engenharia genética) perde sua patogenicidade e pode se espalhar em tumores e matar células malignas, conservando as células normais circundantes. Foi demonstrado que o vírus suprime ou erradica completamente vários tumores incluindo os mastocitomas em cães, onde o vírus demonstrou uma resposta completa em três cães e os animais permaneceram livres da doença durante o tempo de observação que foi de três anos; os resultados desse estudo sugerem que as injeções do vírus Sendai podem ser seguras e eficazes para o tratamento de cães afetados por mastocitomas (ILYINSKAYA et al., 2018).

2.6.5.3. Braquiterapia

A braquiterapia é um tratamento baseado em radiação, oferece vantagens potenciais sobre a radioterapia de feixe externo, incluindo melhor localização da dose de radiação, preservação dos tecidos normais circundantes, aplicação de uma dose mais alta no volume alvo, dosagem constante, diminuição da duração total do tratamento e menos episódios anestésicos. Apesar desses benefícios potenciais, o uso limitado da terapia com Iridium-192 em pequenos animais tem sido relatado, possivelmente devido a dificuldades no cálculo da dose e na obtenção de distribuição uniforme da dose, necessidade de hospitalização isolada do animal e exposição à radiação para o radioterapeuta e equipe de apoio; onze cães com mastocitomas cutâneos de grau II e III foram tratados com cirurgia e braquiterapia intersticial com irídio 192. As doses tumorais mínimas variaram de 47,2 a 63,3 Gy. O 54% (6/11 cães) não tiveram recorrência em um tempo médio de acompanhamento de 942 dias. Os efeitos adversos agudos foram bem tolerados e os efeitos tardios foram leves (NORTHROP et al., 2004).

2.7. Comportamento biológico e marcadores prognósticos

O comportamento biológico do mastocitoma em cães é muito variável desde massas solitárias que só requerem excisão cirúrgica até uma doença metastática e mortal. Os indicadores associados ao comportamento biológico e prognóstico do mastocitoma em cães incluem a aparência na citologia, grau histológico, idade, raça, localização do tumor, tamanho, presença de ulceração, número de tumores, recorrência, metástase, índice mitótico, expressão de Ki-67, densidade intratumoral dos microvasos, expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e matrix metaloproteinases, expressão aberrante da proteína KIT e mutação do c-kit (KIUPEL et al., 2005; MURPHY et al., 2006; GIANTIN et al., 2012b; POGGIANI et al., 2012; VASCELLARI et al., 2013).

Os mastocitomas cutâneos são divididos em cutâneos e subcutâneos, definidos por sua localização na derme ou no tecido subcutâneo, determinada pela histopatologia, e ausência de critérios suficientes para estabelecer o diagnóstico de outra neoplasia. Os mastocitomas subcutâneos tem um comportamento biológico más benigno que os mastocitomas cutâneos típicos, no entanto tem sido informado que podem estar associados com recorrência local e metástase a distância, no entanto não é possível afirmar qual será o comportamento de um mastocitoma somente identificando sua localização dentro da pele, porém o local no corpo onde se desenvolve o tumor pode ser indicativo do comportamento da neoplasia já que diferentes localizações anatômicas estão associadas com pior prognóstico como a região perineal, a cabeça, o pescoço, a região inguinal, a bolsa escrotal, os dígitos e a axila (WILLMANN et al., 2021).

O grau histológico é atualmente o fator de prognóstico individual mais utilizado em cães com mastocitomas cutâneos (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984; KIUPEL et al., 2011; TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019). Os mastocitomas de grau I de Patnaik ou Kiupel de baixo grau normalmente são de comportamento benigno com baixa probabilidade de recidiva e a cirurgia é geralmente o único tratamento requerido, tem um bom prognóstico a longo prazo e uma sobrevida maior que 12 meses em 95% a 100% dos casos (TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019). O grau II de Patnaik corresponde a mastocitomas de um comportamento biológico imprevisível, sem um protocolo de tratamento claro já que existe muita discordância entre os patologistas no momento de realizar a classificação, o tempo de sobrevida médio é de 12 meses em 87%–92% (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984; TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019). Os tumores de mastócitos de grau III de Patnaik ou Kiupel de alto grau, são

biologicamente agressivos com alta probabilidade de metástase e recorrência local, requerem de um manejo terapêutico muito agressivo e tem um mal prognóstico ao longo prazo; menos da metade (16% - 46%) dos pacientes com este tipo de tumor conseguem sobreviver por um tempo de 12 meses, normalmente o tempo de sobrevida é menor de 4 meses (KIUPEL et al., 2011; BLACKWOOD et al., 2012; TAMLIN; BOTTEMA; PEASTON, 2019).

O índice mitótico é o número de mitoses por 10 campos de grande aumento, determinado pela histopatologia padrão e deve ser fornecido em todos os relatórios de histopatologia. Um índice mitótico maior a 5 (ROMANSIK et al., 2007) ou 7 (ELSTON et al., 2009) mitoses indica um tempo de sobrevida reduzido e é preditivo para recorrência (BLACKWOOD et al., 2012; NARDI et al., 2022).

Apesar do grau histológico ser o melhor fator prognóstico, a aparência das células na citologia também pode ajudar na previsão do comportamento biológico; estudos tem estabelecido classificação citológica em dois níveis objetivando assim prever o comportamento da neoplasia. Os mastocitomas considerados de baixo grau citológico são altamente granulados ou de granularidade misturada com mínima anisocariose na citologia e foram associados com tempos de sobrevida maiores que 2 anos e com mínimas probabilidades de recorrência após o tratamento cirúrgico; contrário a essas neoplasias, os mastocitomas considerados de alto grau citológico apresentam pouca granulação citoplasmática, frequentes figuras mitóticas, células binucleadas o multinucleadas, pleomorfismo nuclear e anisocariose e foram relacionados com tempos de sobrevida curtos, maiores probabilidades de desenvolver tumores adicionais ou recorrência do tumor após tratamento (CAMUS et al., 2016).

Embora a aparência histológica ou citológica (por exemplo, grau, atividade mitótica) continua sendo um dos pilares para determinar o provável comportamento biológico, um subconjunto de mastocitomas pode se comportar de forma agressiva apesar de que a aparência histológica seja normal (BAE et al., 2020). Mutações no gene c-kit foram identificadas em aproximadamente 15% dos mastocitomas cutâneos canino, com incidência aumentada até 35% em mastocitomas de alto grau (THAMM et al., 2019). Aumento nas mutações no gene c-kit tem sido identificadas em mastocitomas de alto grau (ZEMKE; YAMINI; YUZBASIYAN-GURKAN, 2002; HORTA et al., 2018). As mutações no gene c-kit também têm sido associadas com altas taxas de recorrência nos mastocitomas tratados com cirurgia e terapia multimodal,

com desenvolvimento de metástase e tempos de sobrevivência reduzidos (WEBSTER et al., 2006; THAMM et al., 2019). Outros estudos têm encontrado associações estatísticas entre mutações do exon 11 no gene c-kit e aumento dos índices de proliferação celular (contagem mitótica, frequência AgNOR, índice Ki67) (HORTA et al., 2018).

A expressão do Ki-67 é amplamente utilizada para avaliar a proliferação celular, pois tem demonstrado valor prognóstico para mastocitomas em cães, pelo que a proteína Ki-67 deve ser testada rotineiramente em animais com tumores de mastócitos, juntamente com outros marcadores prognósticos, como grau histológico e padrão KIT. A atividade proliferativa determinada pela coloração imuno-histoquímica também pode estar associada à suscetibilidade dos tumores à quimioterapia, uma vez que as drogas anticancerígenas mais amplamente utilizadas atuam na divisão celular (POGGIANI et al., 2012).

As mutações do gene c-kit podem produzir uma expressão aberrante da proteína KIT a qual mostrou ser um indicador de prognóstico negativo para mastocitomas cutâneos caninos como foi mencionado anteriormente, porém, o comportamento biológico pode depender do padrão de expressão de KIT; a marcação perimembranosa corresponde ao padrão I, é encontrada em mastócitos não neoplásicos e em mastocitomas bem diferenciados o de baixo grau e não foi associada a um comportamento agressivo (KIUPEL et al., 2004); A perda da marcação perimembranosa junto com a marcação citoplasmática focal ou pontilhada é característica do padrão II, e a marcação citoplasmática difusa em pelo menos 10% das células neoplásicas é consistente com o padrão III. Ambos os padrões II e III foram associados a uma diminuição do tempo de sobrevida global e a um aumento da incidência de recorrência local (KIUPEL et al., 2004; KIUPEL; CAMUS, 2019).

A densidade microvascular intratumoral é um parâmetro utilizado para avaliar a angiogênese, que é regulada por fatores pró e antiangiogênicos. Pode ser medido por microscopia de luz e sua revelação é feita através do uso de anticorpos com afinidade por epítomos específicos de células endoteliais, como o fator de von Willebrand, também conhecido como fator VIII. Estudos em medicina veterinária demonstraram a importância da densidade microvascular intratumoral em animais com mastocitoma e concluíram que este parâmetro pode ser utilizado como fator prognóstico no mastocitoma cutâneo após a ressecção cirúrgica (PREZIOSI; SARLI; PALTRINIERI, 2004; POGGIANI et al., 2012). A expressão do fator de

crescimento endotelial vascular (VEGF) tem sido avaliada como fator prognóstico nos mastocitomas caninos mediante imuno-histoquímica e foi mostrado que uma coloração intensa se associa com um menor tempo de sobrevida (MELO et al., 2021). Além do VEGF um aumento marcado da expressão das matriz metaloproteinases MMP-2 e MMP-9 foi identificado em mastocitomas de alto grau, pelo que são consideradas marcadores de malignidade e indicadores do prognóstico dos cães com mastocitoma (GIANTIN et al., 2012b).

A E-caderina é uma molécula de adesão expressa em células epiteliais e, embora seja um marcador de células epiteliais, estudos têm mostrado a expressão de E-caderina em tumores caninos de células redondas. A evidência literária relata que há uma expressão diminuída de E-caderina nos mastocitomas cutâneos grau III, o que sugere uma associação entre E-caderina e agressividade tumoral. Além disso, a perda da expressão da E-caderina no citoplasma ou núcleo em tipos de tumores mais agressivos e indiferenciados confirma a importância da adesão celular no comportamento do tumor (MACKOWIAK et al., 2012).

A geração de homodímeros BAX resulta na formação de poros nas mitocôndrias, que aumentam a permeabilidade mitocondrial e permitem a liberação do citocromo C no citoplasma e a ativação da cascata de caspases. A expressão de BAX aumenta nos mastocitomas com graus histopatológicos mais altos. Animais com altos níveis de expressão de BAX tem 4,25 vezes mais chances de morrer da doença e estão relacionados com tempos de sobrevida pós-cirúrgico mais curtos. Esses resultados sugerem que alterações na expressão de BAX podem estar relacionadas com comportamentos mais agressivos dos mastocitomas cutâneos caninos, indicando que a detecção imuno-histoquímica de BAX pode prever o resultado clínico do paciente (STREFEZZI et al., 2012).

Para tomar decisões clínicas é preciso conhecer o comportamento dos mastocitomas, mas muitos dos parâmetros mencionados anteriormente podem ser avaliados após a biópsia ou excisão cirúrgica do tumor, no entanto existem alguns biomarcadores que ajudam a prever o comportamento dos tumores antes do diagnóstico histopatológico como é o caso da razão neutrófilos e linfócitos (NLR) e a proporção albumina e globulina; o aumento do NLR está associado a um maior risco de desenvolvimento de tumores de alto grau e, portanto a um comportamento biológico mais agressivo com tempos de sobrevida menores (MACFARLANE et al., 2016).

Tabela 5. Fatores prognósticos dos mastocitomas em cães.

Fatores prognósticos	Descrição	Referências
Grau histológico	Tumores indiferenciados (Alto grau de Kiupel ou grau II, III de Patnaik) geralmente morrem de sua doença após terapia local isolada num tempo menor a 4 meses	(PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984; KIUPEL et al., 2011; TAMLIN;
	Tumores bem diferenciados (Baixo grau de Kiupel ou grau I, II de Patnaik) comportamento benigno, curados somente com cirurgia.	BOTTEMA; PEASTON, 2019; LONDON; THAMM, 2020)
Grau citológico	Baixo grau: tempos de sobrevida maiores a 2 anos e com mínimas probabilidades de recorrência após o tratamento cirúrgico	(CAMUS et al., 2016)
	Alto grau: tempos de sobrevida curtos, maiores probabilidades de desenvolver tumores adicionais ou recorrência do tumor após tratamento.	
Índice mitótico	Alto risco de recorrência e tempos reduzidos de sobrevida em mastocitomas com: > 5 mitoses por 10 campos de maior ampliação > 7 mitoses por 10 campos de maior ampliação.	(ROMANSIK et al., 2007; ELSTON et al., 2009)
Localização	Prognósticos malos nos tumores da região perineal, a cabeça, o pescoço, a região inguinal, a bolsa escrotal, os dígitos e a axila	(WILLMANN et al., 2021)
Mutações c-Kit	A presença de uma mutação ativadora no gene c-kit está associada a um pior prognóstico. Altas taxas de recorrência e tempos de sobrevida reduzidos.	(THAMM et al., 2019)
Expressão de Ki 67 e Frequência AgNOR	Índices de proliferação celular, são preditivos do resultado pós-cirúrgico.	(POGGIANI et al., 2012; HORTA et al., 2018; LONDON; THAMM, 2020)
Densidade intratumoral dos microvasos	O aumento da densidade de microvasos está associado a um grau mais alto de invasividade e a um pior prognóstico.	(PREZIOSI; SARLI; PALTRINIERI, 2004; POGGIANI et al., 2012; LONDON; THAMM, 2020)
Expressão VEGF	Maior expressão do VEGF associada a tempos de sobrevida reduzidos.	(MELO et al., 2021)
Expressão MMP-2 e MMP-9	Marcadores de malignidade, aumento na expressão é indicador de pior prognóstico.	(GIANTIN et al., 2012b)
E-caderina	Expressão diminuída da E-caderina está associada com maior agressividade tumoral.	(MACKOWIAK et al., 2012)
Expressão de BAX	Aumento da expressão de BAX podem estar relacionadas com comportamentos mais agressivos.	(STREFEZZI et al., 2012)
Razão de neutrófilos e linfócitos (NLR)	Aumento do NLR está associado a um maior risco de desenvolvimento de tumores de alto grau.	(MACFARLANE et al., 2016)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

Tendo em vista a legislação Brasileira vigente, estudos retrospectivos que não envolvem a manipulação de animais encontram-se fora do escopo da CEUA-IV não sendo necessária sua avaliação.

3.2. Localização do estudo

O estudo foi desenvolvido no Serviço de Oncologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

3.3. Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes

Foram incluídos os casos de mastocitoma (diagnosticado com citologia, histopatologia ou imuno-histoquímica) que foram atendidos pelos residentes e pós-graduandos do Serviço de Oncologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2019. As fichas incorretamente preenchidas ou com falta dos dados específicos requeridos pelo projeto foram excluídas.

Os tumores cutâneos diferentes do mastocitoma atendidos no mesmo período foram incluídos também com a finalidade de ter um grupo de referência ou controle para realizar as respectivas análises estatísticas. Desses pacientes foram utilizados dados gerais como raça, idade, sexo, porte, localização do tumor e diagnóstico.

3.4. Coleta de dados

Para o estudo foram analisados os prontuários médicos de todos os animais atendidos no Serviço de Oncologia de Animais de Companhia do Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Foram analisadas as fichas de todos os pacientes atendidos no serviço de oncologia no período de janeiro de 2011 até dezembro de 2019 identificando os casos de mastocitoma cutâneo e outras neoplasias da pele. Foram incluídas todas as fichas que contaram com diagnóstico de mastocitoma e outras neoplasias de pele por citologia, histopatologia ou imuno-histoquímica. Uma vez separadas as fichas de cada ano de acordo com o diagnóstico, os dados foram digitalizados com ajuda da ferramenta Microsoft Office Excel®.

Nos casos de mastocitoma foram tomados em conta parâmetros como, idade (anos), porte, raça, sexo, estado reprodutivo (castrado ou inteiro) e condição corporal (1-9). O porte dos animais sem raça definida (SRD) foi definido baseados na classificação das raças segundo o peso corporal, cães de pequeno porte < 15 kg, cães de mediano porte de 15 kg a 25kg, grande porte cães 25kg-50kg e gigantes >50kg (MILA et al., 2015).

Além disso foram usados dados como sinais clínicos, tempo de evolução da neoplasia, quantidade de tumores, síndromes para-neoplásicas, descrição da neoplasia, localização do tumor (tronco, axila, membro torácico, membro pélvico, região inguinal, bolsa escrotal, vulva, períneo, ânus, cauda), exame dos linfonodos e evidência de metástase.

O método diagnóstico (citologia ou histopatologia), grau histológico (nos casos onde foi feita avaliação histopatológica), achados de imagem (radiografia, ultrassom), tratamento (cirurgia, quimioterapia, cirurgia associada à quimioterapia), agente quimioterápico, protocolo quimioterápico, tempo de acompanhamento do paciente, exames laboratoriais (hemograma, ureia, creatinina, alanina amino transferase (ALT), proteínas, fosfatase alcalina (FA) também foram analisados em cada caso de mastocitoma. Dos casos que correspondem às outras neoplasias da pele, foram utilizados os dados de raça, idade, sexo, porte, condição corporal, localização do tumor e diagnóstico.

3.5. Análise estatística

Estatística descritiva foi realizada para obter dados de frequência (absoluta e relativa) do mastocitoma enquanto a raça, sexo, idade, condição corporal, estado reprodutivo e localização. De igual forma foram analisados os dados provenientes do exame clínico (sinais clínicos, aumento de linfonodos, características do tumor), método diagnóstico, exames laboratoriais e de imagem, tipo de tratamento, agente quimioterápico e tempo de

acompanhamento. Teste de qui-quadrado foi realizado para estabelecer associação entre algumas variáveis.

