



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ISABEL SILVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE PROGNÓSTICO PARA MASTOCITOMA
CUTÂNEO CANINO: Aspectos clínico, citopatológico e histopatológico**

São Luís – MA
2019

ISABEL SILVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE PROGNÓSTICO PARA MASTOCITOMA
CUTÂNEO CANINO: Aspectos clínico, citopatológico e histopatológico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciência Animal, da Universidade Estadual do Maranhão como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lucia Abreu Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique
Evangelista de Andrade

São Luís – MA
2019

ISABEL SILVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE PROGNÓSTICO PARA MASTOCITOMA
CUTÂNEO CANINO: Aspectos clínico, citopatológico e histopatológico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Estadual do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Dissertação defendida e aprovada em: ____/____/____ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva
Orientadora

Prof. Dr. Fábio Henrique Evangelista de Andrade
1º Membro

Prof^ª. Dra. Alcina Vieira de Carvalho Neta
2º Membro

Prof^ª Dr^a. Joicy Cortez de Sá
3º Membro

Dedico este trabalho primeiramente a Deus pelo seu infinito amor e planos perfeitos para minha vida, devo tudo à Ele. A meu esposo Julio Cesar Pereira da Silva, meus pais, José Maria Oliveira e Maria Aldeide da Silva Oliveira, meus irmãos, Itelvina Oliveira Veloso e Adilson José da Silva Oliveira por todo amor e apoio em todos os momentos.

“Pois sabemos que todas as coisas cooperam para bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito”

(Romanos 8:28)

RESUMO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE PROGNÓSTICO PARA MASTOCITOMA CUTÂNEO CANINO: Aspectos clínico, citopatológico e histopatológico.

Realizou-se um estudo prospectivo como o objetivo de avaliar os indicadores para o prognóstico do mastocitoma cutâneo canino, através de exames clínicos, citopatológicos e histopatológicos. Foram avaliados neste estudo 70 animais atendidos no Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchoa Lopes da UEMA, São Luís, durante o período de janeiro de 2017 a maio de 2019. Foram incluídos, cães sem restrição de sexo, idade ou raça, com diagnóstico citológico de mastocitoma, suscetível de excisão cirúrgica da formação, e cães com diagnóstico confirmado para mastocitoma por meio de exame histopatológico após a excisão cirúrgica. Dos quatro que apresentaram metástase, dois foram diagnosticados com grau II e dois com grau III. Durante o período de acompanhamento dos animais, foram registrados um total de cinco óbitos, destes dois foram diagnosticados com grau III e os demais com grau II. Os animais restantes que apresentaram neoplasia de baixo grau, tiveram prognóstico favorável. Não foi possível correlacionar o exame citológico com o histopatológico, porque dos 68 animais submetidos ao exame citológico apenas 13 cães coletaram amostras para biópsia. Quanto ao tratamento observou-se 81,42% não realizaram tratamento devido à falta de recurso ou negligência por parte do tutor.

Palavras-chave: Mastocitoma. Graduação histopatológica. Citopatologia.

ABSTRACT

TITLE: EVALUATION OF PROGNOSTIC INDICATORS FOR CANINE CUTANEOUS MASTOCYTOMA: Clinical, cytopathological and histopathological aspects.

A prospective study was carried out to evaluate the indicators for the prognosis of canine cutaneous mastocytoma, through clinical, cytopathological and histopathological exams. This study evaluated 70 animals treated at the Veterinary Hospital Francisco Edilberto Uchoa Lopes da UEMA, São Luís, during the period from January 2017 to May 2019. Dogs were included without restriction of sex, age or race, with cytological diagnosis of mastocytoma, susceptible to surgical excision of the formation, and dogs with confirmed diagnosis for mastocytoma by histopathological examination after surgical excision. Of the four who had metastasis, two were diagnosed with grade II and two with grade III. During the period of monitoring of the animals, a total of five deaths were recorded, of these two were diagnosed with grade III and the others with grade II. The remaining animals that presented low grade neoplasia had a favorable prognosis. It was not possible to correlate the cytological and histopathological examination, because of the 68 animals submitted to the cytology examination, only 13 dogs collected samples for biopsy. Regarding the treatment was observed 81.42% did not perform treatment due to lack of recourse or negligence on the part of the guardian.

Key words: Mastocytoma. Histopathological graduation. Cytopathology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Características macroscópicas dos mastocitomas cutâneos observados em cães.....16
- Figura 2.** Imagens de lâminas após exame citopatológico identificando os mastocitomas coradas em H.E. e Giemsa.....28
- Figura 3.** Imagens de lâminas histológicas coradas com Giemsa, identificando o mastocitoma.....30
- Figura 4.** Exames complementares compatíveis com metástases em cães com mastocitoma cutâneo.....31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características citopatológicas e histopatológicas avaliadas em mastocitoma cutâneo conforme adaptadas por Patnaik et al. (1984), Bostock (1973).....19
- Tabela 2.** Sexo, idade e raças dos cães incluídos no estudo.....25
- Tabela 3.** Percentual da distribuição em relação a localização anatômica.....26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CAAF** – Citologia por aspirado de agulha fina
- CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais
- c-Kit** – Proteína tirosina-quinase
- G -** Gauge
- H.E.** – Hematoxilina-eosina
- SRD** – Sem raça definida
- UEMA** – Universidade Estadual do Maranhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Mastocitoma	14
2.1.1 Incidência e etiologia.....	14
2.1.2 Comportamento biológico e sinais clínicos.....	15
2.2 Diagnóstico.....	17
2.2.1 Exame citopatológico	17
2.2.2 Exame histopatológico	17
2.2.3 Imunohistoquímica.....	18
2.3 Classificação do mastocitoma	19
2.4 Fatores prognósticos.....	20
2.5 Tratamento.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Geral	22
3.2 Específicos.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Seleção dos animais.....	22
4.2 Delineamento do projeto	23
4.3 Processamento e gradação citopatológica	23
4.4 Processamento e gradação histopatológica	24
5. RESULTADOS.....	24
5.1 Avaliação clínica	24
5.1.1 Sexo, idade e raça.....	24
5.1.2 Localização anatômica	25
5.1.3 Características das lesões	26
5.2 Exame citopatológico	26
5.3 Exame Histopatológico	29
5.4 Exames complementares	31
5.5 Prognóstico	31
6. DISCUSSÃO.....	32
7. CONCLUSÃO	33

REFERÊNCIAS	34
--------------------------	-----------

1. INTRODUÇÃO

Mastocitoma é o tumor cutâneo que mais acomete a espécie canina (SCARPA et al., 2014). Ocorre com maior frequência em animais com média de idade de nove anos, não havendo predileção sexual, mas com forte evidência de predisposição racial, sugerindo contribuição genética para o desenvolvimento dessa neoplasia (THAMM; VAIL, 2007).

O mastocitoma é definido como uma proliferação neoplásica de mastócitos, tendo origem na medula óssea e no tecido conjuntivo, sendo denominado como mastocitoma histiocítico ou sarcoma da célula do mastócito com etiologia desconhecida (COSTA-CASAGRANDE et al. 2008). O comportamento clínico é variado, podendo o paciente atingir a cura clínica, por meio de cirurgia e quimioterapia adequada, ou vir a óbito em decorrência de doença metastática (TORRES-NETO, 2008).

Macroscopicamente, o mastocitoma apresenta-se como tumores firmes, pequenos e bem circunscritos, podendo ser eritematosos, alopecicos e/ou ulcerados, formando nódulos ou placas, medindo aproximadamente 2-5 cm de diâmetro e altura de 1-3 cm (PRADO et al., 2012). Além disso, podem-se apresentar como lesões flutuantes, macios e pouco definidos, e outras vezes, apresentam-se grandes, difusos e, ainda envolver outros órgãos (ILLAVALLE; ARAÚJO; CARNEIRO, 2003).

