

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

**A IMPORTÂNCIA DO ESTADIAMENTO E DOS FATORES PROGNÓSTICOS NA
DEFINIÇÃO DA CONDUTA TERAPÊUTICA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO
CANINO**

Camila Jungbluth

PORTO ALEGRE

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

**A IMPORTÂNCIA DO ESTADIAMENTO E DOS FATORES PROGNÓSTICOS NA
DEFINIÇÃO DA CONDUTA TERAPÊUTICA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO
CANINO**

Autora: Camila Jungbluth

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi

Coorientadora: Dra. Luciane Cristina Vieira

PORTO ALEGRE

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Jungbluth, Camila

À importância do estadiamento e dos fatores prognósticos na definição da conduta terapêutica do mastocitoma cutâneo canino / Camila Jungbluth. -- 2021.

37 f.

Orientador: Daniel Guimarães Gerardi.

Coorientadora: Luciane Cristina Vieira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Mastocitoma cutâneo canino. 2. Oncologia veterinária. 3. Estadiamento clínico. 4. Fatores prognósticos. I. Guimarães Gerardi, Daniel, orient. II. Vieira, Luciane Cristina, coorient. III. Título.

CAMILA JUNGBLUTH

**A IMPORTÂNCIA DO ESTADIAMENTO E DOS FATORES PROGNÓSTICOS NA
DEFINIÇÃO DA CONDUTA TERAPÊUTICA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO
CANINO**

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi - UFRGS

Orientador

Dra. Luciane Cristina Vieira - UFRGS

Coorientadora

Prof. Dr. Cristiano Gomes - UFRGS

Examinador

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini - UFRGS

Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar durante as várias jornadas de minha vida. Deus tem sido maravilhosamente bom para mim.

Em segundo lugar, agradeço ao meu pai e minha mãe, pelo apoio e suporte que tenho tido ao longo da vida. À minha família, agradeço por estarem ao meu lado.

Às minhas amigas da UFRGS que ao longo dessa jornada foram essenciais nos estudos, nas conversas, tristezas, desabafos, risadas e comemorações: Maiara, Milena e Gusi. Obrigada por tornarem os dias mais leves.

A instituição UFRGS, universidade federal que tenho orgulho em fazer parte, e aos professores que me proporcionaram tanto aprendizado.

Aos meus orientadores, Daniel Gerardi e Luciane Vieira que me auxiliaram no decorrer dessa etapa tão importante para minha formação.

À Simone Bianchi e Fernando Cardoso, veterinários com quem eu aprendo na prática o exercício da ética, do respeito, da empatia e do amor para com os tutores e animais. Fica aqui a minha gratidão por terem me acolhido.

Aos veterinários plantonistas que de alguma forma agregaram na minha formação.

À clínica veterinária Bem-Estar Animal, que me deu a oportunidade inicial de realizar estágio, e onde tive meu primeiro contato com a cirurgia, área que escolhi seguir. E as clínicas Catsindoor, Synthese, SenseVet e OncoSupport que me proporcionaram tantas experiências enriquecedoras.

E obrigada aos animais. Obrigada por ensinarem o que é amor, e por darem um novo sentido a minha vida.

*O mistério da existência humana não está em
apenas se manter vivo, mas em encontrar alguma
coisa pela qual viver.*

(Dostoievski)

RESUMO

O mastocitoma (MCTc) é a neoplasia maligna cutânea mais encontrada em cães. É um tumor com apresentação clínica e comportamento biológico extremamente heterogêneos, sendo capaz de mimetizar outras neoplasias ou lesões não neoplásicas, o que dificulta seu diagnóstico. Diversos métodos têm sido estudados com o objetivo de prever o comportamento e evolução do MCTc canino. Entretanto, diante das dificuldades de se estabelecer critérios prognósticos confiáveis, torna-se importante e necessário a realização do estadiamento clínico visando auxiliar melhor a tomada de decisão acerca da conduta terapêutica. O objetivo do presente trabalho foi realizar revisão de literatura sobre a abordagem das características clínicas do MCTc, as principais técnicas diagnósticas e indicadores prognósticos. Com base em pesquisas recentes, o MCTc canino é um tumor muito presente na rotina clínica da medicina veterinária e a variabilidade de seu comportamento biológico dificulta o prognóstico. O diagnóstico definitivo é realizado por exame histopatológico associando os dois sistemas de classificação de MCTc, Patnaik (grau I, II e III) e Kiupel (baixo e alto grau). A presença de metástase a distância é um fator prognóstico negativo, sendo os sítios mais acometidos, além dos linfonodos, baço, fígado e medula óssea. Fatores prognósticos devem ser utilizados como métodos adicionais, em associação ao estadiamento clínico, especialmente nos casos de grau intermediário. Médicos veterinários oncologistas e patologistas devem trabalhar em colaboração para garantir o melhor tratamento possível dos cães afetados.