O risco de desenvolvimento de mastocitoma de acordo com a raça, sexo, localização, estado reprodutivo e idade foi determinado por análise de regressão logística univariada com base na razão de probabilidades (OR) com um intervalo de confiança de 95%. O grupo controle consistiu em cães com diagnóstico de tumores de pele diferentes do mastocitoma. Os pacientes foram divididos em quatro grupos de idade: (1) 0–3 anos, (2) 4–6 anos, (3) 7–10 anos e (4) 11–16 anos. Seis localizações foram distinguidas: cabeça e pescoço; tronco; membros (torácico e pélvico), região inguinal, região axilar e bolsa escrotal. Essa análise só foi realizada nas raças de cães que foram identificadas com maior predisposição com o cálculo de OR e as raças com maior número de casos na estatística descritiva.

Os animais sem raça definida também foram analisados de acordo com o sexo e estado reprodutivo e foram divididos nas mesmas faixas etárias, foram consideradas as mesmas localizações anatômicas além da cauda. Para fazer a análise do OR foram divididos segundo o porte (pequeno, médio, grande) e o grupo de controle foram os cães SRD com diagnóstico de tumores de pele diferentes do mastocitoma. A análise estatística foi feita com software MedCalc® Versão 20.114.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número total de pacientes atendidos no serviço de oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019 foi de 4072 casos, dos quais 847/4072 - 20,8% foram neoplasias cutâneas e 31% desses casos (266/847) foram diagnosticados como mastocitoma, representando 6,5% (266/4072) da casuística total do serviço. Os casos atendidos por ano podem ser observados na Figura 6.

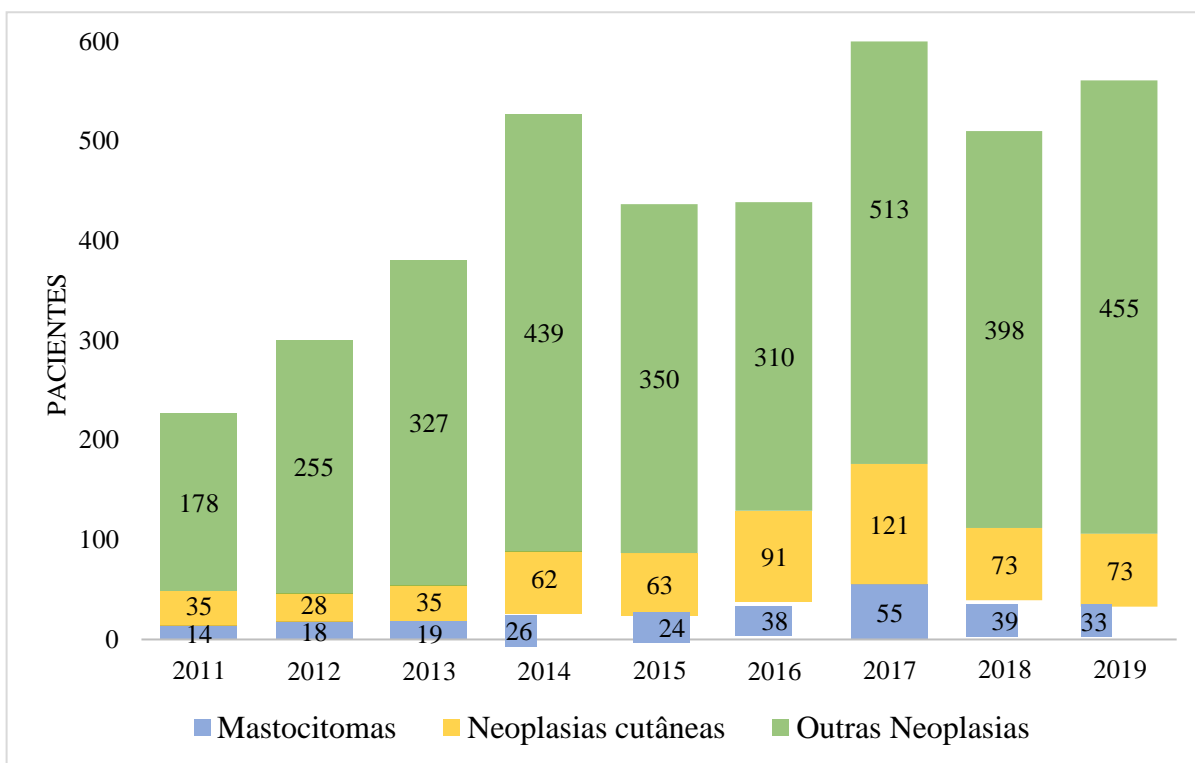


Figura 6. Representação gráfica do número de caninos atendidos por ano no Serviço de Oncologia no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e número de casos de tumores cutâneos e de mastocitomas diagnosticados no período de 2011 até 2019.

A ocorrência de mastocitoma, entre outros tumores da pele, foi substancialmente maior que em outros estudos epidemiológicos prévios em que as porcentagens foram entre o 13 e 17,8% (COSTA et al., 2017; ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019). Na casuística total do serviço de oncologia os mastocitomas analisados representaram um 6,5%, diferente ao estudo de PIERINI et al., 2019 realizado na Itália, em que a porcentagem de mastocitomas entre a totalidade das neoplasias foi somente de 0,77%.

O aumento da casuística pode estar relacionado à conscientização entre os proprietários sobre problemas oncológicos em seus animais de estimação pelo que os tutores submetem a seus cães a exames clínicos e histopatológicos ante os mínimos sinais clínicos que indiquem neoplasias. Esse dado é apoiado por outros resultados, como o de Costa e colaboradores (2017) em um estudo realizado no Brasil que analisou biópsias de cães enviadas para histopatologia

encontrando uma porcentagem similar aos resultados desta pesquisa, já que um 7,08% de todos os tumores recebidos eram mastocitomas.

Dentre os animais com mastocitoma a média de idade dos pacientes foi de 9 anos com um desvio padrão de 3,2 anos, dados que concordam com os resultados dos diferentes estudos encontrados na literatura que relatam uma maior ocorrência entre os 6 e 11 anos de idade aproximadamente (FURLANI et al., 2008; COSTA et al., 2017; ŚMIECH et al., 2017, 2019; SOUZA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2020). Apesar que a ocorrência de mastocitoma é maior em pacientes idosos ocasionalmente pode acometer também cães jovens. Neste estudo um cão de 6 meses de raça Bulldog francês apresentou um mastocitoma e embora não é uma doença frequente em filhotes a literatura tem relatado vários casos em cães com idades inferiores a um ano e sua apresentação está relacionada como mutações do gene c-kit (RIGAS et al., 2020) o que pode ter acontecido nesse paciente, porém estudos de imuno-histoquímica não foram realizados.

Na literatura não foi identificada uma predisposição sexual para o desenvolvimento de mastocitomas (OLIVEIRA et al., 2020). No entanto, alguns estudos epidemiológicos encontrados relatam frequências maiores em machos (FURLANI et al., 2008; CASTRONEVES et al., 2012; CARVALHO et al., 2017; COSTA et al., 2017). Nos resultados deste estudo a maior parte dos pacientes foram fêmeas 158/266 (59%) e 108 foram machos (41%), dados que concordam com os estudos de SOUZA et al., 2018; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019; CAVALCANTE et al., 2020.

Das fêmeas 74 (46,8%) estavam inteiras e 84 estavam esterilizadas (53,2%). Só um 32% (35) dos machos estava castrado e 68% (73) restante eram machos inteiros. A influência da castração no mastocitoma canino ainda não está clara. Nos últimos dez anos, alguns estudos estiveram focados no papel da castração no desenvolvimento de mastocitomas e outras neoplasias. Um estudo avaliando Golden Retrievers encontrou diferença estatisticamente significativa entre a ocorrência de mastocitomas em cães castrados (machos e fêmeas) em comparação com os inteiros, sendo os cães castrados os mais acometidos (TORRES DE LA

RIVA et al., 2013). Porém, outro estudo mais recente não conseguiu encontrar os mesmos resultados em machos da mesma raça e da raça Labrador (HART et al., 2014).

A mesma pesquisa foi feita em cães da raça Pastor alemão e a ocorrência de mastocitoma não foi maior nos castrados do que nos inteiros (HART et al., 2016), porém alguns estudos sugerem um risco aumentado de desenvolvimento de mastocitomas especialmente em fêmeas esterilizadas das raças Golden Retriever e Vizsla demonstrando que quanto mais jovem a idade na gonadectomia, mais cedo a média de idade no diagnóstico de câncer de mastócitos (HART et al., 2014; ZINK et al., 2014). Os resultados do presente trabalho não são diferentes aos descritos anteriormente já que o número de fêmeas esterilizadas com mastocitoma foi maior do que as inteiras com essa neoplasia.

No caso dos machos o comportamento foi diferente já que a maior parte dos pacientes eram cães inteiros. Esses resultados concordam com o trabalho de MOCHIZUKI et al., 2017 que concluiu que os mastocitomas de alto grau são mais frequentemente observados em cães machos inteiros igual que WHITE et al., 2011 que descobriram que cães machos eram duas vezes mais propensos a desenvolver mastocitoma em comparação com cadelas.

A maior parte dos pacientes foram cães sem raça definida (SRD) (98/266 - 36,8%), seguido da raça Boxer (29/266 - 10,9%), Labrador (26/266 - 9,8%), Pitbull (20/266 - 7,5%), Pinscher (18/266 - 6,8%), Poodle (10/266 - 3,8%), Dachshund (10/266 - 3,8%), Pug (7/266 - 2,6%), Bulldog Francês (7/266 - 2,6%), Golden Retriever (6/266 - 2,3%), Sharpei (5/266 - 1,9%), Rottweiler (4/266 - 1,5%), Terrier Brasileiro (4/266 - 1,5%), Yorkshire Terrier (3/266 - 1,1%), Fila Brasileiro (3/266 - 1,1%), Pastor Alemão (2/266 - 0,8%), Dálmata (2/266 - 0,8%), Dogue Alemão (2/266 - 0,8%), Cocker Spaniel (2/266 - 0,8%), Beagle (2/266 - 0,8%), Schnauzer (1/266 - 0,4%), Pelado Mexicano (1/266 - 0,4%), Chow Chow (1/266 - 0,4%), Bullterrier (1/266 - 0,4%), Bulldog Inglês (1/266 - 0,4%) e American Stanfforshire Terrier (1/266 - 0,4%). O número de pacientes atendido por raça pode ser observado na figura 7.

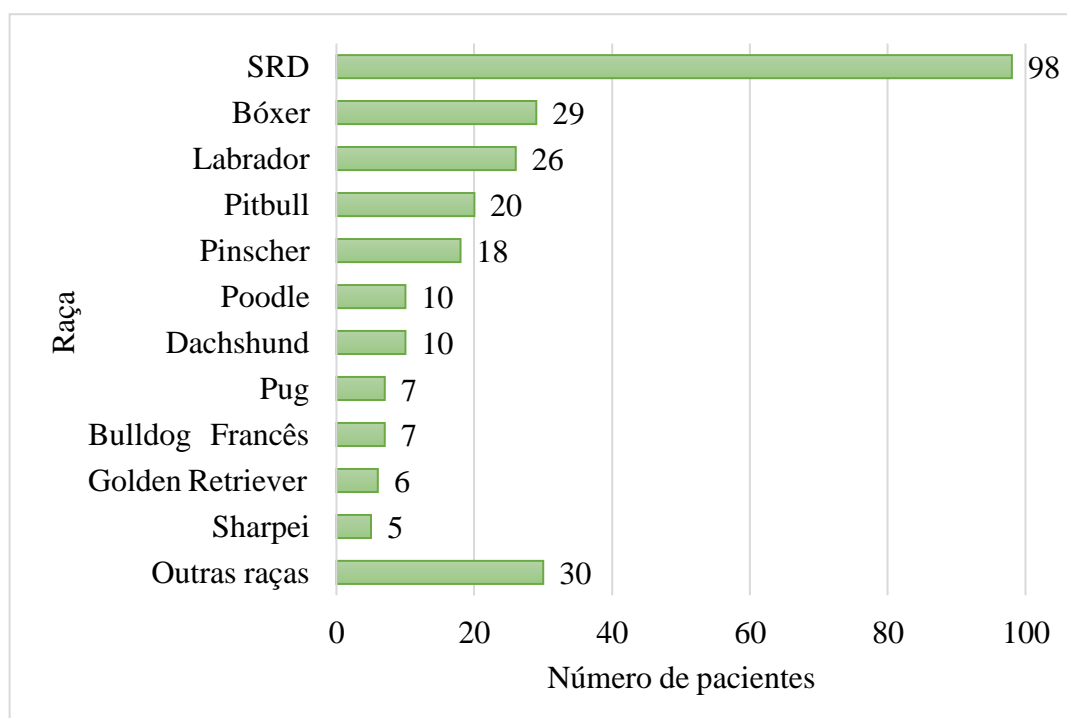


Figura 7. Representação gráfica do número de pacientes diagnosticados com mastocitoma por raça acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

A maior incidência em cães sem raça definida ou cães mestiços pode ser explicada pela predominância destes animais na casuística hospitalar. Um maior número de casos na raça Boxer encontrado nos resultados deste estudo corrobora os achados de vários autores de estudos epidemiológicos que encontraram que essa é a raça mais acometida (CARVALHO et al., 2017; COSTA et al., 2017; ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019; SOUZA et al., 2018; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019). No entanto, Cavalcante e colaboradores (2020) encontraram uma maior incidência em cães de raça Labrador.

American Staffordshire Terrier, Labrador Retriever, Bulldog inglês e francês, Golden Retriever, Shar-pei e Dachshund parecem ter predisposição ao desenvolvimento dessa neoplasia segundo os resultados de vários estudos (WARLAND; DOBSON, 2013; ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019; NEGRU et al., 2021).

As raças mais acometidas nesta pesquisa não são diferentes do encontrado em estudos prévios, porém cães de raça pinscher tiveram uma alta casuística, achado similar aos resultados de outros estudos desenvolvidos no Brasil que indicaram que a raça pinscher é uma raça com alta

incidência de mastocitoma (COSTA-CASAGRANDE et al., 2008; CARVALHO et al., 2017; COSTA et al., 2017; SOUZA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2020).

Devido ao alto número de pacientes SRD, os cães foram classificados também de acordo com o porte ou tamanho do animal; 99/266 cães (37,1%) foram de porte grande, 93/266 (35%) eram de mediano porte, 69 (26%) cães eram pequenos e um 1,9% (5) eram cachorros de porte gigante. Os estudos epidemiológicos prévios não classificam os animais SRD segundo seu tamanho e peso e tomando em conta que o peso do paciente parece ser também um fator de risco para o desenvolvimento de mastocitoma (SHOOP et al., 2015), considerar o peso nesse grupo de cães permitiu ter informação sobre o comportamento da neoplasia em esses animais que cada vez são mais frequentes na atenção hospitalar.

No exame clínico geral dos cães diagnosticados com mastocitoma cutâneo foi encontrado que 1,5% (4/266) dos pacientes estavam em uma condição corporal 2/9 e uma porcentagem igual dos pacientes estavam em uma condição corporal 3/9; 5,6% (15/266) em condição corporal 4/9; 12,4% (33/266) em condição corporal 5/9; 27,8% (74/266) em condição corporal 6/9; 30,45% (81/266) em condição corporal 7/9; 15,03% (40/266) em condição corporal 8/9 e finalmente 5,6% (15/266) em condição corporal 9/9. A condição corporal dos pacientes com mastocitoma analisados neste estudo pode ter sido influenciada por muitos fatores, os pacientes com condições corporais mais baixas demonstraram ter relação com a presença de sinais clínicos, como vômito e prostração, relação que foi estabelecida com o teste de qui-quadrado com um nível de confiança de 95%, obtendo valores de $P < 0,05$. Outras doenças concomitantes nos pacientes poderiam também explicar a baixa condição corporal, porém os prontuários não tinham registro de confirmação diagnóstica de outras patologias.

As condições corporais mais altas que indicam sobrepeso poderiam ter relação com a castração dos pacientes já que a evidencia indica que a gonadectomia aumenta o risco de obesidade nos cães (LEFEBVRE et al., 2013; SIMPSON et al., 2019), porém o teste de qui-quadrado foi realizado para estabelecer associação estatística entre a condição corporal e a castração encontrando que não existe relação entre as variáveis ($P=0,5634$). Doenças metabólicas como hipotireoidismo ou diabetes não foram descartadas e poderiam relacionar-se com a condição corporal dos cães (MOONEY, 2011; MOSHREF et al., 2019).

Dos 266 pacientes atendidos, 38/266 (14,3%) apresentaram diversos sinais clínicos como vômito, melena, prurido, caquexia, hemorragia, diarreia, convulsões, síncope, hematomas

na pele e prostração (Figura 8). Os 228 pacientes restantes (85,7%) não apresentaram sinais clínicos gerais. O vômito foi o sinal clínico mais frequente.