Os mastocitomas cutâneos normalmente se localizam na derme ou tecido subcutâneo e frequentemente são observados em regiões como: tronco, região perineal, inguinal e membros posteriores e inferiores (NEVES et al. 2012). Além disso, pode ainda se apresentar na forma visceral disseminada e caracterizando-se principalmente por massas neoplásicas no baço, fígado, pulmão e linfonodos (POLLACK et al, 1991).

Diversos critérios vêm sendo utilizados para estabelecer o prognóstico da neoplasia, tais como: estadiamento clínico, taxa de crescimento tumoral, atividade proliferativa e grau histopatológico. Entretanto somente o grau histopatológico consegue ter um parâmetro preditivo (THAMM; VAIL, 2007), porém essa classificação ainda não é capaz de prever de forma adequada o comportamento biológico das neoplasias de grau intermediário, provocando muitas vezes o insucesso do tratamento (PREZIOSI et al., 2004).

A compreensão total do diagnóstico, tratamento e comportamento biológico do mastocitoma é de extrema importância. Neste sentido muitos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de obter valores preditivos, que possam auxiliar na escolha do tratamento e

do prognóstico correto. Sendo assim, esta pesquisa busca investigar os fatores indicadores de prognóstico de mastocitoma cutâneo canino através de técnicas de diagnóstico já conhecidas, mas que ainda precisam ser testadas e estudadas para mais esclarecimentos sobre esta neoplasia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mastocitoma

2.1.1 Incidência e etiologia

O mastocitoma é um dos tumores cutâneos malignos mais diagnosticados em animais domésticos, especialmente os cães com incidência aproximada de 20% (VILLAMIL et al, 2011; LONDON; THAMM, 2013). Acomete principalmente animais adultos com idade entre oito e nove anos, mas podendo ocorrer em jovens de qualquer faixa etária (STREFEZZI et al., 2010; LONDON; THAMM, 2013). Estudos afirmam que não há predisposição sexual para mastocitoma, entretanto pesquisa realizada por White et al. (2011) sugerem existir influência hormonal no desenvolvimento do mastocitoma dos cães, uma vez que as fêmeas e machos castrados apresentaram maior risco de ocorrência de desenvolver mastocitoma do que em animais não castrados.

Entre as raças mais predispostas estão Boxer, Labrador, Golden Retrievers e Sharpei chinês (VILLAMIL et al, 2011; FERNANDES et al., 2015). Cães sem raça definida (SRD) também despontam entre os animais mais acometidos devido à grande presença dos mestiços no território brasileiro (COSTA-CASAGRANDE, 2010).

A etiologia do mastocitoma ainda não está comprovada, porém entre as hipóteses mais aceitas estão: inflamação crônica, aplicação de substâncias irritantes na pele, infecção viral e alterações genéticas (DALECK et al, 2009; PRADO et al., 2012). Além disso, sabe-se que, os mastócitos neoplásicos têm origem na medula óssea e no tecido conjuntivo (COSTA-CASAGRANDE et al, 2008), e que há envolvimento do receptor de tirosina-quinase c-KIT na patogenia da neoplasia (ZEMKE et al, 2001).

2.1.2 Comportamento biológico e sinais clínicos

O mastocitoma canino é de grande relevância na rotina clínica veterinária, uma vez que sua ocorrência é bastante comum e o seu comportamento biológico é variável e muitas vezes agressivo (BRAZ et al., 2017).

Os mastócitos neoplásicos liberam substâncias vasoativas como heparina e histamina (PINHO, 2014), muitas vezes aumentadas em 25 a 50 vezes em relação a um mastócito típico, levando a efeitos sistêmicos como a ulceração gastrointestinal e coagulopatias, edema, prurido, vômitos, diarreia e, em casos raros, choque e colapso (PRADO et al., 2012; PEREIRA et al., 2018).

A derme e o tecido subcutâneo são os principais locais de ocorrência do mastocitoma, sendo raras as manifestações viscerais, mesmo havendo abundância de mastócitos no trato respiratório e gastrointestinal dos animais (MANN, 2016). Na maioria dos casos, a neoplasia se apresenta como formações solitárias, apesar de existir relatos de mastocitomas cutâneos múltiplos entre 5 e 25% dos pacientes diagnosticados (CHAVES, 2014).

As lesões na derme se apresentam comumente na forma de tumores pequenos, de consistência firmes e bem circunscritos, podendo haver eritema, alopecia e ulceração, associados ou não, formando nódulos ou placas (MAZZOCCHIN, 2013). Contudo, os mastocitomas podem também se apresentar pouco definidos, macios e como lesões flutuantes, assemelhando-se a outros tumores, a exemplo, o lipoma e em outros casos, podem ser grandes e difusos (MELO, 2013) como apresentado na Figura 1.



Figura 1. Características macroscópicas dos mastocitomas cutâneos observados em cães. A – Tumor em região de focinho, ulcerado, alopecico, vascularizado, em cão SRD. B - Tumor em membro torácico direito, de consistência macia, alopecico, vascularizado, com edema em cão da raça Doberman. C – Nódulo em região lateral direita do abdômen, ulcerado, eritematoso e alopecico em cão da raça Poodle. D – Tumor pendular próximo à mama torácica caudal direita, consistência mole, ulcerado, alopecico e bastante vascularizado em cão SRD.

Em relação à localização do tumor, o mastocitoma geralmente acomete tórax e abdômen (37-50%), extremidades (35-40%), região inguinal e perianal (11-15%), cabeça e pescoço (10-13%), existindo ainda uma maior predisposição para a parte posterior do corpo, sendo a bolsa escrotal e o flanco os mais acometidos (KIUPEL et al, 2005; PRADO et al., 2012). Mastocitomas cutâneos com pior prognóstico são encontrados principalmente em regiões perineal e perianal, e nas junções mucocutâneas (SMIECH et al, 2018).

A manipulação cutânea inadequada do tumor pode ocasionar a degranulação resultando no sinal de Darier, ou seja, eritema e edema local devido à liberação das substâncias heparina, histamina e outros fatores vasoativos pelos mastócitos neoplásicos (PRADO et al., 2012; PEREIRA et al., 2018).

O estadiamento clínico é muito importante para a determinação do estado do paciente e do avanço da doença. Segundo o estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS), o estadiamento clínico considera a localização do tumor primário e a presença de

metástases à distância em linfonodos e órgãos como fígado e baço (LONDON & THAMM, 2013).

2.2 Diagnóstico

2.2.1 Exame citopatológico

A citologia por aspirado de agulha fina (CAAF) é provavelmente o método mais simples e seguro para diagnóstico do mastocitoma canino (PRADO et al., 2012), além de ser pouco invasivo, apresenta baixo risco para o paciente e reduz a agressão para a neoplasia (SCARPA et al., 2014). Através do exame citopatológico os mastocitomas são facilmente reconhecidos ao microscópio, devido à facilidade de visualização de seus grânulos (PALMA et al., 2009).

Após a punção, os mastocitomas são geralmente diagnosticados em aproximadamente 96% dos casos por esfregaços corados em corantes específicos como Giemsa ou o azul de Toluidina (SANTOS 2017; SOUZA et al., 2017). Citologicamente, os mastócitos são agrupados na categoria de neoplasias de células redondas, com núcleo redondo a oval, localizado centralmente e dificilmente identificado e com presença dos grânulos citoplasmáticos, sendo esta última, característica específica do mastocitoma (SOUZA et al., 2017).

De acordo com alguns estudos, a citopatologia tem alta sensibilidade e especificidade para diferenciação das neoplasias, pois permite uma maior caracterização do tipo celular, critérios de malignidade e diferenciação de neoplasias de processos neoplásicos, através da observação morfológica e estrutural da célula (BRAZ et al., 2017). Porém, a principal limitação da citologia é a invasão tumoral, que não permite avaliar a arquitetura celular adjacente ao tumor.

Em caso de tumores mais indiferenciados, a identificação por citologia não é possível (LAVALLE et al, 2003), nesses casos é necessário a avaliação histopatológica.