Palavras-chave: Comportamento biológico. Mastocitoma cutâneo canino. Neoplasia. Prognóstico.

ABSTRACT

Mast cell tumor (cMCT) is the most common malignant skin neoplasm found in dogs. It is a tumor with extremely heterogeneous clinical presentation and biological behavior, being able to mimic other neoplasms or non-neoplastic lesions, which makes its diagnosis difficult. Several methods have been studied with the aim of predicting the behavior and evolution of canine cMCT. However, given the difficulties of establishing reliable prognostic criteria, it is important and necessary to carry out clinical staging in order to better assist decision-making about the therapeutic approach. The objective of the present work was to carry out a literature review on the approach to the clinical characteristics of the cMCT, the main diagnostic techniques and prognostic indicators. Based on recent researches, canine cMCT is a tumor that is very present in the clinical routine of veterinary medicine and the variability of its biological behavior makes the prognosis difficult. The definitive diagnosis is made by histopathological examination associating the two classification systems of cMCT, Patnaik (grade I, II and III) and Kiupel (low and high grade). The presence of distant metastasis is a negative prognostic factor, being the most affected sites, in addition to lymph nodes, spleen, liver and bone marrow. Prognostic factors should be used as additional methods, in association with clinical staging, especially in cases of intermediate grade. Veterinary oncologists and pathologists must work collaboratively to ensure the best possible treatment for affected dogs.

Keywords: *Biological behavior. Canine cutaneous mast cell tumor. Neoplasia. Prognosis.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotomicrografia de diferentes graus de mastocitoma em esfregaço citológico.....	16
Figura 2 – Fotomicrografia de diferentes graus de mastocitoma.....	18
Figura 3 – Diagrama da drenagem linfática.....	26
Figura 4 – Ciclo celular e os métodos de avaliação que refletem a fração de crescimento: ki-67, PCNA e índice mitótico.....	28
Figura 5 – Imuno-histoquímica de cortes de MCTc canino.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema de classificação histológica proposto por Patnaik, Ehler e MacEwen (1984).....	17
Tabela 2 – Sistema de classificação histológica proposto por Kiupel <i>et al.</i> (2011).....	19
Tabela 3 – Sistema de estadiamento clínico para mastocitoma cutâneo canino da OMS	21
Tabela 4 – Estadiamento clínico para mastocitoma cutâneo canino.....	22
Tabela 5 – Proposta de emenda ao sistema de estadiamento clínico para mastocitoma cutâneo e subcutâneo canino da OMS.....	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 INCIDÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA.....	13
3 ETIOPATOGENIA.....	14
4 APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	15
5 DIAGNÓSTICO.....	16
5.1 Avaliação citológica.....	16
5.2 Avaliação histológica.....	17
5.3 Avaliação imuno-histoquímica.....	20
6 ESTADIAMENTO CLÍNICO.....	21
6.1 Exames laboratoriais de rotina.....	22
6.2 Múltiplos nódulos.....	23
6.3 Localização.....	23
6.4 Avaliação de margem cirúrgica.....	24
6.5 Avaliação de metástase em linfonodo sentinela.....	24
6.6 Avaliação de metástase a distância.....	26
6.6.1 Ultrassonografia abdominal.....	26
6.6.2 Radiografia torácica.....	27
7 FATORES PROGNÓSTICOS.....	28
7.1 Marcadores de proliferação celular.....	28
7.1.1 Contagem mitótica.....	29
7.1.2 Ki-67.....	30
7.2 Marcadores moleculares.....	30
7.2.1 Mutação do gene <i>c-kit</i>	31
7.2.2 Padrão de expressão anormal do KIT.....	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

Mastocitoma cutâneo (MCTc) é uma proliferação descontrolada de mastócitos. É considerado o tumor de pele mais comum em cães e representa entre 16% e 21% de todas as neoplasias cutâneas nessa espécie (LONDON; THAMM, 2012; WILLMANN *et al.*, 2019).