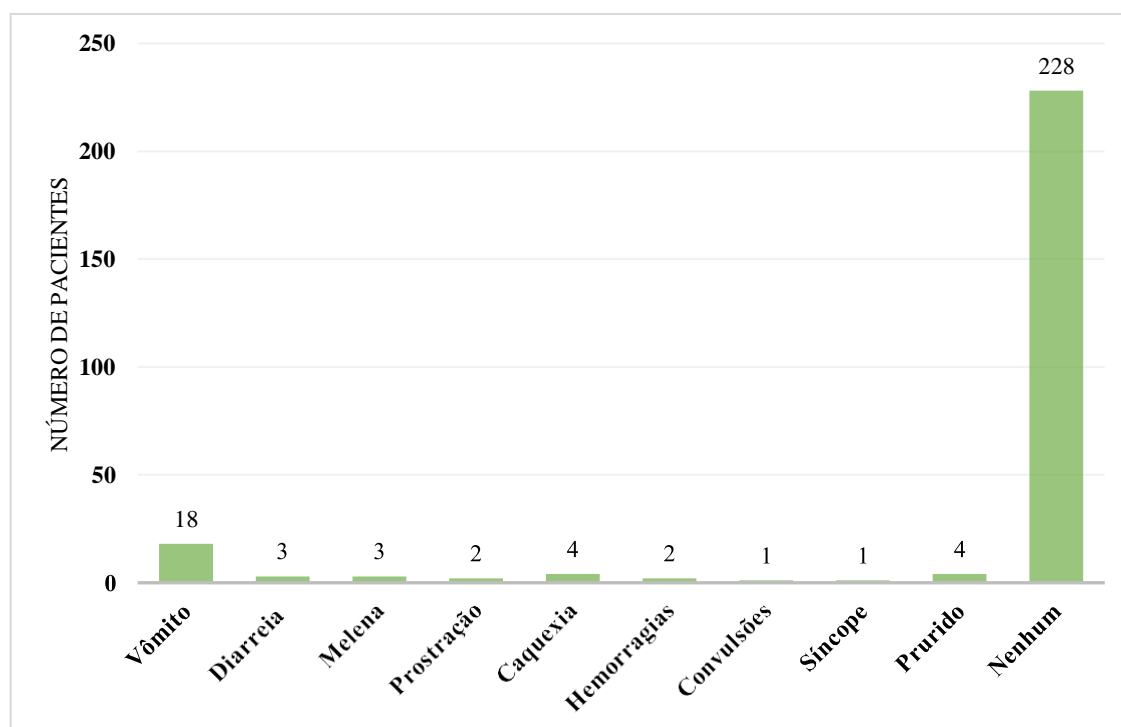


Figura 8. Representação gráfica referente aos sinais clínicos dos pacientes com mastocitoma acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

Os cães com mastocitoma podem apresentar sinais clínicos associados à liberação de substâncias bioativas presentes nos grânulos dos mastócitos como histamina, heparina e proteases (LONDON; THAMM, 2020). Alguns casos tendem a manifestar sinais clínicos sistêmicos relacionados à liberação de histamina pelos mastócitos neoplásicos que estimula os receptores H2 nas células gástricas provocando uma secreção excessiva de ácido clorídrico e hiper mobilidade gástrica, o que de forma constante tem como consequência a formação de ulcerações gástricas e duodenais, cursando com dor abdominal, hematêmese, anorexia, hematoquezia ou melena (GARCÍA, 2011; BLACKWOOD et al., 2012; DE NARDI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020), sinais clínicos que foram encontrados nos pacientes analisados neste estudo.

Os sinais clínicos menos específicos podem ser causados por mastocitoma ou por doenças concomitantes nos pacientes. Existe evidencia de sinais neurológicos associado à

presença de mastocitoma, mas são principalmente sinais de neuropatia periférica e sinais vestibulares (BRAUND et al., 1987; RODIGHIERI et al., 2008), nos resultados deste estudo um paciente apresentou episódios convulsivos, porém não foram realizadas análises complementares de diagnóstico para outras doenças.

Dos 266 pacientes com diagnóstico de mastocitoma cutâneo 230/266 (86,5%) apresentavam apenas um único nódulo (um local), 17/266 – 6,4% apresentaram dois nódulos e os 19/266 (7,1%) pacientes restantes apresentaram mastocitomas múltiplos/disseminados (≥ 3 nódulos) para um total de 330 nódulos em diferentes localizações do corpo. Os mastocitomas têm tendência a se desenvolver como lesões solitárias, mas podem aparecer como formações múltiplas independentes ou como progressão de um nódulo solitário situação que é muito difícil de diferenciar clinicamente (DE NARDI et al., 2022). Na análise dos 266 casos, a maior parte dos pacientes apresentou um único nódulo o que pode ser explicado pela alta incidência de tumores de baixo grau de malignidade que foram encontrados, já que os tumores de mastócitos que são bem diferenciados ou de baixo grau normalmente são lesões solitárias, alopécicas e de crescimento lento, podendo estar presentes e sem mudanças por meses, diferente dos mastocitomas pouco diferenciados que são lesões de crescimento rápido, ulceradas e pruriginosas que algumas vezes tem pequenas lesões perto da principal (BLACKWOOD et al., 2012; DE NARDI et al., 2018).

A região corporal mais afetada foi o tronco, com 111/330 (33,60%) dos nódulos, resultados coincidem com os dados encontrados em vários estudos (ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019), no entanto, alguns estudos relatam que a regiões corporais mais acometidas são os membros (torácicos ou pélvicos) (FURLANI et al., 2008; CARVALHO et al., 2017), local que nos resultados do presente estudo foi o segundo mais acometido com 92/330 (27,90%). As regiões com menor apresentação de tumores foram vulva 3/330 (0,90%), cauda 2/330 (0,60%) e anus 1/330 (0,30%) (Figura 9).

Os casos estudados foram mastocitomas cutâneos de formas variáveis, encontrando-se lesões únicas ou múltiplas, nodulares, em massa ou placas, aderidas, ulceradas, alopécicas, eritematosas, circunscritas e de dimensões variadas. O tamanho dos nódulos foi desde 0,5cm até 17cm aproximadamente. Essa apresentação clínica tão variada encontrada nestes resultados corrobora a informação existente sobre mastocitoma, já que essa neoplasia pode ser considerada como um diagnostico diferencial ante qualquer nódulo da pele devido às variadas formas de apresentação clínica (SOUZA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020; NARDI et al., 2022).

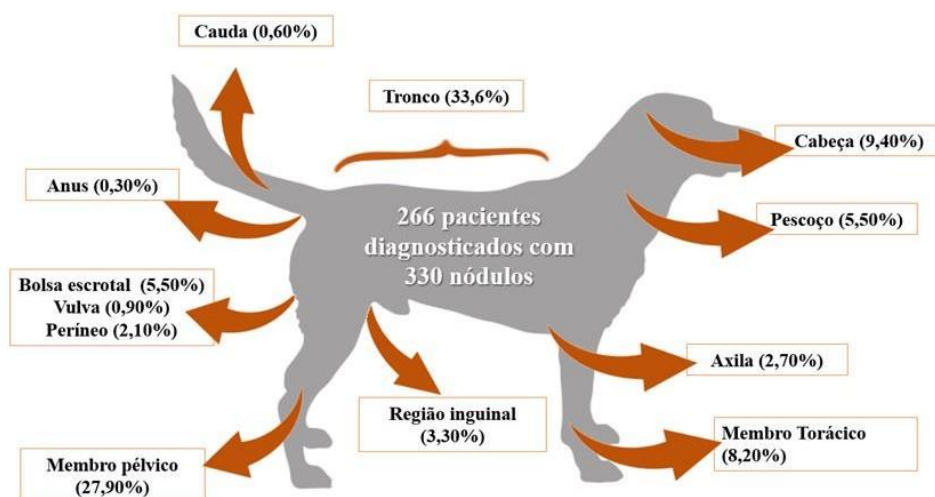


Figura 9. Representação gráfica da localização dos mastocitomas nos cães atendidos no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

O tempo de evolução dos tumores não é exato devido a que esse dado é informado pelo proprietário e alguns tutores não podem informar com certeza o tempo de evolução da lesão por diversas causas. A média do tempo de evolução dos 266 pacientes atendidos foi de 10,9 meses; o menor tempo de evolução reportado nos pacientes foi de uma semana e o máximo de 156 meses. A informação do tempo de evolução é coletada diretamente com os proprietários no momento da consulta pelo que pode não ser fidedigna já que os tutores podem não saber com certeza o tempo de desenvolvimento da doença ou ocultar informação aos veterinários.

Na palpação dos linfonodos, 65% (173/266) dos cães não apresentaram aumento no tamanho de nenhum dos linfonodos, 7,5% (20/266) apresentaram aumento nos linfonodos inguinais, 6% (16/266) linfonodos poplíteos, 5,2% (14/266) aumento dos submandibulares, 4,1% (11/266) aumento de linfonodos pré-escapulares. Uma pequena porcentagem de pacientes (3%) tinha aumento nos linfonodos inguinais e poplíteos (8/266); aumento de linfonodos inguinais e submandibulares foi encontrado no 2,6% (7/266) dos pacientes. Aumento dos linfonodos axilares e dos cervicais superficiais foi encontrada no 1,1% (3/266) respectivamente. Em menor proporção foram achados aumentos de linfonodos ilíacos e pacientes com vários linfonodos aumentados. Na tabela 6 pode-se observar o número de pacientes com aumento de linfonodos e a localização anatômica dos tumores desses pacientes.

Tabela 6. Pacientes com aumento de linfonodos diagnosticados com mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

Linfonodos aumentados	Número de pacientes	Localização do tumor
Inguinais	20/266	7/20 (35%) Membro pélvico 4/20 (20%) Tronco 3/20 (15%) Bolsa escrotal 2/20 (10%) Membro pélvico e tronco 1/20 (5%) Região inguinal 1/20 (5%) Região inguinal, tronco e membro pélvico 1/20 (5%) Vulva 1/20 (5%) Cabeça, pescoço e tronco
Poplíteos	16/266	9/16 (56,2%) Membro pélvico 2/16 (12,5%) Membro torácico e membro pélvico 1/16 (6,25%) Bolsa escrotal 1/16 (6,25%) Cauda 1/16 (6,25%) Região inguinal 1/16 (6,25%) Tronco 1/16 (6,25%) Membro pélvico, tronco e pescoço
Submandibulares	14/266	7/14 (50%) Cabeça 2/14 (14,28%) Cabeça e membro pélvico 2/14 (14,28%) Membro pélvico, tronco e cabeça 1/14 (7,14%) Pescoço 1/14 (7,14%) Tronco 1/14 (7,14%) Membro pélvico
Pré-escapulares	11/266	5/11 (45,4%) Tronco 3/11 (27,3%) Membro torácico 1/11 (9,1%) Pescoço 1/11 (9,1%) Pescoço e bolsa escrotal 1/11 (9,1%) Membro pélvico
Inguinais e poplíteos	8/266	5/8 (62,5%) Membro pélvico 1/8 (12,5%) Bolsa escrotal 1/8 (12,5%) Bolsa escrotal e membro pélvico 1/8 (12,5%) Pescoço
Inguinais e submandibulares	7/266	4/7 (57,1%) Tronco 1/7 (14,3%) Bolsa escrotal 1/7 (14,3%) Membro pélvico 1/7 (14,3%) Região inguinal
Axilares	3/266	2/3 (66,7%) Tronco 1/3 (33,3%) Axila
Cervicais superficiais	3/266	1/3 (33,3%) Tronco 1/3 (33,3%) Membro torácico 1/3 (33,3%) Membro pélvico
Íliacos	3/266	2/3 (66,7%) Tronco 1/3 (33,3%) Membro pélvico
Íliacos e inguinais	3/266	2/3 (66,7%) Membro pélvico 1/3 (33,3%) Região inguinal
Cervical superficial e inguinal	1/266	Membro torácico
Axilar e poplíteo	1/266	Tronco
Submandibular e pré-escapular	1/266	Tronco
Submandibular e poplíteo	1/266	Tronco
Submandibular, poplíteo e axilar	1/266	Membro pélvico

O aumento dos linfonodos nos pacientes pode indicar metástase, porém não em todos os casos foi confirmada; os linfonodos aumentados são principalmente os regionais ou os mais próximos à localização anatômica do tumor, assim, os linfonodos inguinais, poplíteos e ilíacos estavam aumentados em pacientes com tumores em membros pélvicos, bolsa escrotal, região inguinal cauda, vulva e tronco. O aumento dos submandibulares, pré-escapulares, axilares e/ou cervicais superficiais foi encontrado principalmente em pacientes com mastocitomas em cabeça, pescoço, membros torácicos, axila e tronco.

Alguns pacientes apresentavam aumento de linfonodos distantes, o que pode significar metástase a distância, no entanto, é necessário o estudo citológico ou histopatológico desses linfonodos para confirmar, procedimento que não foi realizado em todos os pacientes pelas condições clínicas, por decisão do médico veterinário ou pela impossibilidade do tutor para pagar alguns procedimentos médicos. A avaliação dos linfonodos nos pacientes com mastocitoma é muito importante já que identificar processos de metástase ao linfonodo está correlacionada com um pior prognóstico dos pacientes (WORLEY, 2014; PIERINI et al., 2019).

O diagnóstico dos pacientes foi realizado com base em exames citológico e histopatológico somado aos achados clínicos e avaliação macroscópica. Neste estudo o 62,4% (166/266) dos pacientes foram diagnosticados unicamente com citologia; 28,2% (75/266) fizeram citologia, mas precisaram de confirmação por histopatologia e 9,4% (25/266) foram diagnosticados unicamente com estudo histopatológico.

A classificação dos 100 pacientes que fizeram estudo histopatológico foi baseada nos sistemas de classificação de Patnaik (Grau I, II e III) e Kiupel (Baixo e alto grau), assim, 44/100 (44,0%) apresentavam mastocitomas classificados como grau I ou baixo grau; 37/100 (37,0%) foram classificados como, grau II, baixo grau. Os tumores de baixo grau foram encontrados com maior frequência em tronco e membros pélvicos. Dos 100 pacientes 5 (5,0%) foram grau II, alto grau; finalmente 14/100 (14,0%) dos pacientes apresentavam mastocitoma de grau III alto grau. Os tumores de alto grau estavam presentes em regiões como membros pélvicos, tronco e cabeça (Figura 10).

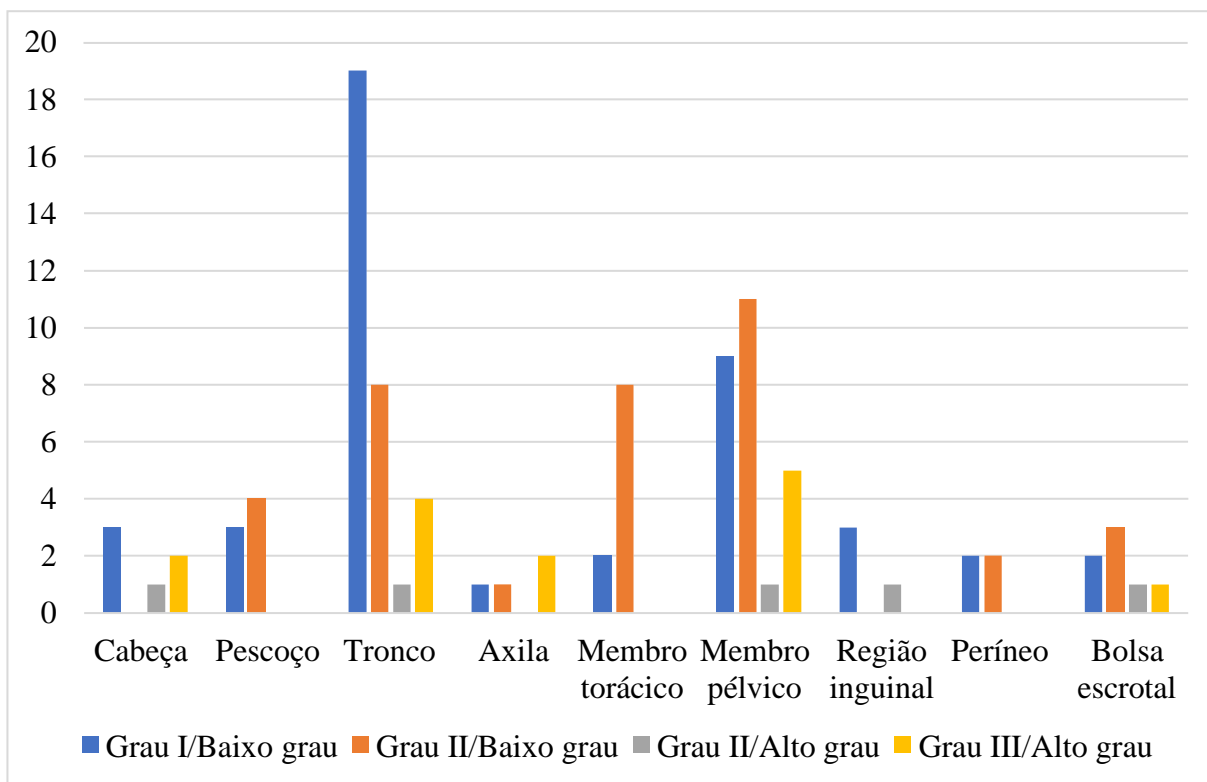


Figura 10. Representação gráfica referente à classificação histopatológica mediante o sistema de Patnaik e Kiupel dos 100 pacientes diagnosticados por histopatologia no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

A citologia é uma técnica rápida, de baixo custo, não invasiva e de grande utilidade para o diagnóstico precoce já que os mastócitos esfoliam com facilidade e podem ser identificados mediante coloração metacromática dos grânulos intracitoplasmáticos. A maioria dos mastócitos neoplásicos no cão se assemelham aos seus homólogos não neoplásicos, e os mastocitomas cutâneos e subcutâneos são identificados facilmente por aspirados com agulha fina, porém alguns mastocitomas pobremente diferenciados representam um desafio para o diagnóstico somente com citologia (CAMUS et al., 2016). A histopatologia é o padrão ouro para o diagnóstico do mastocitoma além de que permite diferenciar entre mastocitomas cutâneos e subcutâneos (KIUPEL; CAMUS, 2019). Apesar de ser um teste diagnóstico fundamental, nos casos analisados neste estudo não foi realizado na totalidade dos pacientes o que pode ser por causa dos tutores que recusam a realização do teste, ou por falta de recursos econômicos para pagar a biopsia ou porque o paciente veio à óbito.