2.2.2 Exame histopatológico

A histopatologia tem influência direta na conduta terapêutica e é o mais indicado para observar a graduação, intensidade de proliferação e a margem atingida na retirada do

tumor (MELO et al., 2013). A cirurgia é a modalidade de tratamento mais efetiva, desde que realizada com margens de segurança (MELO et al., 2013; PEREIRA et al., 2018).

O exame histopatológico ou biópsia ajuda a definir a quantidade e o tipo dos grânulos citoplasmáticos, avalia o grau de infiltração do tumor abaixo da derme e de pleomorfismo celular e o índice mitótico (PALMA et al., 2009).

A identificação do tipo de neoplasia é importante no estabelecimento do curso da doença, no entanto, o grau de diferenciação histológico ainda é o mais importante preditor, uma vez que estabelece as características morfológicas e o potencial metastático, bem como, a provável resposta ao tratamento e prognóstico (SMIECH et al, 2018).

Tendo em vista que o mastocitoma é uma neoplasia sem um padrão clínico característico, é importante fazer o diagnóstico diferencial com outras neoplasias, tais como: linfoma, plasmocitoma, histiocitoma, tumor venéreo transmissível, entre outros (LONDON; SEGUIN, 2003).

2.2.3 Imunohistoquímica

A imunohistoquímica é um método auxiliar de diagnóstico de extrema importância e está sendo cada vez mais utilizada em diagnósticos mais precisos, principalmente das neoplasias, que precisam estabelecer o protocolo terapêutico e o prognóstico adequado (SILVA et al., 2015), e que pode ser associado aos histoquímicos utilizados na rotina veterinária. É uma metodologia simples, segura, de fácil praticidade que utiliza tecidos biológicos parafinizados, congelados e/ou frescos (BARRA, 2006).

Os principais marcadores imunohistoquímicos utilizados são a proteína KIT (CD117) e Ki67, pois permitem identificar os tumores que podem ser biologicamente mais agressivos (WEBSTER et al. 2007; STREFEZZI et al. 2010; SLEDGE et al. 2016; FLORES et al. 2016).

A proteína KIT que é receptor para o fator de células tronco SCF, quando ativado induz um aumento da proliferação, sobrevivência e aumento na liberação de mediadores em mastócitos normais ou neoplásicos (LONDON, et al., 1999; ROSKOSKI, 2005; AMON et al, 2010). A sua expressão está relacionada geralmente a um pior prognóstico, maior probabilidade de metástase, recidiva local e alto grau de proliferação celular (KIUPEL et al., 2004; ZEMKE, YAMINI & YUZBASIYAN-GURKAN, 2002)

O Ki67 é uma proteína de proliferação celular que pode ser identificado através da imunohistoquímica. Este marcador está relacionado ao tempo de sobrevida e ao índice de metástase em mastocitoma canino (WEBSTER et al., 2007; THOMPSON et al., 2011).

2.3 Classificação do mastocitoma

Atualmente existem dois sistemas de graduação histopatológica para mastocitoma, o sistema Patnaik e Kiupel. O sistema descrito por Patnaik foi publicado em 1984, dividindo-o em três categorias (I, II e III), levando em consideração a celularidade, o pleomorfismo e o índice mitótico (PATNAIK et al, 1984; PINKZOWSKI et al, 2008).

Tumores de Grau I (bem diferenciado) possui células tumorais uniformes, núcleo redondo, com um núcleo e granulações evidentes. O grau I tem excelente prognóstico em longo prazo; Grau II (diferenciação intermediária) apresenta moderada a acentuada celularidade, células moderadamente pleomórficas e gigantes, grânulos intracitoplasmáticos finos a grandes e hipercromáticos, núcleos excêntricos com cromatina dispersa, células binucleadas ocasionais, raras figuras de mitose. Neste caso, o prognóstico é imprevisível e variante; e Grau III (pouco diferenciado) observa-se maior pleomorfismo celular, podendo haver de pouca presença a ausência completa de granulação citoplasmática, grande relação núcleo/citoplasma, núcleos aberrantes e, em alguns casos, binucleação, mostrando uma maior indiferenciação celular (Tabela 1). Tendo um prognóstico reservado a pobre por possuir alta taxa de reincidência e metástase.

Tabela 1. Características citopatológicas e histopatológicas avaliadas em mastocitoma cutâneo conforme adaptadas por Patnaik et al. (1984), Bostock (1973).

MASTOCITOMA			
Critérios de	Graduação		
Malignidade	GRAU I	GRAU II	GRAU III
Celularidade*	Moderada a alta	Moderada a acentuada	a Acentuada
Células*	Redondas e monomórficas	Moderadamente pleomórficas, redondas a ovoides e células gigantes.	Pleomórficas, de tamanho médio, redondas a ovoides;
Citoplasma*	Ampla, limites distintos e grânulos intracitoplasmáticos médios	Indistinto em algumas células, grânulos intracitoplasmáticos finos a grandes e hipercromáticos.	Indistinto e grânulos intracitoplasmáticos pouco visíveis;

		MASTOCITOMA		
Crítérios de Malignidade	Gradação			
	GRAU I	GRAU II	GRAU III	
Núcleos*	Redondos e excêntricos com cromatina condensada	e com cromatina dispersa e único nucléolo;	Redondos e excêntricos, vesiculares, com um ou mais nucléolos;	
Binucleação e multinucleação*	Ausentes	Células binucleadas eram ocasionais	Comuns	
Figuras de mitose*	Ausentes	Raras, variando de 0 a 2 por campo de alta potência.	Comuns, variando de 3 a 6 células por campo de alta potência.	
Invasão tecidual**	Ausente	Moderada	Elevada	
Necrose, edema e hemorragia**	Mínimo	moderado	Comuns	

* Informações descritivas da gradação citopatológica e histopatológica.

** Informações descritivas da gradação histopatológica.

Os tumores moderadamente diferenciados são heterogêneos e o curso clínico é imprevisível. Neste sentido, Kiupel et al. (2011) propuseram uma nova classificação de malignidade de dois graus, dividindo-os em alto grau e baixo grau, em referente a morfologia do núcleo das células e no número de figuras de mitose. Tumores de alto grau de malignidade dos mastocitomas mostram transformações envolvendo pelo menos sete figuras de divisão mitótica, três células multinucleadas, três células com núcleos bizarros por dez campos de alta potência e 10% de células com cariomegalia. Todos os outros tumores que não atendem a esses critérios são classificados como de baixo grau.

2.4 Fatores prognósticos

Existem fatores da apresentação clínica do mastocitoma cutâneo canino de forte influência sobre o prognóstico como, por exemplo, a localização do tumor, a presença de ulceração e quantidade de tumores, no entanto, o grau histopatológico é o mais importante (WELLE et al., 2008; LONDON; THAMM, 2013; RODRIGUES, 2015; SMIECH et al. 2018).

Diversas estratégias têm sido implementadas nos últimos anos para fornecer um prognóstico mais preciso para os mastocitomas, incluindo a análise de marcadores proliferativos, padrão de coloração, proteína KIT (CD 117) e a detecção da mutação c-KIT

(PIMENTA, 2012). Todos esses métodos são capazes de melhorar a capacidade do oncologista de prever se o grau do mastocitoma é clinicamente agressivo ou não. No Reino Unido, os marcadores proliferativos, como índice mitótico (MI) e Ki 67, são usados mais comumente que o padrão de expressão da proteína KIT ou mutação c-KIT (BERLATO et al. 2015).

2.5 Tratamento

Para tratamento de animais com mastocitoma grau I a excisão cirúrgica da massa é suficiente. Contudo, caso se trate de uma massa pouco diferenciada o tratamento cirúrgico pode necessitar ser complementado com corticoesteróides, radioterapia, quimioterapia, ou uma combinação destes, de acordo com o estado clínico do paciente (MISDORP, 2004; NORTHRUP et al., 2005; COUTO, 2006; CIAN & FREEMAN, 2007). Independentemente do grau de malignidade, no momento da remoção cirúrgica devem ser deixadas amplas margens de segurança. Segundo alguns trabalhos publicados, as neoplasias deveriam ser excisadas com margens de 3 cm (MISDORP, 2004).