A grande maioria dos MCTc em cães ocorre na derme e no tecido subcutâneo. A apresentação mais comum é como nódulo único, embora 11% a 14% dos cães possam exibir múltiplas lesões (LONDON; THAMM, 2012).

A etiologia do MCTc canino ainda não está completamente esclarecida, entretanto, já foi associada a lesões inflamatórias crônicas ou a aplicação de substâncias irritantes na pele (LONDON; THAMM, 2012). Durante as últimas décadas, estudiosos têm se dedicado em descobrir a patogênese e os mecanismos moleculares que envolvem a evolução e progressão da doença (WILLMANN *et al.*, 2019). Sugere-se que mutações no proto-oncogene *c-kit* tenha contribuição importante na origem da neoplasia ao causar a desregulação da função do KIT, culminando na proliferação descontrolada de mastócitos neoplásicos (LONDON *et al.*, 1999).

O MCTc canino possui uma apresentação clínica heterogênea, e por vezes é confundido com outros tumores cutâneos ou lesões não neoplásicas. MCTc bem diferenciado tende a se apresentar como nódulo solitário, pequeno, de crescimento lento, com comportamento menos agressivo e que pode ser tratado por meio de remoção cirúrgica completa. Sua forma pouco diferenciada é de rápido crescimento, com tendência a ulcerar, e possui capacidade de fazer metástases para linfonodos regionais e órgãos viscerais (LONDON; THAMM, 2012). Os mastócitos neoplásicos podem desgranular em decorrência a diferentes estímulos e resulta na síndrome paraneoplásica, caracterizada por retardo da cicatrização, hemorragia local e ulceração gastrointestinal (WELLE *et al.*, 2008).

A graduação histológica é utilizada como ferramenta diagnóstica e é considerada um indicador de prognóstico. Sua aplicabilidade inclui apenas o MCTc e não o MCT subcutâneo (KIUPEL; CAMUS, 2019). Dois diferentes sistemas de classificação foram propostos: o primeiro foi de Patnaik (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984) que considera 3 graduações (graus I, II e III) e posteriormente Kiupel (KIUPEL *et al.*, 2011) o qual sugeriu dois níveis (baixo e alto grau) (LONDON; SEGUIN, 2003; HORTA *et al.*, 2018). Os dois sistemas de graduações tem limitações, principalmente ao determinar o comportamento biológico de alguns tumores (MOORE *et al.*, 2020).

O estadiamento clínico tem o objetivo de avaliar a extensão da doença e é fundamental para que o médico veterinário possa determinar o prognóstico e a terapêutica mais adequada para o paciente (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016). Ainda não existe um fator preditivo isolado do comportamento biológico do MCTc e, diante da sua extrema variabilidade, se faz necessária maior compreensão da utilização de exames complementares para que seja possível a identificação e diferenciação de MCTc agressivos que assim resultarão em condutas terapêuticas assertivas e melhores desfechos aos pacientes (WELLE *et al.*, 2008; LONDON; THAMM, 2012). A presente revisão de literatura tem como objetivo abordar os principais aspectos relacionados ao estadiamento clínico, técnicas diagnósticas e indicadores prognósticos do MCTc canino, com base em recentes pesquisas que se propõem avaliar e definir seu comportamento biológico e o impacto no prognóstico do paciente.

2 INCIDÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA

Verificou-se que existe predisposição racial para o desenvolvimento do MCTc em cães, o que sugere a presença de um componente genético (ŞMIECH *et al.*, 2018). Embora todas as raças de cães, assim como os mestiços possam ser afetadas, é notável que alguns cães com *pedigrees* parecem estar em maior risco a desenvolver certos tipos de tumores, o qual designa também um caráter de suscetibilidade ao tumor (DOBSON, 2013).

O maior risco de surgimento da neoplasia parece ser em cães descendentes de buldogues (Boxer, Boston Terrier, Buldogue Francês e Buldogue Inglês), Labrador, Golden Retriever, Schnauzers e Shar-Pei. Também foi relatado que o fator racial pode influenciar no comportamento biológico do MCTc. Cães da raça Boxer e Pug tendem a apresentar tumores de baixo grau, com prognóstico favorável, por outro lado, a raça Shar-Pei, particularmente os cães mais jovens, possuem predisposição a desenvolverem frequentemente MCTc pouco diferenciados (grau III), e com comportamento biológico agressivo (LONDON; SEGUIN, 2003; BLACKWOOD *et al.*, 2012; ŞMIECH *et al.*, 2018).