Radiografia torácica (RX) e ultrassonografia abdominal (USG) foram realizadas na totalidade dos pacientes com a finalidade de procurar metástase nos órgãos abdominais, linfonodos e tórax. Além disso dois pacientes fizeram tomografia computadorizada (TC). Os exames de imagem são necessários para determinar o estágio clínico de cada paciente já que permitem encontrar disseminação da doença a vários órgãos (LONDON; THAMM, 2020).

Nas radiografias foi encontrado padrão bronquial difuso em 9% (24/266) dos pacientes e foi a alteração mais frequente, seguido de padrão misto (intersticial e bronquial) com 6% (16/266) e padrão intersticial difuso 4,1% (11/266), alterações que podem ser compatíveis com senilidade, broncopatia ou doenças metabólicas (YOON et al., 2019). Outras alterações encontradas nas radiografias de tórax foram presença de nódulos em 2,2% (6/266) dos cães e padrão intersticial nodular em 0,4% (1/266), achados compatíveis com processos neoplásicos primários ou metastáticos. Alterações como aumento do átrio direito e espondilose deformante foram encontradas também em 0,4% (1/266) dos pacientes respectivamente (Figura 11).

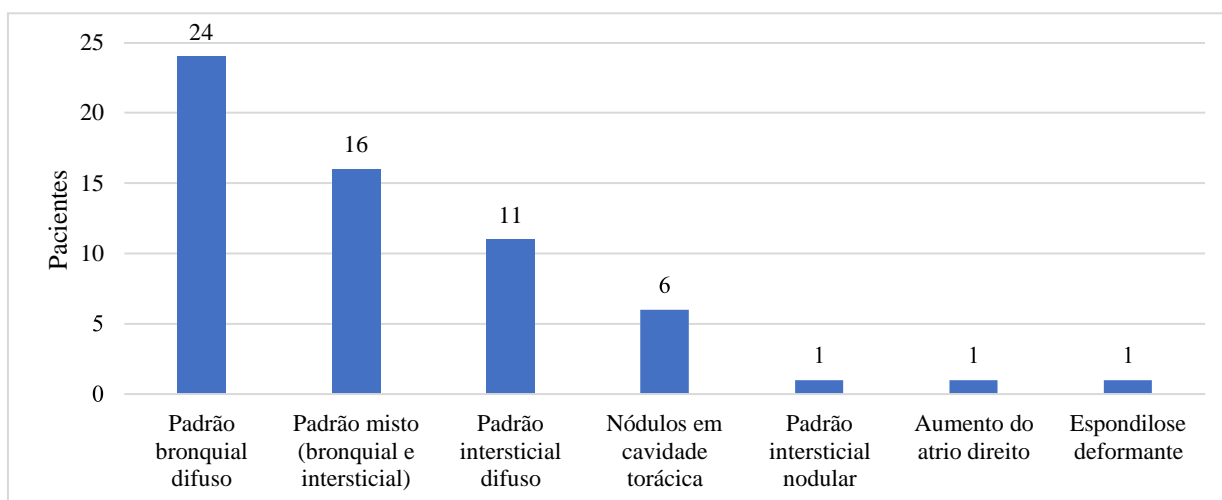


Figura 11. Representação gráfica das alterações encontradas na radiografia de tórax dos pacientes com diagnóstico de mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

Essas alterações não têm uma relação direta com o mastocitoma assim que podem ser doenças concomitantes com a neoplasia. A espondilose deformante é uma condição degenerativa da coluna vertebral e nos casos analisados foi um achado acidental nas radiografias (PANINÁROVÁ et al., 2016). O aumento do tamanho dos átrios pode ser o

resultado da remodelação cardíaca a consequência de uma doença valvular que poderiam ter os pacientes no momento do exame devido à idade e/ou a raça (MALCOLM et al., 2018; KEENE et al., 2019).

Na USG o achado clínico mais frequente foi a esplenomegalia em 18,4% (49/266) dos cães, seguido de hepatomegalia em 7,8% (21/266); nódulos esplênicos em 7,1% (19/266), aumento de linfonodos ilíacos e inguinais em 5,3% (14/266). Mudanças na aparência dos rins como aumento da ecogenicidade cortical e pouca diferenciação da junção cortiço-medular, foram encontradas no 3,4% (9/266) dos pacientes, achados compatíveis com nefropatia. Um baço de aspecto grosseiro foi encontrado em 3% (8/266) dos cães e hiperplasia prostática em 2,6% (7/266). Lama biliar, nódulos em fígado e cistos no baço foram achados em 1,8% (5/266), 1,5% (4/266) e 1,12% (3/266) respectivamente. As alterações menos frequentes foram, ovários policísticos, cálculos em vesícula biliar, líquido livre em abdômen, fibrose hepática, massa cranial à bexiga, cistos prostáticos e linfonodos mesentéricos reativos cada uma com 0,4% (1/266) (Figura 12).

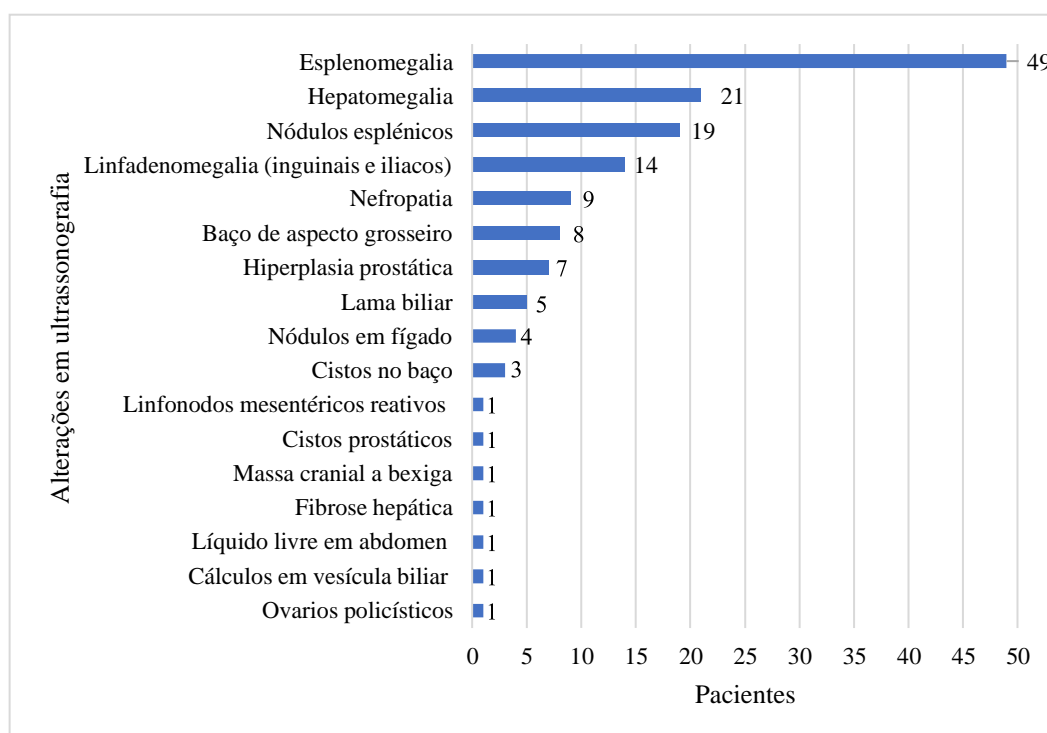


Figura 12. Representação gráfica das alterações encontradas na ultrassonografia abdominal dos pacientes com diagnóstico de mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

A ultrassonografia é feita em pacientes com mastocitoma com a finalidade de identificar metástase em órgãos ou em linfonodos abdominais e nos resultados deste estudo a esplenomegalia e hepatomegalia foram as alterações mais frequentes. O baço e o fígado são órgãos que podem ser acometidos no processo de metástase do mastocitoma já que inicialmente se espalham para os SLNs, depois para o baço e o fígado e, finalmente, para outros órgãos viscerais e, em alguns casos, para medula óssea (WILLMANN et al., 2021), porém um aumento do tamanho dos órgãos não é indicativo de um infiltrado metastático, uma citologia feita com aspiração com agulha fina é necessária para a confirmação. A esplenomegalia nos pacientes analisados pode ser também um achado de outras doenças como as infecções transmitidas por carrapatos que tem uma alta prevalência nos cães brasileiros (SARMA; MONDAL; SARAVANAN, 2016; DANTAS-TORRES et al., 2020). A hepatomegalia, pode ser o resultado de muitas doenças infecciosas e não infecciosas e não necessariamente indicar metástase do mastocitoma (SONET et al., 2018; NEGASEE, 2021).

A hiperplasia prostática foi uma alteração que também foi encontrada nos pacientes analisados e tomando em conta a idade média dos animais e que a maior parte dos machos não estavam castrados é um achado esperado, porque a presença de um testículo funcional é fundamental para o desenvolvimento desse processo, já que a diidrotestosterona tem sido associada à hiperplasia prostática, encontrando-se maiores concentrações no tecido prostático hiperplásico em comparação com o tecido normal. Com o envelhecimento, quando a relação estrogênio/testosterona aumenta, a próstata se torna mais responsiva à ação androgênica (CUNTO; BALLOTTA; ZAMBELLI, 2022).

Outras alterações encontradas com menor frequência como os cistos prostáticos, fibrose hepática, ovários policísticos e calculos em vesícula biliar foram achados isolados que não foram relacionados com o desenvolvimento de mastocitoma.

Dos pacientes diagnosticados com mastocitoma cutâneo 163/266 apresentavam registros de exames laboratoriais como hemograma, ureia, creatinina, alt, proteínas e fosfatase alcalina. Não foi possível a análise dos resultados da totalidade dos pacientes já que alguns não tinham registros dos exames devido a que não todos os tutores autorizaram a realização dos exames ou foram realizados em laboratórios externos ao hospital e não ficaram os laudos no prontuário.

Nos dados coletados do hemograma Anemia ($Hto < 37\%$) foi uma alteração encontrada em 35,5% (58/163) dos pacientes; leucopenia ($< 6000 \text{ cels}/\mu\text{L}$) foi um achado de 7,3% (12/163)

dos cães e leucocitose (> 17000 cels/ μ L) no 23,9% (39/163). Neutropenia (< 3000 cels/ μ L) em 3,6% (6/163) e Neutrofilia (> 11400 cels/ μ L) em 29,4% (48/163). Os pacientes que apresentaram linfopenia (<1000 cels/ μ L) foram 24,5% (40/163) e linfocitose (>4800 cels/ μ L) em 3,6% (6/163) dos cães. Monocitose (>1350 cels/ μ L) foi uma alteração do 17,1% (28/163) dos pacientes acompanhados. Cães com eosinopenia (<100 cels/ μ L) representaram o 24,5% (40/163) dos pacientes examinados igual ao numero de cães com eosinofilia (>750 cels/ μ L) (40/163). A trombocitopenia (<200000 cels/ μ L) foi achada em 22,7% (37/163) dos pacientes e trombocitose (>500000 cels/ μ L) no 5,5% (9/163).

A anemia foi a alteração mais encontrada nos pacientes analisados e em cães com mastocitoma este achado pode-se relacionar com as perdas de sangue causadas por sinais clinicos como melena, hematoquezia, ulceras gastroduodenais e hematemese que são sinais causados por à liberação de histamina pelos mastócitos neoplásicos que estimula os receptores H2 nas células gástricas provocando uma secreção excessiva de ácido clorídrico de forma constante (GARCÍA, 2011; BLACKWOOD et al., 2012; DE NARDI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020). A infiltração de células neoplasicas na medula óssea também tem sido identificada como causa de anemia, um relato de caso de uma cadela com anemia imunomediada evidenciou a presença de mastócitos neoplásicos e histiócitos fagocitando células progenitoras eritróides em esfregaços de medula (AKIYOSHI et al., 2021). Os pacientes anémicos neste grupo de cães também pode ter relação com as infecções transmtidas por carrapatos que como foi mencionado anteriormente são muito prevalentes no país.

Diversas alterações dos leucócitos foram identificadas, e podem estar relacionadas com procesos inflamatorios e /ou infecciosos locais dos nódulos de cada paciente, com doenças concomitantes que não foram identificadas no momento da consulta no serviço de oncologia ou por envolvimento da medula ósea (MARCONATO et al., 2008). Esfregaço de medula não foi realizado em nenhum dos pacientes analisados.

Dos 266 cães 40 apresentaram eosinofilia, os eosinófilos são um componente celular do sistema imunológico recrutado durante reações alérgicas, distúrbios autoimunes e processos neoplásicos, assim como os mastócitos, os eosinófilos se originam na medula óssea e contêm grânulos ricos em citocinas, especificamente IL-5, e prostaglandinas que comandam a resposta alérgica, além das interações com os mastócitos circundantes, Quando em contato próximo, mastócitos e eosinófilos formam a unidade efetora alérgica, o que leva a um estado hiperativo e à liberação de mediadores solúveis dos grânulos de ambas as células. Os produtos granulares

dos mastócitos, como a IL-5, modulam as funções dos eosinófilos, e o fator de células-tronco liberado pelos eosinófilos ajuda a ativar os mastócitos, estimulando assim as interações bidirecionais mastócitos-eosinófilos pelo que encontrar eosinófilos infiltrados nos tumores onde há grande quantidade de mastócitos é comum, porém a eosinofilia periférica paraneoplásica tem sido relatada esporadicamente na literatura e somente em pacientes com mastocitoses periférica (MUSSER et al., 2018).

Tanto a trombocitopenia como a trombocitose são alterações que tem sido descritas em pacientes com neoplasias (GRINDEM et al., 1994; NEEL; SNYDER; GRINDEM, 2012; WOOLCOCK et al., 2017) mas também podem estar associadas com outros processos patológicos. No caso da trombocitopenia, doenças como a erliquiose podem causar esta alteração na maioria dos cães infetados apesar de estar na fase subclínica da doença (HARRUS; WANER, 2011; BADILLO et al., 2017) e tomando em conta que esta é uma doença muito comum na casuística hospitalar poderia estar relacionada com o nível de plaquetas dos pacientes analisados neste estudo.

Nos casos de neoplasias ocorre trombocitose secundária ou reativa derivada do processo inflamatório. A doença inflamatória causa trombocitose através de uma variedade de mecanismos mas principalmente é a IL-6, uma citocina envolvida na resposta de fase aguda, a responsável de aumentar a produção de trombopoietina. A trombopoietina é um hormônio glicoprotéico produzido pelo fígado e às vezes é referido como fator de crescimento e desenvolvimento de megacariócitos devido ao seu efeito na medula óssea, estimulando a proliferação de megacariócitos e a produção de plaquetas (WOOLCOCK et al., 2017). Nos casos de mastocitoma a degranulação dos mastócitos libera substâncias bioativas como histamina, heparina e proteases que promovem o processo inflamatório o que pode explicar o aumento do número de plaquetas em alguns dos casos analisados.

Na bioquímica sanguínea 31,2% dos cães (51/163) apresentaram aumentos nos níveis de ureia (>40mg/dL) e só 1,8% (3/163) diminuição dos níveis normais (<15mg/dL). A creatinina estava aumentada em 3,6% (6/163) dos pacientes com concentrações maiores de 1,7mg/dL. Outros achados foram aumentos da ALT (>109 U/L) em 12,8% (21/163) dos cães e FA aumentada (>114 U/L) em 27,6% (45/163). Hiperproteinemia foi um achado de quase metade dos pacientes, 46% (75/163) dos cães apresentaram níveis de proteína sérica maiores a 7,5g/dL, contrário a isso só um 3% (5/163) apresentou hipoproteinemia (<6,0g/dL). Hipoalbuminemia encontrou-se em 20,2% (33/163) e aumentos da albumina sérica em 17,8%

(29/163) dos cães. A estatística descritiva dos resultados dos análises sanguíneos pode ser vista na tabela 7.

Tabela 7. Resultados da estatística descritiva dos exames laboratoriais dos pacientes diagnosticados com mastocitoma cutâneo acompanhados no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

Parâmetro	N	Média \bar{X}	Desvio Padrão (S)	Mínimo	Mediana	Máximo
Hematócrito (%)	163	39,5	8,3	15,7	39,9	58
Leucócitos (Cels/ μ L)	163	14.160	9.906,6	2.800	11.600	88.000
N. segmentados (Cels/ μ L)	163	10.932	9.438,5	1.708	8.239	83.472
Linfócitos (Cels/ μ L)	163	2.046,4	2.390,9	132	1.584	23.715
Monócitos (Cels/ μ L)	163	832,98	858,84	0	594	5.540
Eosinófilos (Cels/ μ L)	163	496,67	566,97	0	330	3.192
Plaquetas (Cels/ μ L)	163	298.368	127.083	20.000	299.000	672.000
Ureia (mg/dL)	163	43,76	55,6	9	32	596
Creatinina (mg/dL)	163	1,09	1,02	0,3	0,9	9,4
ALT (U/L)	163	100,5	389,7	9	46	4900
Proteínas (g/dL)	163	7,56	1,13	5	7,4	12
Albumina (g/dL)	128	2,7	0,65	1,1	2,7	4,7
FA	163	156,3	409,6	16	67	4613

Na revisão de literatura feita neste trabalho não foram encontrados estudos que analisaram os resultados da bioquímica em populações grandes de cães com mastocitoma cutâneo já que as mudanças nos níveis dos diferentes analitos não são causados diretamente pela presença do tumor na pele. Alguns estudos indicam a análise da bioquímica sanguínea em cães pode ser auxiliar para identificar processos de metástase em órgãos abdominais e estadiar os pacientes (WILLMANN et al., 2021). A infiltração de mastócitos nos diferentes órgãos pode gerar alterações na bioquímica (MARCONATO et al., 2008), porém, esses achados não sempre estão presentes em todos os cães com mastocitoma (ACEINO et al., 2021; AKIYOSHI et al., 2021; WILLMANN et al., 2021).