Os corticoesteróides são os fármacos que têm demonstrado maior eficácia no tratamento desses tumores (LEMARIÉ; LEMARIÉ; HEDLUND, 1995; OGILVIE; MOORE, 1995). Estes inibem a proliferação do mastocitoma e ao mesmo tempo promovem a apoptose das células tumorais através da interação com os receptores de glucocorticóides (TAKAHASHI et al., 1997).

O uso da radioterapia no tratamento de mastocitomas é recomendado após excisões cirúrgicas incompletas, doenças subclínica e microscópica, ou caso nova excisão cirúrgica não seja possível (LARUE; GORDON, 2013; CUNHA et al., 2017). Ainda, há estudos que sugerem a radioterapia como método de diminuição da formação para posterior procedimento cirúrgico de excisão. O tratamento com radioterapia, associado à cirurgia tem boas correlações com o controle da doença especialmente em casos onde a cirurgia isolada não é capaz de excisar completamente o nódulo (LARUE; GILLETE, 2007).

A quimioterapia é indicada em mastocitomas para o controle da doença disseminada, ou quando não é possível a intervenção cirúrgica, e em mastocitomas de grau III com tratamento adjuvante com prognóstico desfavorável (LANORE; DELPRAT, 2004; WELLE et al., 2008).

Além das terapias acima citadas, estão sendo testados outros medicamentos que inibem o receptor de tirosina-quinase KIT. Algumas pesquisas vêm demonstrando efetividade *in vitro e in vivo* demonstrando efetividade do medicamento sozinho ou em combinação de tratamentos (PRYER et al., 2003; LIN et al., 2008).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar indicadores para o prognóstico de mastocitoma cutâneo canino, através de exames clínicos, citopatológicos, histopatológicos.

3.2 Específicos

- Determinar as características clínicas dos animais portadores de mastocitoma;
- Graduar os mastocitomas cutâneos caninos, utilizando a citopatologia e histopatologia, adaptando as classificações vigentes;
- Quantificar o número de figuras de mitose, células binucleadas e multinucleadas nos mastocitomas cutâneos nos exames citopatológicos e histopatológicos e comparar com a graduação citopatológica e histopatológica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi submetida à aprovação do CEUA da UEMA recebendo o número de protocolo 49/2017. A inclusão dos pacientes neste trabalho foi condicionada ao consentimento livre e esclarecimento dos proprietários.

4.1 Seleção dos animais

Foram utilizados neste estudo os animais atendidos no Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchoa Lopes da UEMA, São Luís, durante o período de janeiro de 2017 a maio de 2019. Foram incluídos, cães sem restrição de sexo, idade ou raça, com diagnóstico

citológico de mastocitoma, suscetível de excisão cirúrgica da formação neoplásica, e cães com diagnóstico confirmado para mastocitoma por meio de exame histopatológico após a excisão cirúrgica.

4.2 **Delineamento do projeto**

Os animais foram submetidos à avaliação clínica, incluindo anamnese e exame físico e informações relacionadas ao sexo, idade, raça, tempo de evolução da neoplasia, localização anatômica, consistência, presença de sangramento, características de crescimento, tamanho, presença de alopecia, eritema, ulceração, número de formações, presença de alteração de linfonodos e presença de metástase. A busca por metástases foi realizada com auxílio de exames complementares (radiografia e ultrassonografia) sob escolha dos tutores. Após a colheita de informações clínicas, o paciente foi submetido ao exame citopatológico.

Os animais foram submetidos à intervenção cirúrgica de excisão da formação neoplásica, quando possível, com margens amplas de 2 a 3 cm nas laterais e na profundidade, com o objetivo de coletar material para exame histopatológico. Os cães que precisavam de tratamento complementar, como quimioterapia foram acompanhados clinicamente. O tutor foi orientado, que deveria retornar para uma avaliação clínica caso o animal apresentasse recidiva.

4.3 **Processamento e graduação citopatológica**

Os animais que receberam diagnóstico prévio de mastocitoma foram submetidos a uma nova coleta de material por citologia aspirativa com agulha fina (CAAF), utilizando seringas descartáveis de 3 a 10 mL e agulhas descartáveis de 22 a 25 G. Após antissepsia local, realizou-se a punção na formação tumoral, com ou sem aspiração, conforme descrito por Cowell et al. (2009).

Após a coleta, o material foi levado ao Laboratório de Anatomopatologia para o processamento das lâminas, onde inicialmente o esfregaço foi seco a temperatura ambiente, depois fixado em álcool metílico e corados pelos métodos de hematoxilina-eosina (H.E. – hematoxilina de Harris e eosina alcoólica a 0,5%), Giemsa de Lennert, para leitura citológica e posterior graduação. Para a graduação citopatológica, foram avaliadas as características

celulares, e as neoplasias foram divididas em 3 graus de diferenciação, (grau I), bem diferenciados, (grau II), moderadamente diferenciados e (grau III), pouco diferenciados, adaptadas de Patnaik et al. (1984) e Bostock (1973).

4.4 **Processamento e graduação histopatológica**

As amostras foram fixadas em formalina tamponada 10% por um período de 24 horas e incluídas posteriormente em parafina histológica. Todo este processamento foi realizado em um histotécnico automático (Leica - TP 1020). Os cortes são de 5 µm, obtidos em micrótomo automático (Micron – HM 360), corados por hematoxilina-eosina (H.E. – hematoxilina de Harris e eosina alcoólica a 0,5%), Giemsa de Lennert, montados em Entellan (Merck – 1.07961) examinados e fotografados em microscópio de luz (Zeiss – Axioplan). A classificação em graus foi baseada na diferenciação celular e em outras informações descritas por Patnaik, Ehler e MacEwen (1984). Para a leitura das lâminas utilizou-se a seguinte graduação histopatológica: grau I- neoplasias que possuem células bem diferenciadas; grau II- neoplasias que apresentam células com grau intermediário de diferenciação; e grau III- apresentam células pouco diferenciadas, em que os grânulos citoplasmáticos são de difícil visualização.

5. **RESULTADOS**

5.1 **Avaliação clínica**

5.1.1 **Sexo, idade e raça**

Durante o período do estudo foram atendidos no Hospital Veterinário da UEMA um total de 70 cães diagnosticados com mastocitomas cutâneos. Foram analisados no estudo um total de 68 exames citopatológicos e 13 exames histopatológicos. Do total de 70 animais, 33 (47,14%) eram machos e 37 (52,85%) eram fêmeas. Em relação a idade, 26 animais (37,14%) eram adultos, 37 (52,85%) eram idosos e 07 (10%) não tiveram a idade informada. Não foram observados casos de mastocitoma em animais filhotes.

Os animais mais acometidos foram os sem raça definida (57,14%), seguido da raça Pinscher (8,57%), Pit bull (10%), Labrador (5,71%), Poodle (4,28%), Doberman (2,85%), Shih tzu (1,42%), Terrier brasileiro (1,42%), Rottweiler (1,42%) e York Shire (1,42%).

Segundo as fichas analisadas, 04 (5,71%) não tiveram sua raça informada. Os dados clínicos referentes ao sexo, idade, e raça estão detalhados na Tabela 2.

Tabela 2. Sexo, idade e raças dos cães incluídos no estudo.

% Animais (n= 59)		
Sexo	Macho	33 (47,14%)
	Fêmea	37 (52,85%)
Idade	Filhotes (até 1 ano)	00
	Adultos (até 8 anos)	26 (37,14%)
	Idosos (acima de 8 anos)	37 (52,85%)
	Não Informado	7 (10%)
Raça	Sem raça definida	40 (57,14%)
	Pinscher	6 (8,57%)
	Pit bull	7 (10%)
	Labrador	4 (5,71%)
	Poodle	3 (4,28%)
	Doberman	2 (2,85%)
	Shih tzu	1 (1,42%)
	Terrier brasileiro	1 (1,42%)
	Rottweiler	1 (1,42%)
	York Shire	1 (1,42%)
	Não Informado	4 (5,71%)

5.1.2 Localização anatômica

As localizações anatômicas dos tumores foram frequentes nas regiões torácica com (26,59%) e região de membros (24,46%), seguida das regiões abdominal e genital com (15,95%) cada uma, região de cabeça e pescoço (11,70%), e em menor frequência na região inguinal (5,31%) como demonstrado na Tabela 3.