A idade do paciente é um fator que pode influenciar o aparecimento do tumor. A incidência do MCTc aumenta com a idade, com média de aproximadamente 8-9 anos, embora tenha relatos em cães de todas as idades (LONDON; SEGUIN, 2003).

Ao que se pode observar, não há relatos de predisposição sexual para ocorrência de MCTc em cães (LONDON; SEGUIN, 2003; BLACKWOOD *et al.*, 2012).

3 ETIOPATOGENIA

A etiologia do MCTc nos cães ainda é desconhecida. Diante do aumento da incidência em certas raças sugere-se a possibilidade da influência de fator genético. Do ponto de vista molecular, estudos apontam que a mutação no gene *c-kit* possa estar envolvida na evolução e progressão do MCTc canino. *C-kit* é um proto-oncogene que codifica o receptor KIT, um receptor de tirosina-quinase que normalmente está presente em uma variedade de células, incluindo células tronco, melanócitos, mastócitos entre outras. A sua ativação depende da ligação entre receptor e fator de células tronco (*stem cell factor* - SCF), essa interação desencadeia uma sinalização responsável pela diferenciação, maturação e proliferação de mastócitos normais. A mutação no gene *c-kit* leva a ativação do receptor KIT, mesmo na ausência do SCF. O mau funcionamento do KIT resulta com uma sinalização persistente que leva a proliferação descontrolada de mastócitos e ao desenvolvimento da neoplasia (LONDON *et al.*, 1999; LONDON; SEGUIN, 2003; LONDON; THAMM, 2012). Downing *et al.* (2002) sugerem que esta mutação possa estar presente em 35% dos MCTc canino de grau II e III, e está relacionado com o aumento do risco de recidiva local, metástase e pior prognóstico.

4 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A neoplasia cutânea pode se desenvolver em qualquer parte do corpo do animal, embora seja mais comum no tronco (50-60%) e nos membros (25-40%) e menos comumente na cabeça e no pescoço (10%) (LONDON; THAMM, 2012).

Clinicamente o MCTc canino pode se assemelhar a diversas lesões de pele e não apresenta uma aparência específica e, muitas vezes é diagnosticado erroneamente como outros tumores cutâneos ou nódulos não neoplásicos. Pode ocorrer na forma de um nódulo solitário ou múltiplos nódulos na derme e pode se estender ou não a epiderme (LONDON; THAMM, 2012; WELLE *et al.*, 2008). De modo geral, MCTc bem diferenciados costumam ser solitários, pequenos e de crescimento lento; já MCTc indiferenciados tendem a ser ulcerados, de maior tamanho e de crescimento rápido (LONDON; THAMM, 2012).

O paciente pode manifestar uma série de sinais clínicos que são atribuídos à síndrome paraneoplásica. Esses sinais podem ser manifestações locais ou sistêmicas, e são ocasionados pela desgranulação de constituintes bioativos presentes nos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos neoplásicos, principalmente substâncias como heparina, histamina e outras aminas vasoativas que são liberadas na corrente sanguínea espontaneamente ou pela manipulação do tumor. Essas substâncias são liberadas na corrente sanguínea de forma espontânea ou pela manipulação do tumor. Também estão presentes nos processos inflamatórios, alérgicos e de hipersensibilidade e resultam em características como edema, eritema, pápulas, prurido e alteração no tamanho, também conhecido como sinal de *Darier* (WELLE *et al.*, 2008; LONDON; THAMM, 2012; NELSON; COUTO, 2015). Além disso, a liberação de histamina pode causar efeito sistêmico e gerar úlceras gastrointestinais, principalmente nos casos de recidiva e metástase e pode evoluir para perfuração intestinal e peritonite (HOWARD *et al.*, 1969; LONDON; THAMM, 2012). O atraso na cicatrização no local da remoção do tumor é causado pela liberação de enzimas proteolíticas e aminas vasoativas por células neoplásicas e acarreta na redução da fibroplasia. A liberação de histamina pode provocar deiscência de sutura (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