Hiperproteinemia foi a alteração mais frequente em quase a metade dos pacientes com análises laboratoriais; a análise das proteínas séricas incluem a albumina e as globulinas os níveis de elas regulam as proteínas totais no sangue. Dos pacientes analisados 75 apresentaram

hiperproteinemia porém, 33 apresentavam baixos níveis de albumina o que indica que o aumento marcado das proteínas é provavelmente causado por incremento das globulinas. As globulinas podem estar elevadas em casos agudos e crônicos de doenças inflamatórias já que como resultado da ativação das respostas inflamatórias do hospedeiro, suas concentrações aumentam em resposta a qualquer alteração na homeostase ou lesão tecidual (TOTHOVA; NAGY; KOVAC, 2016). Elas têm funções específicas na regulação de processos inflamatórios locais como os que podem acontecer com a degranulação de mastócitos neoplásicos, fenômeno que pode acontecer com frequência nos pacientes com mastocitomas como os incluídos neste estudo (BLACKWOOD et al., 2012).

Alterações nos níveis de ureia e creatinina também foram encontrados. Ureia e creatinina não são testes específicos para analisar o comportamento das neoplasias, são analisados principalmente para identificar disfunção renal que pode estar relacionada a danos aos glomérulos, néfrons, túbulos, tecidos intersticiais e vasos sanguíneos renais por diversas doenças (EZE et al., 2019). Embora os níveis de ureia no sangue podem fornecer informação da taxa de filtração glomerular, a análise individual tem uma confiabilidade limitada. Aumento dos níveis de ureia podem estar influenciados por diversos fatores extra-renais como estados de desidratação, ingestão de dietas hiperproteicas, hemorragias gastrointestinais e todas aquelas situações em que o catabolismo protéico aumenta (CORTADELLAS; FERNÁNDEZ, 2012). Os pacientes com mastocitoma podem apresentar úlceras gastroduodenais que causam hemorragias, situação que poderiam explicar o aumento da ureia em alguns pacientes. Ao contrário disso os níveis baixos de ureia são relacionados com diminuição na ingestão de proteínas ou insuficiência hepática pelo que pacientes com mastocitoma que apresentam anorexia poderiam ter níveis baixos de ureia no sangue.

A creatinina é um teste mais confiável de função renal e os pacientes deste estudo com incremento da creatinina foram aqueles que também mostraram mudanças dos rins na ultrassonografia, o que pode indicar a presença de nefropatia concomitante com o desenvolvimento da neoplasia.

Os aumentos de enzimas como a ALT indicam alterações estruturais do fígado. A ALT é uma enzima encontrada principalmente no citosol dos hepatócitos e liberada na circulação após o rompimento da membrana hepatocelular, então a magnitude do aumento da atividade de ALT aproxima-se do grau de dano aos hepatócitos (ALVAREZ; WHITTEMORE, 2009). O fígado é um local comum de metástase dos mastocitomas (NARDI et al., 2022) o que pode

provocar um dano dos hepatócitos e aumentar os níveis de ALT no sangue, porém a confirmação deste processo deve ser feita a través de aspiração com agulha fina e posterior análise histopatológica (BROWN et al., 2022). Neste estudo a citologia para confirmação da metástase ao fígado foi realizada somente em um cão, assim que não é possível garantir que os aumentos da ALT nos pacientes seja causada por mastocitoma e tem que ser consideradas outras doenças concomitantes que causam dano hepático.

A FA é considerada uma enzima hepática induzível ou colestática que aumenta em diversas condições. As atividades da FA aumentam com fluxo biliar alterado pelo que as neoplasias podem induzir aumentos na FA devido a que provocam colestase intra-hepática (ALVAREZ; WHITTEMORE, 2009). Baseados nessa informação é possível pensar que os mastocitomas com metástase ao fígado podem induzir aumentos da FA, porém neste estudo não é possível garantir que os aumentos da enzima estejam relacionados à neoplasia porque a metástase ao fígado só foi confirmada em um paciente.

Dos 266 pacientes que foram diagnosticados com mastocitoma por citologia ou histopatologia, 51 cães apresentaram metástase do tumor (Figura 13). Os locais de metástase mais frequentes foram os linfonodos inguinais (18/51), metástase cutânea multifocal (6/51), linfonodos axilares (5/51), linfonodos popliteos (5/51), linfonodos submandibulares (4/51), linfonodos cervicais superficiais (4/51), baço (4/51), pulmão (2/51), fígado (1/51), linfonodos ilíacos (1/51) e linfonodos pré-escapulares (1/51). Recidivas locorregionais foram encontradas em 11 dos 266 cães diagnosticados com mastocitoma, o tempo médio de recidiva do tumor após a excisão cirúrgica ou a quimioterapia foi entre 2 e 48 meses.

Segundo WILLMANN e colaboradores em 2021 no processo de metástase o mastocitoma inicialmente se espalham para os SLNs, dado que é apoiado por os resultados do presente estudo onde os locais mais acometidos foram diversos linfonodos. Depois de atingir os linfonodos o mastocitoma pode ir para o baço e o fígado, locais que também foram acometidos nos pacientes incluídos neste estudo. Finalmente, para outros órgãos viscerais e, em alguns casos, para a medula óssea (MARCONATO et al., 2008; AKIYOSHI et al., 2021); nos resultados obtidos não foi encontrada metástase para medula óssea, porém esfregaços de medula não foram realizados em nenhum dos cães. O envolvimento pulmonar é considerado muito raro nos cães com mastocitoma cutâneo, no entanto dos 266 pacientes incluídos na pesquisa dois tinham registro de metástase ao pulmão que foi identificada unicamente com radiografia o que não descarta neoplasias primárias de pulmão (CARTAGENA-ALBERTUS et al., 2019).

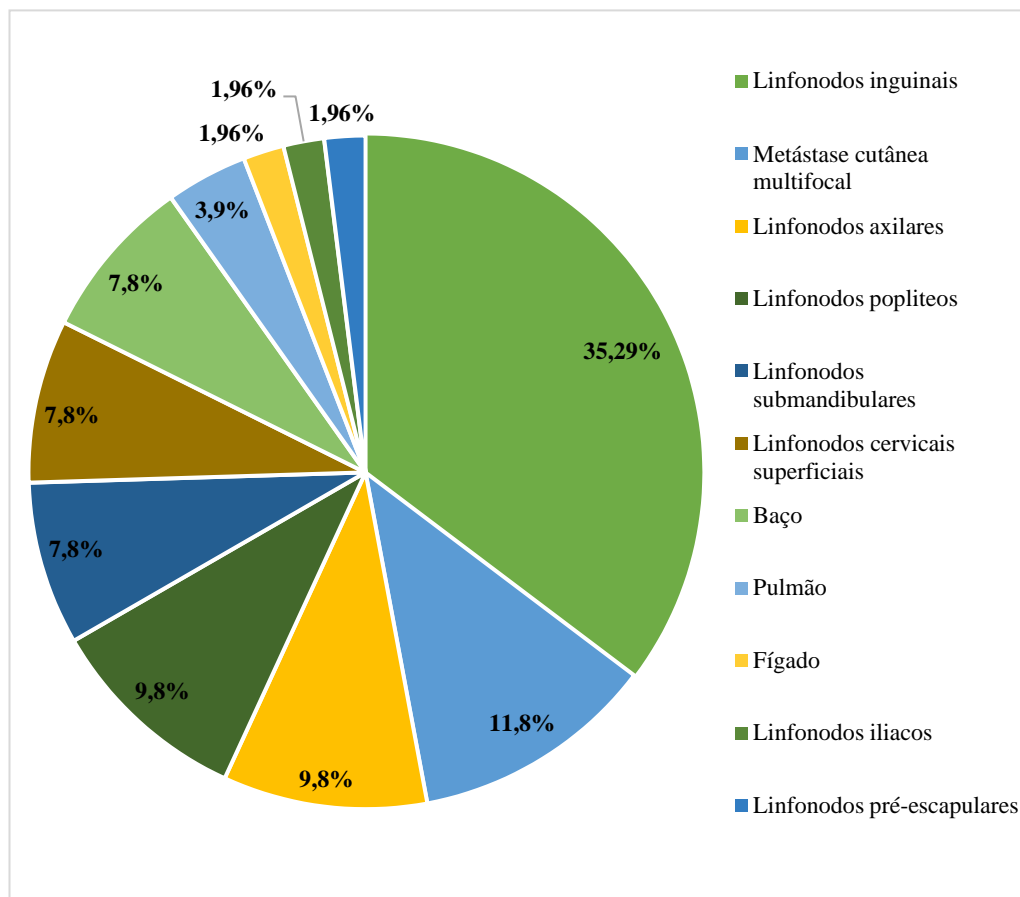


Figura 13. Representação gráfica dos locais de metástase mais frequentes em 51 cães diagnosticados com mastocitoma metastático no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

O estadiamento dos pacientes foi realizado com base nos dados obtidos dos prontuários; no estágio I foram classificados 69,17% dos pacientes (184/266) que tinham um único tumor sem comprometimento de linfonodos regionais; no estágio II foram classificados 11,65% (31/266) dos pacientes, dado que corresponde aos pacientes com um numero maior a tres tumores sem envolvimento de linfonodos regionais. Os cães com um único tumor mas com comprometimentos de linfonodos regionais ou em estágio III, representaram o 9,0% (24/266). No estágio IV foram classificados 5,26% (14/266) dos cães, aqueles que tinham tumores grandes e infiltrativos ou mais de tres tumores com envolvimento de linfonodos regionais. No ultimo estágio foram classificados os pacientes com qualquer tumor com metástase à distância 4,1% (11/266).

Os pacientes incluídos no estudo foram tratados com diversos protocolos dependendo de cada caso. O 37,6% (100/266) dos cães foi tratado somente com cirurgia, 31,6% (84/266) realizou excisão cirúrgica do tumor e quimioterapia, 12% (32/266) recebeu só quimioterapia. Electroquimioterapia com cirurgia foi utilizada em 1,5% (4/266) dos pacientes. Dois pacientes (0,7%) precisaram criocirurgia e quimioterapia e 0,4% (1/266) só fez criocirurgia. Dentre os 266 cães, 43 (16,2%) não receberam tratamento específico para o mastocitoma, alguns não retornaram ao serviço de oncologia após o diagnóstico e outros não conseguiram receber tratamento antes do óbito.

Dos protocolos quimioterápicos utilizados nos pacientes diagnosticados com mastocitoma o mais frequente foi a associação de vimblastina + prednisona no 45,3% (53/117) dos casos, seguido do uso de lomustina 15,4% (18/117) como terapia para citorredução do tumor antes da excisão cirúrgica. Vimblastina + lomustina + prednisona foi um protocolo utilizado num 12,8% (15/117) dos casos e lomustina + prednisona num 11,2% (14/117) dos pacientes. Outros protocolos registrados foram vimblastina + ciclofosfamida + prednisona 5,1% (6/117), doxorrubicina + ciclofosfamida + vincristina 2,6% (3/117), ciclofosfamida 2,6% (3/117), lomustina + vincristina 0,8% (1/117), vimblastina + lomustina + ciclofosfamida 0,9% (1/117), lomustina e ciclofosfamida 0,9% (1/117), clorambucil + prednisona 0,9% (1/117) e lomustina e toceranib 0,9% (1/117). As doses dos quimioterápicos usados e os efeitos adversos registrados nos prontuários dos pacientes não são diferentes do relatado na literatura para cada um dos fármacos (tabela 8).

Dos 266 pacientes diagnosticados com mastocitoma, 123 cães foram somente acompanhados no dia da consulta, momento em que foram coletadas as amostras para citologia ou histopatologia para confirmação do diagnóstico clínico e não tem registro de retorno ao serviço de oncologia. O tempo médio de acompanhamento dos pacientes foi de 92,27 dias com um tempo mínimo de acompanhamento de 1 dia e um tempo máximo de 1099 dias.

Tabela 8. Fármacos utilizados nos protocolos quimioterápicos e efeitos adversos apresentados pelos pacientes diagnosticados com mastocitoma cutâneo no Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de 2011 até 2019.

Fármaco	Dose	Frequência	Via	Efeitos adversos apresentados
Vimblastina	2mg/m ²	A cada 7 dias A cada 14-21 dias em associação com ciclofosfamida	IV	Leucopenia Neutropenia Anemia arrefractoria Trombocitopenia Leucocitose Aumento ALT Aumento FA Anorexia Hipoalbuminemia
Prednisona	2mg/kg	A cada 24h (redução da dose 50% semanal)	PO	Sem registro
Lomustina	35-90mg/m ²	A cada 21-23 dias	PO	Vômito Diarreia Leucopenia Aumento ALT Aumento FA
Ciclofosfamida	250mg/m ² 15mg/m ²	Dose única ou a cada 21 dias A cada 24 horas (três semanas)		Cistite hemorrágica estéril Hiporexia
Vincristina	0,75mg/m ²	A cada 7 dias A cada 21 dias alternada com doxorubicina	IV	Sem registro
Doxorubicina	30mg/m ²	A cada 21 dias	IV	Sem registro
Clorambucil	4mg/m ²	A cada 24 horas (duas semanas)	PO	Sem registro
Toceranib	3,25mg/kg	A cada 48 horas (dia 1, 3, 5)	PO	Diarreia

As raças predispostas foram identificadas calculando o risco com análise de regressão logística univariada com base na razão de probabilidades (OR) com um intervalo de confiança de 95%. O grupo de controle consistiu em cães com diagnóstico de tumores de pele diferentes do mastocitoma. Foi identificada predisposição nas raças Boxer, Pinscher, Pug, Bulldog Francês e Sharpei com valores de OR > 1 e P<0,05 (Tabela 9). Além disso foi possível identificar que as raças Poodle, Cocker Spaniel e Rottweiler tem um risco menor de desenvolver mastocitoma.

Os dados obtidos da análise estatística corroboram os resultados de estudos previos (CARVALHO et al., 2017; ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019) que identificaram a raças como Boxer, Pug, Bulldog e Sharpei como a raças com predisposição ao desenvolvimento de mastocitoma, tomando como grupo de controle pacientes com outros tumores da pele. Outras raças como Labrador e Golden Retriever e American Stanfforshire Terrier (raça descendente do American Pitbull Terrier) também foram identificadas com predisposição, porém os resultados deste estudo não encontraram predisposição nestas raças embora a casusitica foi maior do que nos outros cães avaliados, razão pela qual o Labrador e Pitbull foram também incluídos nos análises de OR para idade, estado reprodutivo e localização anatômica. No estudo de WARLAND; DOBSON, 2013 também foi analisado o risco de desenvolvimento de mastocitoma utilizando três grupos de controle diferentes, obtendo resultados similares a os resultados de outros estudos epidemiológicos.

Neste estudo a raça Pinscher também foi identificada com predisposição com um risco 2,59 vezes maior ao desenvolvimento de mastocitoma do que outros tumores da pele e embora os estudos epidemiológicos que calcularam o risco de desenvolvimento não tiveram identificado esse grupo de cães como predisposto (WARLAND; DOBSON, 2013; ŚMIECH et al., 2017, 2018, 2019; PIERINI et al., 2019; REYNOLDS et al., 2019; NEGRU et al., 2021), os estudos brasileiros previos indicavam que o Pinscher apresentava uma alta prevalência de mastocitoma, porém análises de regressão não foram feitas nesses estudos pelo que não tinha sido identificada uma predisposição (COSTA-CASAGRANDE et al., 2008; CARVALHO et al., 2017; COSTA et al., 2017; SOUZA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2020).

A presente análise exibiu uma predisposição dez vezes maior para o desenvolvimento de mastocitoma em Sharpeis do que em outras raças diagnosticadas com tumores da pele (Tabela 9), resultado que já tinha sido relatado em outras pesquisas onde identificaram um risco seis vezes maior nesta mesma raça (VILLAMIL et al., 2011; ŚMIECH et al., 2018, 2019). Além disso no estudo de ŚMIECH et al., 2019 também foi demonstrado que a raça Sharpei tem um risco muito maior de desenvolver mastocitoma de alto grau. Essa análise não foi realizada neste estudo devido que não todos os pacientes tinham registro de estudo histopatológico. Os Boxer exibem a maior predisposição ao desenvolvimento de mastocitoma. Isso foi confirmado tanto pelos resultados deste estudo, quanto por estudos epidemiológicos anteriores conduzidos em diferentes regiões geográficas (FURLANI et al., 2008; VILLAMIL et al., 2011; LEIDINGER et al., 2014; MOCHIZUKI et al., 2017; SOUZA et al., 2018; PIERINI et al., 2019; ŚMIECH et al., 2019), no entanto a predisposição é maior a desenvolver mastocitomas de baixo grau.

Tabela 9. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para ocorrência de mastocitoma em várias raças de cães.

Raça	OR (CI)	P
Boxer	6,0094 (2,7982-12,9056)	<0,0001 *
Poodle	0,3081 (0,1553-0,6111)	0,0008 +
Cocker Spaniel	0,1084 (0,0259-0,4536)	0,0023 +
Pinscher	2,5935 (1,2859-5,2309)	0,0078 *
Pug	4,9369 (1,2664-19,2464)	0,0214 *
Bulldog francês	4,9369 (1,2664-19,2464)	0,0214 *
Rottweiler	0,3080 (0,1065-0,8926)	0,0300 +
Sharpei	10,5364 (1,2247-90,6455)	0,0320 *

*Raças com predisposição a mastocitoma

+ Raças com menor risco de desenvolvimento de mastocitoma

Após identificadas as raças predispostas baseados no resultado do Odds Ratio, os pacientes foram divididos em quatro grupos de idade: (1) 0–3 anos, (2) 4–6 anos, (3) 7–10 anos e (4) 11–16 anos. Seis localizações foram distinguidas: cabeça e pescoço; tronco; membros (torácico e pélvico), região inguinal, região axilar e bolsa escrotal. Também foram divididos segundo o sexo (macho e fêmea) e estado reprodutivo (castrado ou não castrado). Essa análise foi realizada nas raças predispostas mas também foram incluídas duas raças de cães que apresentaram uma maior frequência de mastocitoma na estatística descritiva (Tabela 10).