Conforme os dados analisados dos 70 animais examinados, 56 animais apresentavam mastocitoma único, representando (80%) e em 13 cães (18,57%) foram identificados múltiplos mastocitoma, totalizando 94 mastocitomas independente da forma de apresentação.

Dos cães que apresentaram múltiplos mastocitomas distribuídos entre as regiões corpóreas, 38,46% apresentaram 2 lesões; 30,76% apresentaram 3 lesões e 30,76% dos animais apresentaram acima de 3 lesões.

Tabela 3. Percentual da distribuição em relação a localização anatômica.

Localização anatômica	%
Região torácica	26,59
Região de membros	24,46
Região abdominal	15,95
Região genital	15,95
Região de cabeça e pescoço	11,70
Região inguinal	5,31

5.1.3 Características das lesões

Macroscopicamente, os tumores apresentavam tamanho variando de 1,5 a 15 cm de diâmetro e o tempo de evolução, considerando as observações oriundas dos tutores, variaram de 3 semanas a 3 anos.

Os nódulos apresentavam-se com ulceração (25,53%), vascularização (74,46%), consistência firme (48,95%), amolecida (29,78%), macia (8,51%). Apenas (14,89%) dos mastocitomas encontravam-se bastante infiltrados e aderidos à musculatura.

5.2 Exame citopatológico

Dos mastocitomas diagnosticados pelo exame citopatológico, (7,69%) foram classificados como grau I, (83,51%) como grau II e (8,79%) com grau III. Quanto à distribuição anatômica das neoplasias, os mastocitomas de grau I foram observados principalmente na região genital (42,85%), seguido das regiões de membros, abdominal, torácica e inguinal com 14,28% cada.

Os mastocitomas de grau II distribuíram-se preferencialmente nas regiões de torácica totalizando (28,94%), seguido da região de membros (19,73%), região genital (17,10%), região abdominal (15,78%), região de cabeça e pescoço (13,15%), e região inguinal (6,57%). Já os mastocitomas graduados como grau III, ocorreram principalmente na região de membros e torácica totalizando respectivamente 50,00% e 25,00% dos casos, seguido da região da cabeça e região abdominal com 12,50% em cada.

Os mastocitomas de grau I apresentaram discreta a moderada celularidade (25,00%) e intensa celularidade (75,00%). A granulação intracitoplasmática e em fundo de lâmina também foi observada, apresentou-se moderada em 25,00% das amostras e intensa em

75,00%. Além disso, as células redondas presentes em apresentavam discreta a moderada anisocitose e anisocariose, núcleos centrais e excêntricos, nucléolos pequenos e indistintos e cromatina densa. Foi possível observar a presença de eosinófilos (discreta a moderada) em grande maioria das amostras. Moderada presença de fibrócitos, fibroblastos e neutrófilos esteve presente em todas as amostras analisadas.

Mastocitomas de grau II com maior representatividade neste estudo (83,51%), foram encontradas as seguintes características citológicas: em relação à celularidade apresentaram moderada a intensa, granulação intracitoplasmática intensa na maioria das amostras e variado tamanho dos grânulos. Células redondas a poligonais com moderada a acentuada anisocitose e anisocariose. Foi observada também a presença de megacariose, macronúcleolos, pleomorfismo, nucléolos evidentes, múltiplos nucléolos e cromatina grosseira. Moderada a acentuada população de eosinófilos e neutrófilos, presença discreta a moderada de fibrócitos e fibroblastos. Além disso, presença discreta de multinucleação, binucleações e figuras de mitose em número discreto a moderado (0 a 3 por campo de 40x).

Os casos classificadas com grau III apresentaram: celularidade moderada a alta, células redondas apresentando alto pleomorfismo, anisocitose e anisocariose acentuadas, cromatina granular, células contendo 1 a 3 nucléolos evidentes, algumas células apresentando vacuolização citoplasmática, discreta granulação intracitoplasmática e fundo de lâmina sem granulação, citoplasma bem delimitado em algumas células, em outras células não apresentaram limites citoplasmáticos, macrocariose, nucléolos angulados, moderada população de eosinófilos e neutrófilos. Além disso, foram observadas células binucleadas e multinucleadas, figuras de mitose discretas a moderada (0 a 3 por campo de 40x) (Figura 2).

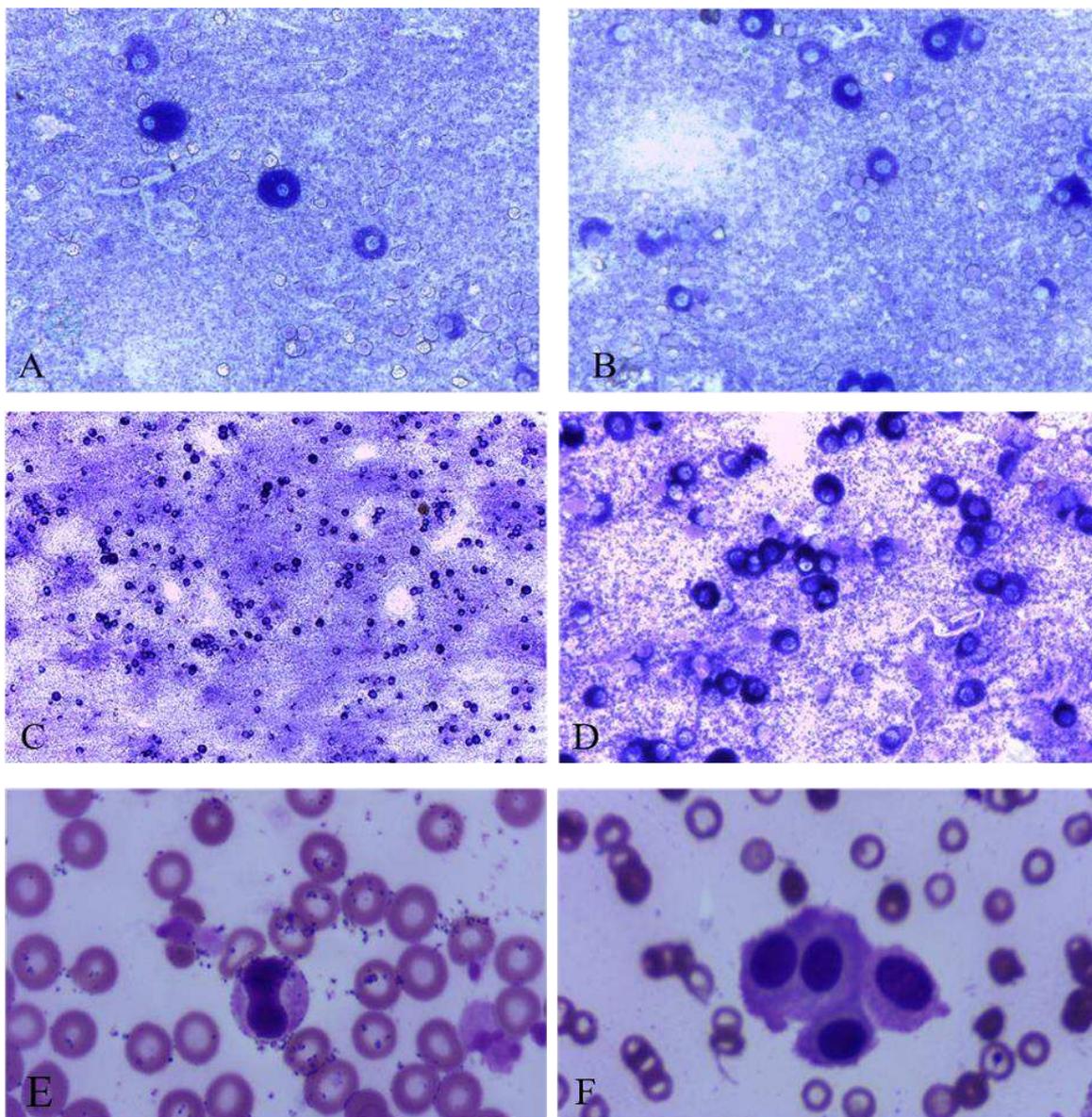


Figura 2. Imagens de lâminas após exame citopatológico identificando os mastocitomas coradas em H.E. e Giemsa. (A e B). Mastocitoma Grau I - Amostra com células redondas e núcleos centrais e excêntricos apresentando anisocitose, anisocariose e intensa granulação intracitoplasmática e em fundo de lâmina. (C). Mastocitoma Grau II - Amostra com moderada celularidade, células redondas com núcleos centrais e excêntricos e intensa granulação intracitoplasmática e em fundo de lâmina. (D). Mastocitoma Grau II - Amostra com células redondas apresentando anisocitose, anisocariose e mastócitos em degranulação. (E). Mastocitoma Grau III - Célula em mitose. (F). Mastocitoma Grau III - Célula binucleada.

5.3 Exame Histopatológico

De acordo com casos analisados por exame histopatológico, (78,57%) eram mastocitomas de grau II, os demais foram classificados como grau I (7,14%) e grau III (14,28%).

No caso classificado como grau I, foi observada intensa celularidade e granulação intracitoplasmática, núcleo central, nucléolos indistintos, mastócitos monomorfos, pequenas áreas de congestão e necrose, presença intensa de eosinófilos e moderado número de fibrócitos e fibroblastos, ausência de binucleação e multinucleação, e figuras de mitose.

Para os casos de mastocitomas grau II foram encontrados intensa celularidade, granulação intracitoplasmática intensa na maior parte das amostras e em menor quantidade discreta a moderada, núcleo excêntrico e central, nucléolos evidentes, áreas de congestão e necrose moderada a alta, presença moderada a intensa de eosinófilos e moderado número de fibrócitos e fibroblastos. Presença moderada de binucleação e multinucleação (0 a 5 por campo de 40x), e figuras de mitose (0 a 2 por campo de 40x).

Já o caso diagnosticado como mastocitoma grau III, apresentou intensa celularidade, granulação intracitoplasmática escassa, núcleo excêntrico e central, presença intensa de células binucleadas e multinucleadas, grande quantidade de figuras de mitose, nucléolos evidentes, intensa áreas de congestão e de necrose, presença moderada a intensa de eosinófilos (Figura 3).

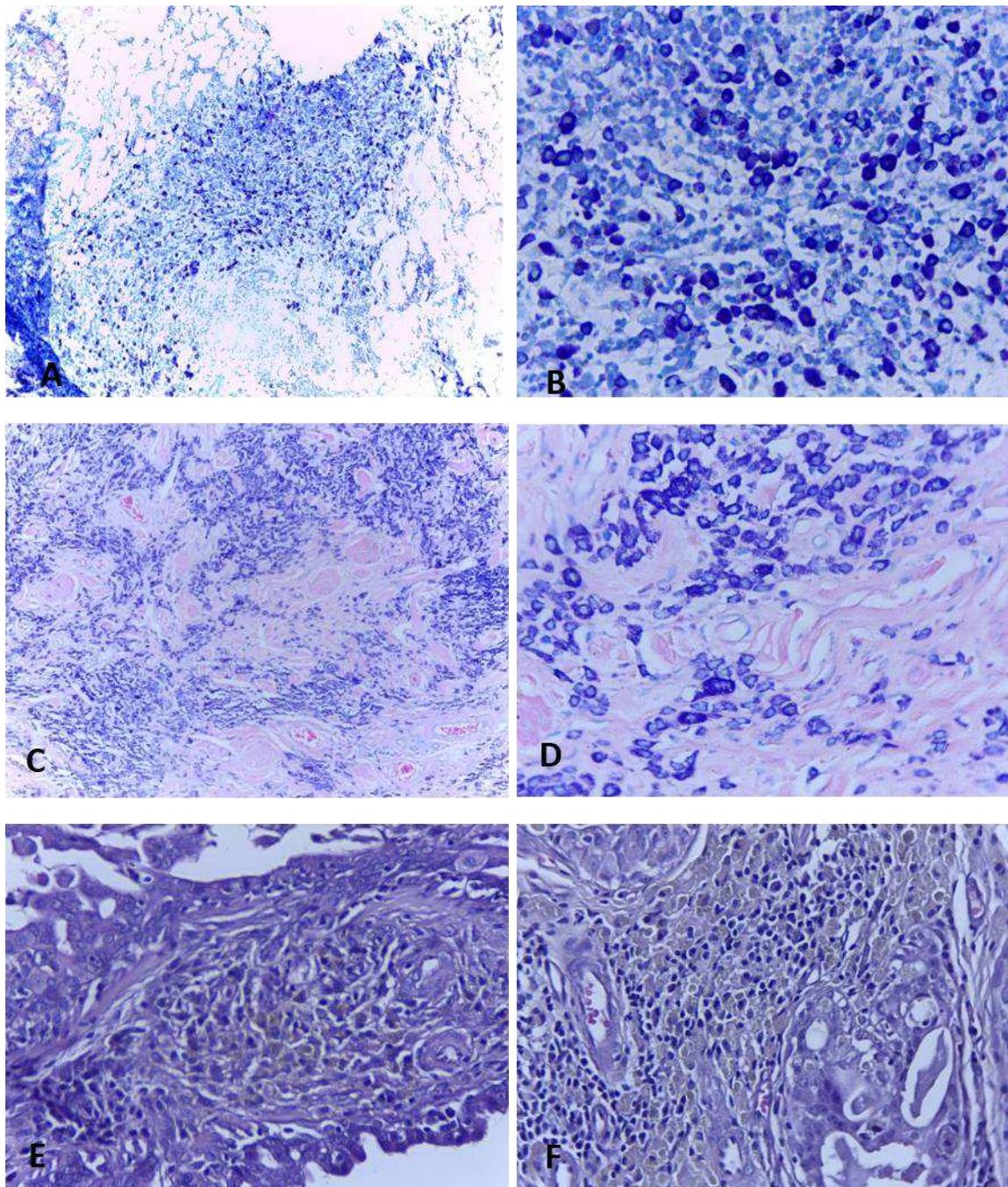
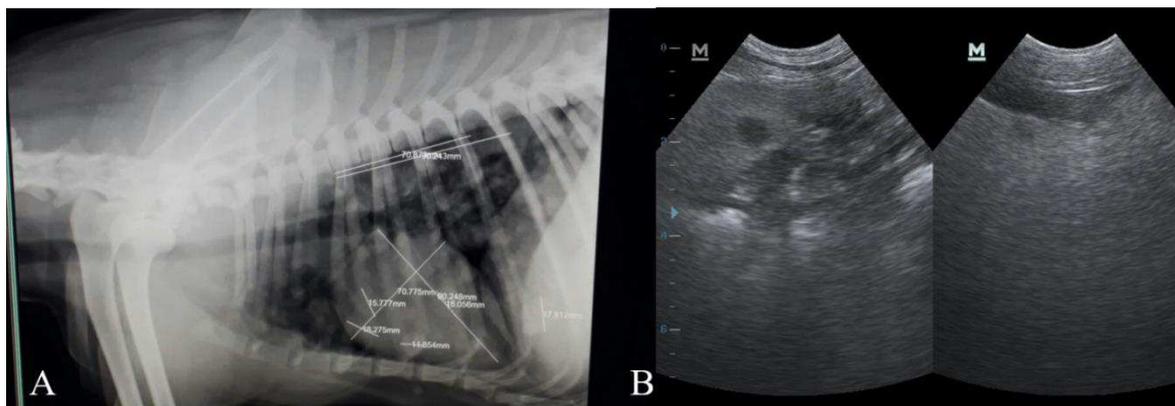


Figura 3. Imagens de lâminas histológicas coradas com Giemsa, identificando o mastocitoma. (A) Alta celularidade de mastocitoma grau I. (B) Mastócitos neoplásicos pleomórficos, organizados em grupos. As células neoplásicas são redondas, ovóides, por vezes, algumas encontram-se em forma de fuso ou células gigantes. (C) Alta celularidade em lâmina histológica de mastocitoma grau II. (D) Um padrão característico de MCTs bem diferenciados são filas ou fitas de mastócitos neoplásicos. (E) Alta celularidade em lâmina histológica de mastocitoma grau III. (F) As células neoplásicas apresentam-se pleomórficas, variando entre redondos, ovóides, por vezes, encontram-se em forma de fuso.