Os mastocitomas podem se desenvolver em qualquer idade, com maior incidência entre 7 e 9 anos de vida (GARCÍA, 2011; SHOOP et al., 2015; COSTA et al., 2017; ŠMIECH et al., 2017, 2018, 2019; MACHADO et al., 2018; THAMM et al., 2019; LONDON; THAMM, 2020), o maior número de casos de mastocitoma nas raças predispostas identificadas neste estudo foi observado também nessa faixa etária (Tabela 10). A única raça que não apresentou casos nessa faixa etária foi Bulldog francês, os casos nessa raça foram observados com maior frequência entre os 4 e 6 anos, porém isso pode estar relacionado com a expectativa de vida que está associada ao tamanho do corpo e outros fatores, assim o Bulldog Francês tem uma expectativa de vida média de nove anos, menor que outras das raças analisadas igual que o Sharpei que comparado com outras raças de grande porte tem uma expectativa de vida média muito menor (O'NEILL et al., 2013; LEWIS et al., 2018; DIAS-PEREIRA, 2022). A análise da idade de apresentação da doença é complicada e apresenta muitos vieses devido à variação da longevidade de cada raça que depende não só do tamanho corporal, mas também de múltiplos fatores.

Tabela 10. Frequência de mastocitoma de acordo com a idade, sexo, estado reprodutivo e localização nas raças predispostas.

		<i>Raças</i>													
		Boxer		Pug		Bulldog francês		Pinscher		Sharpei		Labrador		Pitbull	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Idade</i>	0-3 anos	3	10,3	1	14,2	1	14,2	0	0	1	20	0	0	1	5
	4-6 anos	5	17,2	4	57,2	4	57,2	4	22,2	0	0	6	23,08	1	5
	7-10 anos	14	48,2	2	28,6	0	0	10	55,5	4	80	17	65,38	12	60
	11-16	7	24,1	0	0	2	28,6	4	22,2	0	0	3	11,54	6	30
	\bar{X} idade	8,1		6,7		6,0		8,5		6,2		8,2		9,15	
<i>Sexo</i>	Macho	15	51,7	3	42,8	5	71,4	9	50,0	1	20	9	34,62	11	55
	Fêmea	14	48,2	4	57,2	2	28,6	9	50,0	4	80	17	65,38	9	45
<i>Castração</i>	Sim	16	55,1	3	42,8	4	57,2	5	27,7	0	0	11	42,31	10	50
	Não	13	44,8	4	57,2	3	42,8	13	72,2	5	100	15	57,69	10	50
<i>Localização</i>	Cabeça e pescoço	3	10,3	2	28,5	1	14,2	2	11,1	0	0	3	11,54	0	0
	Tronco	6	20,6	2	28,5	1	14,2	8	44,4	2	40	9	34,62	12	60
	Membros	14	48,2	2	28,5	4	57,2	8	44,4	3	60	7	26,92	5	25
	Região inguinal	2	6,9	0	0	0	0	0	0,0	0	0	1	3,85	1	5
	Região axilar	1	3,4	0	0	0	0	0	0,0	0	0	2	7,69	0	0
	Bolsa escrotal	3	10,3	1	14,5	1	14,2	0	0,0	0	0	4	15,38	2	10

Ao analisar o OR para idade, sexo, estado reprodutivo e localização anatômica nas raças predispostas não foi encontrada uma relação que indique um maior risco de desenvolvimento de mastocitoma em alguma faixa etária, para algum sexo ou estado reprodutivo ou em uma localização anatomica específica $P>0,05$ (Tabela 11). Porém, dentro da raça Labrador que foi uma raça de alta ocorrência foi possível identificar um risco 5,31 vezes maior ($P=0,01$) para o desenvolvimento de mastocitomas em cães castrados em comparação com os não castrados o que poderia indicar que a castração é um fator de risco para esta neoplasia nessa raça, dados que concordam com resultados de estudos anteriores (WHITE et al., 2011; HART et al., 2014; ZINK et al., 2014; MOCHIZUKI et al., 2017).

Tabela 11. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para idade, sexo, estado reprodutivo e localização em raças predispostas.

		Raças													
		Boxer		Pug		Bulldog francês		Pinscher		Sharpei		Labrador		Pitbull	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
Idade	0-3 anos	0.92 (0.083-10.15)	0.94	1.61 (0.051-51.109)	0.78	1.61 (0.051-51.109)	0.78	0.26 (0.009-6.899)	0.80	1.00 (0.024-40.278)	1.00	0.23 (0.010-5.173)	0.36	1.84 (0.109-31.139)	0.67
	4-6 anos	0.26 (0.051-1.329)	0.10	2.66 (0.157-45.143)	0.49	0.66 (0.039-11.285)	0.77	4.00 (0.395-40.426)	0.24	-	-	2.17 (0.543-8.710)	0.27	0.32 (0.035-3.009)	0.32
	7-10 anos	1.86 (0.390-8.933)	0.43	0.20 (0.010-3.660)	0.27	-	-	1.87 (0.467-7.526)	0.37	1.00 (0.024-40.278)	1.00	0.82 (0.274-2.460)	0.72	1.20 (0.395-3.641)	0.32
	11-16 anos	2.54 (0.269-24.058)	0.41	-	-	0.80 (0.043-14.643)	0.88	0.32 (0.072-1.470)	0.14	-	-	0.94 (0.192-4.655)	0.94	1.11 (0.334-3.709)	0.86
	Macho	0.85 (0.190-3.853)	0.84	0.37 (0.022-6.348)	0.49	0.31 (0.011-8.684)	0.49	2.00 (0.485-8.244)	0.33	1.00 (0.024-40.278)	1.00	0.56 (0.195-1.620)	0.28	0.9778 (0.325-2.935)	0.96
Sexo	Fêmea	1.16 (0.259-5.244)	0.84	2.6667 (0.157-45.143)	0.49	3.18 (0.115-87.924)	0.49	0.33 (0.121-2.061)	0.33	1.00 (0.024-40.278)	1.00	1.77 (0.617-5.119)	0.28	1.02 (0.340-3.070)	0.96
	Sim	1.01 (0.225-4.573)	0.98	0.37 (0.022-6.348)	0.49	0.18 (0.006-4.861)	0.31	0.33 (0.079-1.429)	0.14	0.03 (0.0004-2.268)	0.11	5.31 (1.444-19.570)	0.01	0.89 (0.299-2.671)	0.84
Castração	Não	0.98 (0.218-4.433)	0.98	2.66 (0.157-45.143)	0.49	5.44 (0.205-144.11)	0.31	2.97 (0.699-12.625)	0.14	33.00 (0.440-2470.7)	0.11	0.18 (0.051-0.692)	0.01	1.11 (0.374-3.337)	0.84
	Cabeça e pescoço	0.23 (0.037-1.438)	0.11	0.80 (0.043-14.643)	0.88	1.61 (0.051-51.109)	0.27	0.25 (0.040-1.543)	0.13	-	-	0.94 (0.192-4.655)	0.9	0.25 (0.012-5.171)	0.37
Localização	Tronco	0.20 (0.042-1.025)	1.92	0.80 (0.043-14.643)	0.88	0.08 (0.003-2.045)	0.12	1.20 (0.299-4.816)	0.79	0.23 (0.006-8.615)	0.43	0.34 (0.118-1.001)	0.05	0.42 (0.130-1.409)	0.16
	Membros	7.4667 (0.825-67.575)	0.07	0.80 (0.043-14.643)	0.88	2.66 (0.157-45.143)	0.49	3.20 (0.665-15.381)	0.08	4.200 (0.116-151.97)	0.43	1.09 (0.328-3.647)	0.14	3.66 (0.773-17.380)	0.10
	Região inguinal	1.72 (0.075-39.301)	0.34	-	-	-	-	-	-	-	-	1.28 (0.076-21.491)	0.17	5.61 (0.218-144.46)	0.29
	Região axilar	1.00 (0.037-26.677)	1.00	-	-	-	-	-	-	-	-	6.83 (0.314-148.87)	0.22	0.57 (0.022-14.835)	0.74
	Bolsa escrotal	2.50 (0.118-53.228)	0.55	1.61 (0.051-51.109)	0.78	1.61 (0.051-51.109)	0.78	0.26 (0.009-6.899)	0.42	-	-	13.400 (0.687-261.25)	0.08	3.88 (0.330-45.833)	0.28

Embora o mastocitoma possa ser localizado em qualquer parte do corpo, os membros tanto torácicos como pelvicos foram os locais mais acometidos nos cães de raça Boxer, Buldog francês e Sharpei (Tabela 10), resultados que foram diferentes aos dados descritos em estudos epidemiológicos previos onde o tronco foi o local mais frequente nessas raças (PIERINI et al., 2019; ŠMIECH et al., 2019). Nos labradores e Pitbulls o tronco foi o local com maior

desenvolvimento de mastocitoma e os cães de raça pinshcer tiveram igual ocorrência no tronco e nos membros.

Devido ao alto numero de casos em cães sem raça definida, um análise similar foi feito nesse grupo de pacientes e eles foram divididos em grupos segundo o porte em pequeno, medio, grande (Tabela 12) com a finalidade de identificar se existe predisposição segundo a idade, sexo, estado reprodutivo e localização anatômica nesse grupo de pacientes. Na revisão feita no presente estudo não foram encontrados analises similares feitos nos cães SRD, pelo que os dados obtidos podem server de base para outras pesquisas.

Tabela 12. Frequência de mastocitoma de acordo com a idade, sexo, estado reprodutivo e localização no grupo de pacientes sem raça definida.

		<i>Porte</i>					
		Pequeno		Médio		Grande	
		N	%	N	%	N	%
<i>Idade</i>	0-3 anos	1	5,88	3	4,55	0	0
	4-6 anos	1	5,88	8	12,12	2	13,33
	7-10 anos	4	23,53	24	36,36	6	40,00
	11-16 anos	11	64,71	31	46,97	7	46,67
	\bar{X} de idade	11,3		10,04		10,21	
<i>Sexo</i>	Macho	5	29,41	18	27,27	7	46,67
	Fêmea	12	70,59	48	72,73	8	53,33
<i>Castração</i>	Sim	8	47,06	34	51,52	9	60,00
	Não	9	52,94	32	48,48	6	40,00
<i>Localização</i>	Cabeça e pescoço	2	11,76	8	12,12	5	33,33
	Tronco	6	35,29	25	37,88	5	33,33
	Cauda	0	0,00	1	1,52	1	6,67
	membros	5	29,41	26	39,39	2	13,33
	região inguinal	1	5,88	2	3,03	1	6,67
	região axilar	2	11,76	2	3,03	0	0,00
	Bolsa escrotal	1	5,88	2	3,03	1	6,67
X: Média							

No caso dos cães SRD, a faixa etária mais acometida foi entre os 11 e 16 anos sem importar o tamanho do paciente, contrário aos pacientes das raças predispostas nos que a ocorrência foi maior entre os 7 e 10 anos. A frequência de mastocitoma foi maior nas fêmeas SRD do que nos machos em todos os grupos identificados e predominaram os casos em animais castrados (machos e fêmeas). Igual que nas raças predispostas todos os grupos de cães SRD desenvolveram mastocitoma com maior frequência no tronco e os membros.

Ao analisar o OR para idade, sexo, estado reprodutivo e localização anatômica nos três grupos de pacientes SRD, verificou-se que não existe uma relação que indique um maior risco de desenvolvimento de mastocitoma em alguma faixa etária, para algum sexo ou estado reprodutivo ou em uma localização anatômica específica ($P>0,05$) nos animais de pequeno e grande porte (Tabela 13).

Tabela 13. Razão de probabilidade (OR) e intervalos de confiança de 95% (CIs) para idade, sexo, estado reprodutivo e localização em cães sem raça definida.

		Porte					
		Pequeno		Médio		Grande	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
Idade	0-3 anos	0.4688 (0.048- 4.554)	0.51	0.6619 (0.176- 2.488)	0.54	0.4710 (0.021- 10.392)	0.63
	4-6 anos	1.000 (0.084-11.874)	1.00	0.7440 (0.314-1.758)	0.50	0.8205 (0.146- 4.606)	0.82
	7-10 anos	0.8547 (0.220- 3.313)	0.82	1.2401 (0.674- 2.280)	0.48	0.7407 (0.220- 2.492)	0.62
	11-16 anos	1.4474 (0.434- 4.821)	0.54	1.0550 (0.590-1.886)	0.85	1.8958 (0.557- 6.443)	0.30
Sexo	Macho	0.4167 (0.12- 1.441)	0.16	0.6053 (0.320- 1.141)	0.12	0.8750 (0.264- 2.897)	0.82
	Fêmea	2.4000 (0.693- 8.302)	0.16	1.6522 (0.876- 3.116)	0.12	1.1429 (0.345- 3.784)	0.82
Castração	Sim	1.8586 (0.563-6.127)	0.30	1.2319 (0.689- 2.200)	0.48	3.2500 (0.941-11.219)	0.06
	Não	0.5380 (0.163- 1.773)	0.30	0.8118 (0.454-1.450)	0.48	0.3077 (0.089-1.062)	0.06
Localização	Cabeça e pescoço	0.2444 (0.047- 1.253)	0.09	0.4175 (0.182- 0.955)	0,03	2.6667 (0.668-10.632)	0.16
	Tronco	0.4848 (0.145- 1.611)	0.23	0.6180 (0.341- 1.117)	0.11	0.5000 (0.143-1.741)	0.27
	Membros	3.1250 (0.7146- 13.665)	0.13	2.5783 (1.365- 4.868)	0.0035	0.3776 (0.072-1.957)	0.24
	Região inguinal	6.2727 (0.242-162.422)	0.26	1.1328 (0.202- 6.343)	0.88	7.9655 (0.306-206.906)	0.21
	Região axilar	11.1290 (0.503- 245.810)	0.12	4.6250 (0.411-51.926)	0,21	-	-
	Bolsa escrotal	6.2727 (0.242-162.422)	0.26	4.6250 (0.411-51.926)	0,21	7.9655 (0.306-206.906)	0.21
	Cauda	-	-	1.1308 (0.100-12.693)	0.92	1.2857 (0.107-15.331)	0.84

Nos cães de médio porte foi identificado um maior risco ($OR=2.5783$) de desenvolver mastocitoma nos membros (torácicos e pélvicos) em comparação com outros tumores da pele

($P=0,0035$). Além disso nesse mesmo grupo foi encontrada uma probabilidade menor de desenvolvimento de mastocitoma em cabeça e pescoço que outros tumores da pele ($OR=0.4175$, $P=0.003$). A genética dos cães SRD é uma mistura de muitas raças pelo que é possível que o risco de desenvolvimento de mastocitoma em determinada faixa etária ou região do corpo possa estar relacionado com predisposição genética.

Este é o primeiro estudo retrospectivo no Brasil que analisa tanto fatores epidemiológicos como clínicos de cães com mastocitoma, além de que indica a relação da predisposição da raça com o desenvolvimento de mastocitoma canino e a distribuição das características do mastocitoma nas raças predispostas. Além disso este estudo relaciona o porte dos cães SRD com a predisposição ao desenvolvimento de mastocitoma cutâneo e estuda a distribuição das características do mastocitoma nesse grupo de cães que cada dia é mais frequente na casuística da clínica de pequenos animais.

5. CONCLUSÕES

Com este estudo pode-se concluir que os cães sem raça definida são os mais acometidos pelo mastocitoma cutâneo, seguido por cães de raça Boxer, Labrador e Pitbull no serviço de oncologia do Hospital Veterinário da UFRRJ. Ao analisar o risco de desenvolvimento do mastocitoma em comparação com outros tumores da pele, novamente a raça Boxer junto com outras raças como Bulldog francês, Sharpei, Pinscher e Pug demonstraram ter um risco maior do que outras raças, assim como o Rottweiler, Poodle e Cocker Spaniel apresentaram um risco inferior.

O sinal clínico mais comumente associado à presença de mastocitoma é o vômito, porém, está presente numa pequena porcentagem dos pacientes com mastocitomas de baixo grau, que foram os mais prevalentes neste estudo.

A ultrassonografia abdominal e radiografia de tórax são ferramentas úteis para estadiamento dos pacientes, porém sem a realização de citologia de baço e fígado a confiabilidade destes exames para descartar metástase é baixa. Os locais de metástase mais comuns são os linfonodos, fígado, baço e pulmão.

Anemia, trombocitopenia e eosinofilia são alterações comuns em cães com mastocitoma cutâneo, assim como hiperproteinemia relacionada com o processo inflamatório causado pela

degranulação dos mastócitos. Aumentos da ureia são frequentes nos cães com mastocitoma provavelmente relacionados com hemorragias gastrointestinais causadas pela ulceração.

A castração aumenta o risco de desenvolvimento de mastocitoma em cães machos e fêmeas da raça Labrador.

Os cães sem raça definida de porte médio são mais predispostos a desenvolver mastocitoma nos membros em comparação com outros tumores da pele e tem um mínimo risco de desenvolver mastocitomas na cabeça e pescoço.

6. REFERÊNCIAS

ACEINO, A. et al. Systemic mastocytosis with subcutaneous hemorrhage and edema in a Greyhound dog: case report and review of diagnostic criteria. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33, n. 1, p. 95–100, 9 jan. 2021.

AKIYOSHI, M. et al. Precursor-targeted immune-mediated anemia in a dog with a stage IV mast cell tumor and bone marrow infiltration. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 50, n. 1, p. 151–157, 2 mar. 2021.

ALVAREZ, L.; WHITTEMORE, J. C. Liver Enzyme Elevations in Dogs: Physiology and Pathophysiology. **Compendium**, n. September, 2009.