5.4 Exames complementares

Através de exame radiográfico, foi constatado presença de uma massa intratorácica, caracterizando padrão intersticial nodular, compatível com metástase pulmonar em 2 animais. Ao exame ultrassonográfico, somente um animal apresentou sinais ecográficos compatíveis com metástase hepática (Figura 4).



Fonte: Hospital Universitário Francisco Edilberto Uchôa Lopes - UEMA

Figura 4. Exames complementares compatíveis com metástases em cães com mastocitoma cutâneo. A – Projeção radiográfica látero-lateral esquerda em tórax, evidenciando massa intratorácica, caracterizando padrão intersticial nodular compatível com metástase pulmonar em cão, SRD, fêmea, 10 anos. B – Diagnóstico ultrassonográfico de fígado com presença de formações anecoicas circulares distribuídas pelo parênquima medindo em média 0,75 x 0,66 cm em cão da raça *Pinscher*, macho, 10 anos.

5.5 Prognóstico

Os quatro animais nos quais apresentaram sugestivo de metástase, três foram diagnosticados com grau II e um com grau III. Durante o período de acompanhamento dos animais, foram registrados um total de cinco óbitos, sendo que dois haviam sido diagnosticados com mastocitoma de grau III e os demais com grau II.

De acordo com a região corpórea acometida pela neoplasia nestes animais, apenas um foi acometido em múltiplas regiões tais como zigomática, torácica e inguinal, os outros animais apresentaram mastocitoma único em região de cabeça (em áreas da mucosa gengival), genital (principalmente testículo, no caso dos machos), região abdominal e em membro torácico direito. Em dois cães que vieram a óbito houve presença de outras formações nodulares, porém sem representatividade citopatológica.

Foi realizada excisão cirúrgica em 13 animais, apenas 02 apresentaram recidiva da doença e está sendo realizada seções quimioterápicas como forma de tratamento. Dentre estes, em 01 animal foi removido mastocitoma de grau I em região de tórax, em 11 animais foram excisados mastocitomas de grau II em região torácica, abdominal, genital e, cabeça e pescoço. E em 01 animal foram removidos dois mastocitomas em região de tórax e abdômen.

6. DISCUSSÃO

Os tumores de mastócitos ou mastocitoma é a neoplasia cutânea mais comum nos cães (JOSELEVITCH et al., 2018). Os métodos mais utilizados para o diagnóstico desse tumor incluem a citopatologia e a histopatologia.

Nesse estudo foram analisados o perfil clínico dos animais, dentre os animais acometidos, em relação ao sexo, estão os machos (55,93%), no entanto, de acordo com a literatura, não há predileção por sexo para o mastocitoma (LONDON & SEGUIN, 2003 e FURLANI, 2008). Em relação a idade, nossos achados apontam maior incidência em animais idosos (49,15%), corroborando com os achados da literatura que apontam o acometimento principalmente em animais idosos (entre 8 e 10 anos), apesar de haver casos com animais de todas as idades (LONDON & THAMM, 2013).

Os cães mais acometidos foram as sem raça definida (59,32%). A grande incidência em cães sem raça definida, provavelmente pode estar relacionada à casuística do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Maranhão, entretanto essa predominância pode não estar associada a uma maior predisposição racial, mas sim a uma preferência ou quantitativo elevado de animais sem raça definida no país (CADROBBI, 2016; SANTOS, 2017).

Quanto a localização anatômica, neste estudo as áreas mais afetadas pertencem as regiões torácica e abdominal (37,75%) seguido da região de membros (30,00%). Estas frequências corroboram com as pesquisas de Palma et al. (2009) e Santos (2017), na qual relataram, em um percentual aproximado, de 50% de mastocitomas cutâneos em região de tronco e 10% na cabeça e no pescoço. Entretanto, outros estudos (NATIVIDADE et al, 2014; CARVALHO et al, 2017) reportaram a região de membros como mais acometida, seguida de região genital, afirmando que não há um comportamento padrão associado ao desenvolvimento do mastocitoma e a região de acometimento.

Segundo Welle et al (2008), o mastocitoma apresenta-se geralmente, como nódulos únicos, contudo lesões múltiplas são relatadas em 5 a 25% dos casos. Neste estudo, 77,96% apresentavam mastocitoma único e 20,33% foram identificados com múltiplos mastocitoma.

Quanto ao aspecto das formações neoplásicas, elas variaram muito, apresentaram tanto consistência macia a firme, apresentando em alguns casos, eritema, ulceração, aderência, alopecia, vascularização e formação de edema peritumoral. Tais achados corroboram o que foi descrito por outros autores sobre o comportamento imprevisível dessa neoplasia, já que a mesma não possui um padrão definido para suas características clínicas (BLACKWOOD et al, 2012).

Neste estudo, o mastocitoma de grau II é o tumor de maior representatividade dos casos diagnosticado por exames de citologia e histopatologia com 75,00% e 83,33%, respectivamente. Os mastocitomas grau II representam a grande maioria de diagnósticos em outros estudos já realizados (DOBSON et al, 2004; TAKEUCHI et al, 2013; CARVALHO et al., 2017).

Os animais constatados com metástase foram diagnosticados com mastocitoma de grau II. Segundo Natividade et al. (2014), tumores com classificação grau II apresentam comportamento biológico variado, e apresentam de 5 a 22% de chance de causar metástase, contribuindo a um pior prognóstico. Carvalho et al. (2017), afirmam que a localização anatômica dos mastocitomas é a variável clínica que mais se relaciona com o prognóstico, pois a classificação de Kiupel, o padrão KIT e o Ki-67 são dependentes da localização. Além disso, grandes estudos relacionam tumores em cavidade oral, focinho, escroto, região inguinal e em regiões mucocutâneas com comportamento mais agressivo da doença e pior prognóstico (CARVALHO et al., 2017; LEDUR, 2015).

7. CONCLUSÃO

O maior quantitativo dos animais foi diagnosticado com mastocitoma grau II, desenvolvendo comportamento mais agressivo do tumor com presença sugestiva de metástase pulmonar, o tipo de metástase menos vista em casos de mastocitoma cutâneo. A localização anatômica das lesões foi significativa para o prognóstico dos animais, porém a ausência de tratamento foi determinante para um pior prognóstico. Do total de 70 animais atendidos no Hospital Edilberto Uchôa da UEMA, apenas 13 animais foram submetidos a excisão cirúrgica, os animais restantes não realizaram tratamento devido à falta de recurso,

negligência por parte do tutor ou mudança de atendimento para outras clínicas veterinárias. Dessa maneira, esse número poderia ser melhorado com maior conscientização do tutor em relação ao mastocitoma.

REFERÊNCIAS

BERLATO, D; MURPHY, S; MONTI, P; STEWART, J; NEWTON, J.R; FLINDALL, UM; MAGLENNON, G.A. Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and comparative oncology**, 13, n. 2, 12 mar. 2013. 143-150. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/>>. Acesso em: 16 fev. 2017.

BLACKWOOD, L; MURPHY, S; BURACCO, P; DE VOS, J. P; DE FORNEL-THIBAUD, J. P; HIRSCHBERGER, J; KESSLER, M; PASTOR, J; PONCE, F; SAVARY-BATAILLE, K; ARGYLE, D. J. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary and comparative oncology**, 10, n. 3, 07 ago. 2012. 1-29. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x>>. Acesso em: 08 fev. 2019.

BOSTOCK, D. E. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, 14, n. 1, 1973. 27- 40. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

BOSTOCK, D. E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **British Veterinary Journal**, 142, jan-fev 1986. 1-19. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/>>. Acesso em: 02 set. 2017.

CIAN, F.; FREEMAN, K. **Veterinary Cytology - Dog, Cat, Horse and Cow**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, v. 17, 2017. 220 p.

COSTA-CASAGRANDE, T. A.; ELIAS, D. S.; MELO, S. R.; MATERA, J. M. 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**, Curitiba, 13, n. 3, 06 dez 2008. 176-183. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/>>. Acesso em: 08 jul. 2017.

COUTO, C. G.; NELSON, R. W. Neoplasias selecionadas em cães e gatos. In: _____ **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier Mosby, 2006.

DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. 1ª. ed. São Paulo: Roca, 2008. 612 p.

DE NARDI, A. B; RODASKI, S; SOUSA, R. S; A, COSTA T.; MACEDO, T. R; RODIGHERI, S. M; RIOS, A; PIEKARS, C. H. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, 7, 2002 set. 2002. 15-26. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/>>. Acesso em: 07 ago. 2018.

FURLANI, J. M; DALECK, C. R; VICENTE, F. A. M; DE NARDI, A. B; PEREIRA, G. T; SANTANA, A. E; EURIDES, D; SILVA, L. A. F. Mastocitoma Canino: Estudo Retrospectivo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 242-250, jan./mar. 2008. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/>>. Acesso em: 25 jun. 2018.

GILFILLAN, A. M; TKACZYK, C. Integrated signaling pathways for mast-cell activation. **Nature Reviews Immunology**, Londres, v. 6, n. 3, p. 218-230, fev. 2006. Disponível em: <<https://www.nature.com/>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

KIERSZENBAUM, A. L. Tecidos conjuntivos. In: _____ **Histologia e biologia celular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap. 4, p. 109-144. 2ª.

KIUEP, M; WEBSTER, J.D; BAILEY, K.L; BEST, S. DELAY, J; DETRISAC, C.J; FITZGERALD, S.D; GAMBLE, D; GINN, P.E; GOLDSCHMIDT, M.H; HENDRICK, M.J; HOWERTH, E.W; JANOVITZ, E.B; LANGOHR, I; LENZ, S.D; LIPSCOMB, T.P; MILLER, M.A; MISDORP, W; MOROFF, S; MULLAN. Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary Pathology**, 48, n. 1, 09 nov. 2010. 147-155. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810386469>>. Acesso em: 06 ago. 2018.

LANORE, D; DELPRAT, C. **Quimioterapia anticancerígena**. 1ª. ed. [S.l.]: Roca, 2004. 228 p.

LAVALLE, G. E; ARAÚJO, R. B; CARNEIRO, R. A. Tratamento Clínico e Cirúrgico de Mastocitomas em cães. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, p. 06-14, set. 2003. Disponível em: <<https://ahoraveterinaria.wordpress.com>>. Acesso em: 08 out. 2017.

LIN, T. Y; BEAR, M; DU, Z; FOLEY, K. P; YING, W; BARSOUM, J; LONDON, C. The novel HSP90 inhibitor STA-9090 exhibits activity against Kit-dependente and - independent malignant mast cell tumors. **Experimental Hematology**, 36, n. 10, 26 jul. 2008. 1266-1277. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18657349>>. Acesso em: 04 fev. 2018.

LONDON, C. A. S. B. Mast cell tumors in the dog. **Vet Clin North Am Small Pract**, 33, n. 3, maio 2003. 473-489. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12852232>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

MISDORP, W. Mast cells and canine mast cell tumours. **The Veterinary quarterly**, 26, n. 4, dez. 2004. 156-169. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15663212>>. Acesso em: 04 out. 2018.

NELSON, R. W; COUTO, C. G. Neoplasias selecionadas em cães e gatos. In: _____ **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 1360.

NORTHRUP, N.C; HARMON, B.G; GIEGER, T.L; BROWN, C.A; CARMICHAEL, K. P; GARCIA, A; LATIMER, K.S; MUNDAY, J.S; RAKICH, P.M; RICHEY, L.J; STEDMAN, N.L; CHENG, A.L; HOWERTH, E.W. Variation among pathologists in histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 17, n. 3, maio 2005. 245-248. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15945380>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

PALMA, H. E; MARTINS, D. B; BASSO, P. C; AMARAL, A. S; TEIXEIRA, L. V; LOPES, S. T. A. Mastocitoma cutâneo canino: revisão. **Medvep. Revista Científica de Medicina Veterinária. Pequenos Animais e Animais de Estimação**, 7, 2009. 523-528. Disponível em: <[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/medvep-revista-cientifica-de-medicina-veterinaria-/7-\(2009\)-23/mastocitoma-cutaneo-canino-revisao/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/medvep-revista-cientifica-de-medicina-veterinaria-/7-(2009)-23/mastocitoma-cutaneo-canino-revisao/)>.

Acesso em: 23 fev. 2018.

PATNAIK, A. K; EHLER, W. J; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, 21, n. 5, 01 set. 1984. 469-474. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/>>. Acesso em: 19 dez. 2018.

POLLACK, J. M; FLANDERS, A. J; JOHNSON, C. R. Disseminated malignant mastocytoma in a dog. **The Journal of the American Animal Hospital Association**, 27, n. 4, 1991. 435-440. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/>>. Acesso em: 27 jul. 2018.

PREZIOSI, R; MORINI, M; SARLI, G. Expression of the KIT protein (CD 117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. **Jornal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 16, n. 6, 01 nov. 2004. 554-561. Disponível em: <https://journals.sagepub.com>. Acesso em: 17 fev. 2019.

RASKIN, R. E; MEYER, D. J. **Atlas of canine and feline cytology: a Color Atjas and Interpretation Guide**. 2ª. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2001.

SABATTINI, S; SCARPA, F; BERLATO, D; BETTINI, L. Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor: Is 2 Better Than 3?, 52, n. 1, 10 fev. 2014. 70-73. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

SMIECH, A; SLASKA, B; LOPUSZYNSKI, W; JASIK, A; BOCHYNSKA, D; DABROWSKI, R. Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 70, n. 1, 03 nov. 2018. 1. Disponível em: <https://actavetscand.biomedcentral.com>. Acesso em: 05 jan. 2019.

THAMM, D. H; VAIL, D. M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Withrow & MackEwen's Small animal clinical oncology**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 402-424.

TORRES NETO, R. **Mastocitoma Cutâneo Canino: aspectos clínico, citopatológico, imunocitoquímico e morfométrico**. Botucatu, 2008. 88p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. VAN LELYVELD, S; WARLAND, J; MILLER, R; MAW, H; FOALE, R; GOODFELLOW, M; DOBSON, J. Comparison between Ki-67 index and mitotic index for predicting outcome in canine mast cell tumours. **The Journal of small animall practice**, 56, n. 5, 01 maio 2015. 312-319. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/>>. Acesso em: 16 março 2018.

VAN PELT, D. R; FOWLER, J. D; LEIGHTON, F. A. Multiple Cutaneous Mast Cell Tumors in a dog: A case report and Brief Review. **La revue veterinaire canadienne**, 27, n. 7, jul. 1986. 259-263. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17422674>>. Acesso em: 03 jun. 2018.

WELLE, M. M; BLEY, C. R; HOWARD, J; RÜFENACHT, S. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. **Veterinary Dermatology**, 16, n. 9, 01 dez. 2008. 321–339. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com>>. Acesso em: 13 nov. 2018.

WITHROW, S. J; VAIL, D. M. **MacEwen's small animal clinical oncology**. 4^a. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. 846 p.