ARENDT, M. L. et al. Genome-Wide Association Study of Golden Retrievers Identifies Germ-Line Risk Factors Predisposing to Mast Cell Tumours. **PLOS Genetics**, v. 11, n. 11, p. e1005647, 20 nov. 2015.

BADILLO, M. et al. Infection by Ehrlichia canis and Anaplasma sp . in dogs attended in veterinary clinics , Barranquilla , Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 22, p. 6023–6033, 2017.

BAE, S. et al. Histologically low-grade, yet biologically high-grade, canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis of individual participant data. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 580–589, 10 dez. 2020.

BEER, P. et al. The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: A comparison with current approaches in human medicine. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 2, p. 178–187, jun. 2018.

BELLAMY, E.; BERLATO, D. Canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours: a narrative review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 63, n. 7, p. 497–511, 20 jul. 2022.

BERGMAN, P. J. et al. Correlation of histologic grading of canine mast cell tumors with Ki67/PCNA/AgNOR/c-Kit scores: 38 cases (2002-2003). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 2, n. 2, p. 98–98, jun. 2004.

BERLATO, D. et al. Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 2, p. 143–150, jun. 2013.

BERLATO, D. et al. Value, Limitations, and Recommendations for Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. **Veterinary Pathology**, v. 58, n. 5, p. 858–863, 23 set. 2021.

BIASOLI, D. et al. A synonymous germline variant in a gene encoding a cell adhesion molecule is associated with cutaneous mast cell tumour development in Labrador and Golden Retrievers. **PLOS Genetics**, v. 15, n. 3, p. e1007967, 22 mar. 2019.

BLACKWOOD, L. et al. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, n. 3, p. e1–e29, set. 2012.

BONKOBARA, M. Dysregulation of tyrosine kinases and use of imatinib in small animal practice. **The Veterinary Journal**, v. 205, n. 2, p. 180–188, ago. 2015.

BOSTOCK, D. E. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 14, n. 1, p. 27–40, jan. 1973.

BRAUND, K. G. et al. Peripheral Neuropathy Associated with Malignant Neoplasms in Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 24, n. 1, p. 16–21, 1987.

BRAZ, P. H. et al. Comparação entre a citopatologia por biópsia com agulha fina e a histopatologia no diagnóstico das neoplasias cutâneas e subcutâneas de cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 197–203, mar. 2016.

BRAZ, P. H. et al. Classificação citológica do grau de malignidade de mastocitomas em cães. **Pubvet**, v. 11, n. 11, p. 1114–1118, 2018.

BRLOZNIK, M. et al. Results of Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound Correlate With Treatment Outcome in Canine Neoplasia Treated With Electrochemotherapy and Interleukin-

12 Plasmid Electrotransfer. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 679063, p. 1–12, 20 maio 2021.

BROWN, G. K. et al. Intratumoural Treatment of 18 Cytologically Diagnosed Canine High-Grade Mast Cell Tumours With Tigilanol Tiglate. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 27 ago. 2021.

BROWN, M. et al. Utility of Spleen and Liver Cytology in Staging of Canine Mast Cell Tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 58, n. 4, p. 168–175, 1 jul. 2022.

BURTON, J. H. et al. Pulse-Administered Toceranib Phosphate Plus Lomustine for Treatment of Unresectable Mast Cell Tumors in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 4, p. 1098–1104, jul. 2015.

CAMPS-PALAU, M. A. . et al. Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997 – 2004). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 5, n. 3, p. 156–167, 2007.

CAMUS, M. S. et al. Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 6, p. 1117–1123, 2016.

CARTAGENA-ALBERTUS, J. C. et al. Presumptive primary intrathoracic mast cell tumours in two dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 204, 17 dez. 2019.

CARVALHO, A. P. M. DE et al. Estudo retrospectivo do mastocitoma cutâneo canino utilizando duas classificações histopatológicas. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 39, n. 3, p. 170–175, 2017.

CASTRO NEVES, C. et al. Mastocitoma canino -estudo retrospectivo de 25 casos canine. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v. 1814, n. 1679–7353, p. 17400–0, 2012.

CAVALCANTE, I. M. S. et al. a Retrospective Study of Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Correlation Between Clinical, Histological and Molecular Characteristics/ Um Estudo Retrospectivo De Mastócitos Cutâneos Caninos: Correlação Entre Características Clínicas, Histológicas E Molecula. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 100281–100299, 2020.

CEMAZAR, M. et al. Intramuscular IL-12 Electrogene Therapy for Treatment of Spontaneous

Canine Tumors. In: **Targets in Gene Therapy**. [s.l.] InTech, 2011.

CEMAZAR, M. et al. Efficacy and safety of electrochemotherapy combined with peritumoral IL-12 gene electrotransfer of canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 2, p. 641–654, 3 jun. 2017.

CHAFFIN, K.; THRALL, D. E. RESULTS OF RADIATION THERAPY IN 19 DOGS WITH CUTANEOUS MAST CELL TUMOR AND REGIONAL LYMPH NODE METASTASIS. **Veterinary Radiology**, v. 43, n. 4, p. 392–395, jul. 2002.

CHEN, P. et al. Mutations in Exons 8 and 11 of c-kit Gene in Canine Subcutaneous Mast Cell Tumors and Their Association with Cell Proliferation. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 9, p. 493, 10 set. 2022.

CHU, M. L. et al. Comparison of lateral surgical margins of up to two centimeters with margins of three centimeters for achieving tumor-free histologic margins following excision of grade I or II cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n. 5, p. 567–572, 1 mar. 2020.

CIFUENTES-ARIAS, S.; OSORIO-MORALES, L.; PEDRAZA-ORDÓÑEZ, F. Clinical follow-up of canine mast cell tumour cases diagnosed by cytology and histopathology. **Veterinarska stanica**, v. 52, n. 4, p. 397–403, 22 fev. 2021.

COOPER, M.; TSAI, X.; BENNETT, P. Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 3, p. 196–206, set. 2009.

CORTADELLAS, O.; FERNÁNDEZ, M. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad renal crónica (ERC) en el perro y el gato. **Clínica veterinaria de pequeños animales: revista oficial de AVEPA, Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales**, v. 32, n. 4, p. 215–223, 2012.

COSTA-CASAGRANDE, T. et al. 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**, v. 13, n. 3, p. 176–183, 2008.

COSTA, M. C. et al. Prevalence and epidemiological and histopathological features of canine cutaneous mast cell tumours in Uberlândia, Brazil. **Acta Veterinaria Brno**, v. 86, n. 2, p. 189–

193, 2017.

CUNTO, M.; BALLOTTA, G.; ZAMBELLI, D. Benign prostatic hyperplasia in the dog. **Animal Reproduction Science**, v. 247, p. 107096, dez. 2022.

DANTAS-TORRES, F. et al. Prevalence and incidence of vector-borne pathogens in unprotected dogs in two Brazilian regions. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 195, 21 dez. 2020.

DAVIES, D. R. et al. Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 2, p. 124–130, 2004.

DE BIASE, D. et al. RNAScope in situ Hybridization as a Novel Technique for the Assessment of c-KIT mRNA Expression in Canine Mast Cell Tumor. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 591961, p. 1–9, 16 fev. 2021.

DE NARDI, A. B. et al. Brazilian Consensus for the Diagnosis, Treatment and Prognosis of Cutaneous Mast Cell Tumors in Dogs. **Investigação**, v. 17, n. 1, p. 1–15, 2018.

DE RIDDER, T. et al. Tigilanol Tiglate-Mediated Margins: A Comparison With Surgical Margins in Successful Treatment of Canine Mast Cell Tumours. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 15 dez. 2021a.

DE RIDDER, T. R. et al. Randomized controlled clinical study evaluating the efficacy and safety of intratumoral treatment of canine mast cell tumors with tigilanol tiglate. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 415–429, 16 jan. 2021b.

DIAS-PEREIRA, P. Morbidity and mortality in elderly dogs – a model for human aging. **BMC Veterinary Research**, v. 18, n. 1, p. 457, 29 dez. 2022.

DONNELLY, L. et al. Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 1, p. 70–76, mar. 2015.

ELSTON, L. B. et al. The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. **Veterinary pathology**, v. 46, n. 2, p. 362–4, author reply 364–5, mar. 2009.

EZE, U. U. et al. Prevalence of Increased Serum Urea and Creatinine Levels in Dogs. **Notulae**

Scientia Biologicae, v. 11, n. 3, p. 340–346, 30 set. 2019.

FERRARI, R. et al. The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 4, p. 505–510, dez. 2018.

FONSECA-ALVES, C. E. et al. Ki67/KIT double immunohistochemical staining in cutaneous mast cell tumors from Boxer dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 102, p. 122–126, out. 2015.

FOURNIER, Q. et al. Contrast-enhanced ultrasound for sentinel lymph node mapping in the routine staging of canine mast cell tumours: A feasibility study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 19, n. 3, p. 451–462, 11 set. 2021.

FURLANI, J. M. et al. Mastocitoma Canino: Estudo Retrospectivo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 242–250, 2008.

GAMPERL, S. et al. Effects of ibrutinib on proliferation and histamine release in canine neoplastic mast cells. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 4, p. 553–561, 13 dez. 2019.

GARCÍA, S. M. Mastocitoma. In: CARTAGENA ALBERTUS, J. C. (Ed.). . **Oncología veterinaria-Manuales clínicos por especialidades**. Navarra: [s.n.]. p. 101–116.

GARIBOLDI, E. M. et al. Sentinel Lymph Node Biopsy Is Feasible in Dogs with Scars from Prior Local Excision of Solid Malignancies. **Animals**, v. 12, n. 17, p. 2195, 26 ago. 2022.

GARRETT, L. Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. 5, p. 49–58, ago. 2014.

GIANTIN, M. et al. c-KIT messenger RNA and protein expression and mutations in canine cutaneous mast cell tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 1, p. 116–126, 6 jan. 2012a.

GIANTIN, M. et al. Expression of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases and Vascular Endothelial Growth Factor in Canine Mast Cell Tumours. **Journal of Comparative Pathology**, v. 147, n. 4, p. 419–429, nov. 2012b.

GRANT, I. A. et al. A Phase II Clinical Trial of Vinorelbine in Dogs with Cutaneous Mast Cell Tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p. 388–393, mar. 2008.

GRANT, J.; NORTH, S.; LANORE, D. Clinical response of masitinib mesylate in the treatment of canine macroscopic mast cell tumours. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 6, p. 283–290, jun. 2016.

GRIMES, J. A. et al. Use of indirect computed tomography lymphangiography to determine metastatic status of sentinel lymph nodes in dogs with a pre-operative diagnosis of melanoma or mast cell tumour. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 818–824, 30 dez. 2020.

GRINDEM, C. B. et al. Thrombocytopenia Associated With Neoplasia in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 8, n. 6, p. 400–405, nov. 1994.

HAHN, K. A. et al. Masitinib is Safe and Effective for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1301–1309, nov. 2008.

HARRUS, S.; WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. **The Veterinary Journal**, p. 292–296, 2011.

HART, B. L. et al. Long-Term Health Effects of Neutering Dogs: Comparison of Labrador Retrievers with Golden Retrievers. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. e102241, 14 jul. 2014.

HART, B. L. et al. Neutering of German Shepherd Dogs: associated joint disorders, cancers and urinary incontinence. **Veterinary Medicine and Science**, v. 2, n. 3, p. 191–199, 16 ago. 2016.

HAY, J. K.; LARSON, V. S. Lomustine (CCNU) and prednisone chemotherapy for high-grade completely excised canine mast cell tumors. **Canadian Veterinary Journal**, v. 60, n. 12, p. 1326–1330, 2019.

HORTA, R. S. et al. Outcome of adjuvant chemotherapy with lomustine, vinblastine and chlorambucil on management of canine mast cell tumour of high to intermediate risk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1426–1436, nov. 2017.

HORTA, R. S. et al. Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 2, p. 212–223, 16 mar. 2018.

HOSOYA, K. et al. Adjuvant CCNU (Lomustine) and Prednisone Chemotherapy for Dogs With Incompletely Excised Grade 2 Mast Cell Tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 45, n. 1, p. 14–18, jan. 2009.

HWANG, C. C. et al. Oncolytic Reovirus in Canine Mast Cell Tumor. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e73555, 20 set. 2013.

HWANG, C. C. et al. Reovirus changes the expression of anti-apoptotic and proapoptotic proteins with the c-kit downregulation in canine mast cell tumor cell lines. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 517, n. 2, p. 233–237, set. 2019.

IARC, W. G. ON THE E. OF C. R. TO H. P. Chlorambucil. In: **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**. 100A. ed. Lyon: [s.n.]. p. 47.

ILYINSKAYA, G. V. et al. Oncolytic Sendai Virus Therapy of Canine Mast Cell Tumors (A Pilot Study). **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, 4 jun. 2018.

ISOTANI, M. et al. Effect of Tyrosine Kinase Inhibition by Imatinib Mesylate on Mast Cell Tumors in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 985–988, jul. 2008.

ITOH, T. et al. Long-term postsurgical outcomes of mast cell tumors resected with a margin proportional to the tumor diameter in 23 dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 83, n. 2, p. 230–233, 2021.

JONES, P. D. et al. Recurrence-free interval 12 months after local treatment of mast cell tumors in dogs using intratumoral injection of tigilanol tiglate. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 451–455, 22 jan. 2021.

KAMSTOCK, D. A. et al. Recommended Guidelines for Submission, Trimming, Margin Evaluation, and Reporting of Tumor Biopsy Specimens in Veterinary Surgical Pathology. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 19–31, 1 jan. 2011.

KEENE, B. W. et al. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 3, p. 1127–1140, 11 maio 2019.

KIM, H.; KIM, J. Successful long-term management with toceranib phosphate of a recurrent muzzle mast cell tumour in a dog. **Veterinární Medicína**, v. 65, n. No. 5, p. 227–232, 27 maio 2020.

KIM, J. et al. Successful response to imatinib in two dogs with inoperable grade III infiltrating mast cell tumours: a case report. **Veterinární Medicína**, v. 61, n. No. 8, p. 467–473, 10 mar. 2017.

KIUPEL, M. et al. The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 4, p. 371–377, 26 jul. 2004.

KIUPEL, M. et al. Impact of Tumour Depth, Tumour Location and Multiple Synchronous Masses on the Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 52, n. 6, p. 280–286, ago. 2005.

KIUPEL, M. et al. Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 147–155, 9 jan. 2011.

KIUPEL, M.; CAMUS, M. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 49, n. 5, p. 819–836, set. 2019.

KLUTHCOVSKY, L. C. et al. Comparison of Two Different Vinblastine Dosages for Treatment of Cutaneous Mast Cell Tumor in Dogs. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 48, 23 jan. 2020.

KOBAYASHI, M. et al. Canine intestinal mast cell tumor with c-kit exon 8 mutation responsive to imatinib therapy. **The Veterinary Journal**, v. 193, n. 1, p. 264–267, jul. 2012.

KODRE, V. et al. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. **In Vivo**, v. 23, n. 1, p. 55–62, 2009.

KU, C.-K.; KASS, P. H.; CHRISTOPHER, M. M. Cytologic-histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 4, p. 1206–1217, dez. 2017.

LADUE, T. et al. RADIATION THERAPY FOR INCOMPLETELY RESECTED CANINE MAST CELL TUMORS. **Veterinary Radiology**, v. 39, n. 1, p. 57–62, jan. 1998.

LADUE, T.; KLEIN, M. K. TOXICITY CRITERIA OF THE VETERINARY RADIATION THERAPY ONCOLOGY GROUP. **Veterinary Radiology**, v. 42, n. 5, p. 475–476, set. 2001.

LAPSLEY, J. et al. Influence of locoregional lymph node aspiration cytology vs sentinel lymph node mapping and biopsy on disease stage assignment in dogs with integumentary mast cell tumors. **Veterinary Surgery**, v. 50, n. 1, p. 133–141, 10 jan. 2021.

LEACH, T. N. et al. Prospective trial of metronomic chlorambucil chemotherapy in dogs with naturally occurring cancer. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, n. 2, p. 102–112, jun. 2012.

LEFEBVRE, S. L. et al. Effect of age at gonadectomy on the probability of dogs becoming overweight. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 2, p. 236–243, 15 jul. 2013.

LEIDINGER, E. F. et al. Breed related odds ratio and anatomic distribution of canine mast cell tumours in Austria. **Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere**, v. 42, n. 06, p. 367–373, 8 jan. 2014.

LEJEUNE, A. et al. Aggressive local therapy combined with systemic chemotherapy provides long-term control in grade II stage 2 canine mast cell tumour: 21 cases (1999-2012). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 3, p. 267–280, set. 2015.

LEWIS, T. W. et al. Longevity and mortality in Kennel Club registered dog breeds in the UK in 2014. **Canine Genetics and Epidemiology**, v. 5, n. 1, p. 10, 17 dez. 2018.

LIPTAK, J. M.; BOSTON, S. E. Nonselective Lymph Node Dissection and Sentinel Lymph Node Mapping and Biopsy. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 49, n. 5, p. 793–807, set. 2019.

LONDON, C. A. et al. Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. **Experimental Hematology**, v. 27, n. 4, p. 689–697, abr. 1999.

LONDON, C. A. et al. Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. 7, p. 2755–68, 2003.

LONDON, C. A. et al. Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 11, p. 3856–3865, 1 jun. 2009.

LONDON, C. A.; THAMM, D. H. Mast Cell Tumors. In: VAIL, D. M.; THAMM, D. H.; LIPTAK, J. M. (Eds.). . **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. St. Louis: Elsevier, 2020. p. 382–403.

LOWE, R. et al. The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or
92

without surgical excision. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 3, p. 775–784, set. 2017.

MACEDO, T. R. et al. Imatinib Mesylate for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors: Assessment of the Response and Adverse Events in Comparison with the Conventional Therapy with Vinblastine and Prednisone. **Cells**, v. 11, n. 3, p. 571, 7 fev. 2022.

MACFARLANE, M. J. et al. Use of neutrophil to lymphocyte ratio for predicting histopathological grade of canine mast cell tumours. **Veterinary Record**, v. 179, n. 19, p. 491–491, nov. 2016.

MACHADO, G. A. C. et al. Incidence of skin tumors in dogs in Salvador, Bahia state, Brazil (2007-2016). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 11, p. 2139–2145, nov. 2018.

MACKOWIAK, I. I. et al. E-cadherin in canine mast cell tumors: Decreased expression and altered subcellular localization in Grade 3 tumors. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 3, p. 405–411, dez. 2012.

MAGLENNON, G. A. et al. Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours*. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 4, p. 268–274, dez. 2008.

MALCOLM, E. L. et al. Diagnostic value of vertebral left atrial size as determined from thoracic radiographs for assessment of left atrial size in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 253, n. 8, p. 1038–1045, 15 out. 2018.

MARCONATO, L. et al. Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 1001–1007, jul. 2008.

MARCONATO, L. et al. Adjuvant medical therapy provides no therapeutic benefit in the treatment of dogs with low-grade mast cell tumours and early nodal metastasis undergoing surgery. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 3, p. 409–415, 17 set. 2020.

MASON, S. L. et al. Outcomes of adjunctive radiation therapy for the treatment of mast cell tumors in dogs and assessment of toxicity: A multicenter observational study of 300 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 6, p. 2853–2864, 21 nov. 2021.

MCCAWE, D. L. et al. Response of Canine Mast Cell Tumors to Treatment With Oral

Prednisone. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 8, n. 6, p. 406–408, nov. 1994.

MELO, S. R. et al. Immunohistochemical Expression of Vascular Endothelial Growth Factor as a Prognostic Marker for Canine Mast Cell Tumors. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 42, p. 100506, mar. 2021.

MENDEZ, S. E. et al. Treating the locoregional lymph nodes with radiation and/or surgery significantly improves outcome in dogs with high-grade mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 2, p. 239–246, 29 jun. 2020.

MILA, H. et al. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 9, p. 4436–4442, 1 set. 2015.

MILLER, J. et al. Dose Characterization of the Investigational Anticancer Drug Tigilanol Tiglate (EBC-46) in the Local Treatment of Canine Mast Cell Tumors. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 9 abr. 2019.

MOCHIZUKI, H. et al. Association of breed and histopathological grade in canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 3, p. 829–839, set. 2017.

MOONEY, C. Canine hypothyroidism: A review of aetiology and diagnosis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 59, n. 3, p. 105–114, maio 2011.

MOSHREF, M. et al. Concise Review: Canine Diabetes Mellitus as a Translational Model for Innovative Regenerative Medicine Approaches. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 8, n. 5, p. 450–455, 1 maio 2019.

MURPHY, S. et al. Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. **Veterinary Record**, v. 158, n. 9, p. 287–291, mar. 2006.

MUSSER, M. et al. Marked paraneoplastic hypereosinophilia associated with a low-grade, metastatic canine mast cell tumour. **Veterinary Record Case Reports**, v. 6, n. 2, 26 set. 2018.

NAKANO, Y. et al. Imatinib Responsiveness in Canine Mast Cell Tumors Carrying Novel Mutations of c-KIT Exon 11. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 4, p. 545–548, 2014.

NARDI, A. B. DE et al. Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. **Cells**, v. 11, n. 4, p. 1–37, 2022.

NEEL, J. A.; SNYDER, L.; GRINDEM, C. B. Thrombocytosis: a retrospective study of 165

dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 41, n. 2, p. 216–222, jun. 2012.

NEGASEE, K. A. Hepatic Diseases in Canine and Feline: A Review. **Veterinary Medicine – Open Journal**, v. 6, n. 1, p. 22–31, 4 set. 2021.

NEGRU, M. et al. Epidemiological study of the canine cutaneous mast cell tumor. **Rev Rom Med Ve**, v. 31, n. 2, p. 6–10, 2021.

NEMEC, A. et al. Electroporation-Based Treatments in Small Animal Veterinary Oral and Maxillofacial Oncology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 575911, p. 1–17, 29 set. 2020.

NORTHRUP, N. C. et al. Iridium-192 Interstitial Brachytherapy as Adjunctive Treatment for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 4, p. 309–315, 1 jul. 2004.

O'NEILL, D. G. et al. Longevity and mortality of owned dogs in England. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 638–643, dez. 2013.

OLIVEIRA, M. T. et al. Canine and Feline Cutaneous Mast Cell Tumor: A Comprehensive Review of Treatments and Outcomes. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 41, p. 100472, nov. 2020.

OLSEN, J. A. et al. Combination vinblastine, prednisolone and toceranib phosphate for treatment of grade II and III mast cell tumours in dogs. **Veterinary Medicine and Science**, v. 4, n. 3, p. 237–251, ago. 2018.

OWEN, L. TNM Classification of tumours in domestic animals. **World Health Organisation**, p. 1–52, 1980.

PANINÁROVÁ, M. et al. Congenital and acquired anomalies of the caudal vertebrae in dogs: Radiographic classification and prevalence evaluation. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 64, n. 3, p. 330–339, set. 2016.

PANIZZA, B. J. et al. Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46). **EBioMedicine**, v. 50, p. 433–441, dez. 2019.

PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 5, p.

469–474, 26 set. 1984.

PAVLIN, D. et al. Electrogene therapy with interleukin-12 in canine mast cell tumors. **Radiology and Oncology**, v. 45, n. 1, 1 jan. 2011.

PAVLIN, D.; CEMAZAR, M.; TOZON, N. **Electrochemogene Therapy as an Effective and Safe Treatment of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors**. 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies. **Anais...**2016Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-981-287-817-5_93>

PEDRAZA, F.; GRANDI, F.; ROCHA, N. S. The need for cytologic/histologic correlation studies to establish a cytologic grading system for canine mast cell tumors in veterinary medicine. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 3, p. 280–281, set. 2011.

PIERINI, A. et al. Epidemiology of breed-related mast cell tumour occurrence and prognostic significance of clinical features in a defined population of dogs in West-Central Italy. **Veterinary Sciences**, v. 6, n. 2, p. 2–9, 2019.

POGGIANI, S. DOS S. C. et al. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Biologic Behavior and Its Correlation with Prognostic Indicators. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 02, n. 04, p. 255–261, 2012.

POIRIER, V. J. et al. Radiation Therapy for Incompletely Excised Grade II Canine Mast Cell Tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 42, n. 6, p. 430–434, 1 nov. 2006.

PRATSCHKE, K. M. et al. Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008–2012). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 10, p. 1436–1441, 15 nov. 2013.

PREZIOSI, R.; SARLI, G.; PALTRINIERI, M. Prognostic Value of Intratumoral Vessel Density in Cutaneous Mast Cell Tumours of the Dog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 130, n. 2–3, p. 143–151, fev. 2004.

RANDALL, E. K. et al. The development of an indirect computed tomography lymphography protocol for sentinel lymph node detection in head and neck cancer and comparison to other sentinel lymph node mapping techniques. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 634–644, 25 dez. 2020.

- RANGEL, M. M. M. et al. Electrochemotherapy in the treatment of neoplasms in dogs and cats. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v. 51, n. 2, p. 45–51, 2019.
- RASSNICK, K. M. et al. Treatment of Canine Mast Cell Tumors with CCNU (Lomustine). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 6, p. 601, 1999.
- RASSNICK, K. M. et al. Efficacy of Vinblastine for Treatment of Canine Mast Cell Tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1390–1396, nov. 2008.
- RASSNICK, K. M. et al. 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**, v. 8, n. 2, p. 138–152, jun. 2010.
- REDDELL, P. et al. Wound formation, wound size, and progression of wound healing after intratumoral treatment of mast cell tumors in dogs with tigilanol tiglate. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 430–441, 12 jan. 2021.
- REYNOLDS, B. D. et al. Patient and tumour factors influencing canine mast cell tumour histological grade and mitotic index. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 3, p. 338–344, 2019.
- RIGAS, K. et al. Mast cell tumours in dogs less than 12 months of age: a multi-institutional retrospective study. **Journal of Small Animal Practice**, v. 61, n. 7, p. 449–457, 26 jul. 2020.
- RODIGHERI, S. M. et al. Neuropatia paraneoplásica associada ao mastocitoma canino. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 819–822, jun. 2008.
- ROMANSIK, E. M. et al. Mitotic Index Is Predictive for Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 3, p. 335–341, 26 maio 2007.
- RUNGSIPAT, A. et al. Clinical evaluation of canine mast cell tumor treatment between combined vinblastine and prednisolone and single prednisolone. **Comparative Clinical Pathology**, v. 18, n. 1, p. 77–84, 2 fev. 2009.
- SABATTINI, S. et al. Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor: : Is 2 Better Than 3? **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 1, p. 70–73, 10 jan. 2015.
- SABATTINI, S. et al. A retrospective study on prophylactic regional lymphadenectomy versus nodal observation only in the management of dogs with stage I, completely resected, low-grade

cutaneous mast cell tumors. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 331, 15 dez. 2021.

SARMA, K.; MONDAL, D. B.; SARAVANAN, M. Ultrasonographic changes in dogs naturally infected with tick borne intracellular diseases. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 2, p. 248–251, 1 jun. 2016.

SAUNDERS, H. et al. Evaluation of a modified proportional margin approach for complete surgical excision of canine cutaneous mast cell tumours and its association with clinical outcome. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 19, n. 4, p. 604–615, 23 dez. 2021.

SCHWAB, T. M. et al. Clinical Outcome for MCTs of Canine Pinnae Treated with Surgical Excision (2004–2008). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 50, n. 3, p. 187–191, 1 maio 2014.

SELMIC, L. E.; RUPLE, A. A systematic review of surgical margins utilized for removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 5, 6 dez. 2020.

SERRA VARELA, J. C. et al. Tolerability of a rapid-escalation vinblastine-prednisolone protocol in dogs with mast cell tumours. **Veterinary Medicine and Science**, v. 2, n. 4, p. 266–280, nov. 2016.

SHOOP, S. J. et al. Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. **Canine Genetics and Epidemiology**, v. 2, n. 1, p. 1, 2015.

SIMPSON, A. M. et al. Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 2, p. 236–240, 1 jan. 2004.

SIMPSON, M. et al. Age at gonadectomy and risk of overweight/obesity and orthopedic injury in a cohort of Golden Retrievers. **PLOS ONE**, v. 14, n. 7, p. e0209131, 17 jul. 2019.

ŚMIECH, A. et al. Epidemiological study of canine mast cell tumours according to the histological malignancy grade. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 20, n. 3, p. 455–465, 2017.

ŚMIECH, A. et al. Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 60, n. 1, p. 70, 3 dez. 2018.

ŚMIECH, A. et al. Occurrence and distribution of canine cutaneous mast cell tumour

characteristics among predisposed breeds. **Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 1, p. 141–148, 1 mar. 2019.

SMITH, J. et al. Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 1, p. 36–45, mar. 2015.

SMRKOVSKI, O. A. et al. Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 3, p. 314–321, set. 2015.

SONET, J. et al. Prospective evaluation of abdominal ultrasonographic findings in 35 dogs with leptospirosis. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 59, n. 1, p. 98–106, jan. 2018.

SOUZA, A. C. F. et al. Mastocitoma cutâneo canino: estudo retrospectivo dos casos atendidos pelo Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da FCAV-Unesp, Campus Jaboticabal, de 2005 a 2015. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1808–1817, set. 2018.

SPUGNINI, E. P. et al. Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. **Anticancer research**, v. 26, n. 6B, p. 4585–9, 2006.

SPUGNINI, E. P. et al. Evaluation of Cisplatin as an Electrochemotherapy Agent for the Treatment of Incompletely Excised Mast Cell Tumors in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 407–411, mar. 2011.

STANCLIFT, R. M.; GILSON, S. D. Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 1, p. 53–62, 1 jan. 2008.

STREFEZZI, R. D. F. et al. The Value of Immunohistochemical Expression of BAX in Formulating a Prognosis for Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. **Journal of Comparative Pathology**, v. 146, n. 4, p. 314–319, maio 2012.

STREFEZZI, R. DE F. et al. Nuclear morphometry in cytopathology: A prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 21, n. 6, p. 821–825, 2009.

STRZALKA, W.; ZIEMIENOWICZ, A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. **Annals of Botany**, v. 107, n. 7, p. 1127–1140, maio 2011.

TAMLIN, V. et al. Prevalence of exon 11 internal tandem duplications in the C-KIT proto-oncogene in Australian canine mast cell tumours. **Australian Veterinary Journal**, v. 95, n. 10, p. 386–391, out. 2017.

TAMLIN, V. S.; BOTTEMA, C. D. K.; PEASTON, A. E. Comparative aspects of mast cell neoplasia in animals and the role of KIT in prognosis and treatment. **Veterinary Medicine and Science**, v. 6, n. 1, p. 3–18, 24 fev. 2019.

TAMLIN, V. S.; BOTTEMA, C. D. K.; PEASTON, A. E. Comparative aspects of mast cell neoplasia in animals and the role of KIT in prognosis and treatment. **Veterinary Medicine and Science**, v. 6, n. 1, p. 3–18, 24 fev. 2020.

TAYLOR, F. et al. Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 6, p. 284–289, 2009.

THAMM, D. H. et al. Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 4, p. 451–455, 9 dez. 2019.

THAMM, D. H.; MAULDIN, E. A.; VAIL, D. M. Prednisone and Vinblastine Chemotherapy for Canine Mast Cell Tumor—41 Cases (1992–1997). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 491, 1999.

THAMM, D. H.; TUREK, M. M.; VAIL, D. M. Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 Cases. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n. 6, p. 581–587, 2006.

TIWARI, K. P. et al. Expression pattern of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in round cell tumors of dogs from Grenada, West Indies. **Indian Journal of Veterinary Pathology**, v. 40, n. 2, p. 144, 2016.

TORRES DE LA RIVA, G. et al. Neutering Dogs: Effects on Joint Disorders and Cancers in Golden Retrievers. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. e55937, 13 fev. 2013.

TOTHOVA, C.; NAGY, O.; KOVAC, G. Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. **Veterinární medicína**, v. 61, n. 9, p. 475–496, 30 set. 2016.

TOZON, N. et al. Operating Procedures of the Electrochemotherapy for Treatment of Tumor in Dogs and Cats. **Journal of Visualized Experiments**, n. 116, p. 1–7, 24 out. 2016.

- TURREL, J. M. et al. Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 8, p. 936–40, 15 out. 1988.
- VASCELLARI, M. et al. Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 1, p. 110–121, 6 jan. 2013.
- VICKERY, K. R. et al. Dose-escalating vinblastine for the treatment of canine mast cell tumour. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 2, p. 111–119, jun. 2008.
- VILLAMIL, J. A. et al. Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 7, p. 960–965, 1 out. 2011.
- VOZDOVA, M. et al. Prevalence and prognostic value of c-kit and TP53 mutations in canine mast cell tumours. **The Veterinary Journal**, v. 247, p. 71–74, maio 2019.
- VOZDOVA, M. et al. Recurrent gene mutations detected in canine mast cell tumours by next generation sequencing. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 509–518, 7 dez. 2020.
- WARLAND, J. et al. The utility of staging in canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 12, n. 4, p. 287–298, dez. 2014.
- WARLAND, J.; DOBSON, J. Breed predispositions in canine mast cell tumour: A single centre experience in the United Kingdom. **The Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 496–498, ago. 2013.
- WARRY, E. et al. Pharmacokinetics of Cyclophosphamide after Oral and Intravenous Administration to Dogs with Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 4, p. 903–908, jul. 2011.
- WEBSTER, J. D. et al. The Role of c-KIT in Tumorigenesis: Evaluation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Neoplasia**, v. 8, n. 2, p. 104–111, fev. 2006.
- WEBSTER, J. D. et al. Cellular Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with c-KIT and Its Role in Prognostication. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 3, p. 298–308, 26 maio 2007.
- WEBSTER, J. D. et al. Evaluation of prognostic markers for Canine mast cell tumors treated

with vinblastine and prednisone. **BMC Veterinary Research**, v. 4, p. 1–8, 2008.

WEISHAAR, K. M. et al. c-Kit Mutation and Localization Status as Response Predictors in Mast Cell Tumors in Dogs Treated with Prednisone and Toceranib or Vinblastine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 394–405, jan. 2018.

WELLE, M. M. et al. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 6, p. 321–339, dez. 2008.

WHITE, C. R. et al. Cutaneous MCTs: Associations with Spay/Neuter Status, Breed, Body Size, and Phylogenetic Cluster. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 47, n. 3, p. 210–216, 1 maio 2011.

WILLMANN, M. et al. Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 10 dez. 2021.

WOOLCOCK, A. . et al. Thrombocytosis in 715 Dogs (2011-2015). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 6, p. 1691–1699, nov. 2017.

WORLEY, D. R. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 12, n. 3, p. 215–226, set. 2014.

WOUDA, R. M. et al. Clinical effects of vinorelbine administration in the management of various malignant tumor types in dogs: 58 cases (1997–2012). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 11, p. 1230–1237, jun. 2015.

YAMADA, O. et al. Imatinib elicited a favorable response in a dog with a mast cell tumor carrying a c-kit c.1523A>T mutation via suppression of constitutive KIT activation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 142, n. 1–2, p. 101–106, jul. 2011.

YOON, J.-S. et al. Severe pulmonary mineralization in a dog with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: a case report. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 4, p. 223–226, 31 dez. 2019.

ZEMKE, D.; YAMINI, B.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. Mutations in the Juxtamembrane Domain of c- KIT Are Associated with Higher Grade Mast Cell Tumors in Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 5, p. 529–535, 26 set. 2002.

ZINK, M. C. et al. Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in

gonadectomized Vizslas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 3, p. 309–319, 1 fev. 2014.