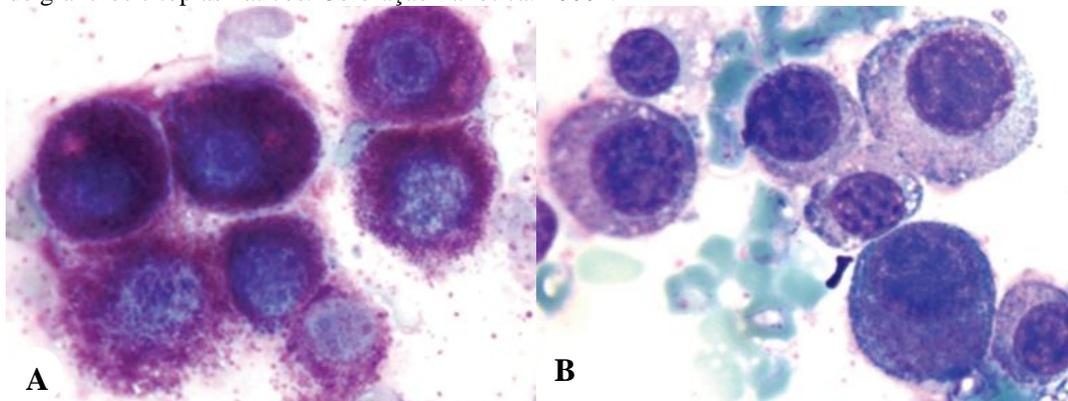
5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do MCTc canino é estabelecido por meio de exames citológico e histológico, associados aos sinais clínicos. A técnica de imuno-histoquímica também é uma ferramenta utilizada no diagnóstico do MCTc, particularmente nos casos de mastocitomas indiferenciados (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

5.1 Avaliação citológica

O diagnóstico citológico por meio de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é considerado um dos métodos menos invasivo e consistente. Baseia-se na identificação dos característicos grânulos intracitoplasmáticos arroxeados e nas características citomorfológicas (figura 1). Embora o azul de toluidina seja considerado o melhor método de coloração para a mostrar a presença dos grânulos de mastócitos, o diagnóstico citológico do MCTc pode ser realizado com corantes metanólicos de Romanowsky (May Grünwald-Giemsa [MGG] e Wright). Devido ao aumento da realização do exame citológico na rotina clínica, houve a necessidade de simplificar e reduzir ainda mais o tempo dos procedimentos, o que levou a disseminação de corantes aquosos rápidos tipo Romanowsky que costumam levar alguns minutos para visualização da amostra citológica. Em poucos casos, essa coloração pode ser ineficaz na identificação de grânulos de mastócitos, particularmente em tumores de alto grau, tornando o diagnóstico mais subjetivo ao depender da experiência do patologista e da qualidade das amostras (SABATTINI *et al.*, 2018).

Figura 1 – Fotomicrografia de diferentes graus de mastocitoma em esfregaço citológico. (A) Mastocitoma bem diferenciado mostrando abundante grânulos citoplasmáticos. (B) Mastocitoma pouco diferenciado, mostrando escassez de grânulos citoplasmáticos. Coloração Panóptica. 1000x.



Fonte: adaptado de Strefezzi *et al.* (2009, p. 112).

O exame citológico fornece um diagnóstico, mas não fornece a graduação do tumor, portanto é indicado apenas como um diagnóstico de triagem e auxilia no planejamento da

margem cirúrgica. Para o diagnóstico definitivo o exame histológico é necessário, e permite a graduação precisa do MCTc (BLACKWOOD *et al.*, 2012; DE NARDI *et al.*, 2018).

5.2 Avaliação histológica

A avaliação histológica é realizada por exame de biópsia e pode ser incisional, isto é, coleta de uma amostra da massa, sem removê-la completamente, ou excisional quando a massa é removida por completo e, se possível, com ampla margem cirúrgica (BLACKWOOD *et al.*, 2012).

Historicamente a graduação histológica do MCTc canino tem sido utilizada como fator prognóstico e está fortemente correlacionada com a sobrevida (LONDON; SEGUIN, 2003).

Há décadas, médicos veterinários têm utilizado a classificação proposta por Patnaik e colaboradores de 1984. Neste estudo, os autores dividiram as neoplasias em três graduações considerando características histomorfológicas (tabela 1, figura 2). Esta metodologia correlaciona o tempo de sobrevida com o grau de diferenciação celular: o grau I é a forma menos agressiva e tem, portanto, melhor prognóstico; o grau III é considerado a forma mais agressiva da doença e com pior prognóstico.

Tabela 1 – Sistema de classificação histológica proposto por Patnaik, Ehler e MacEwen (1984).
Graduação histológica

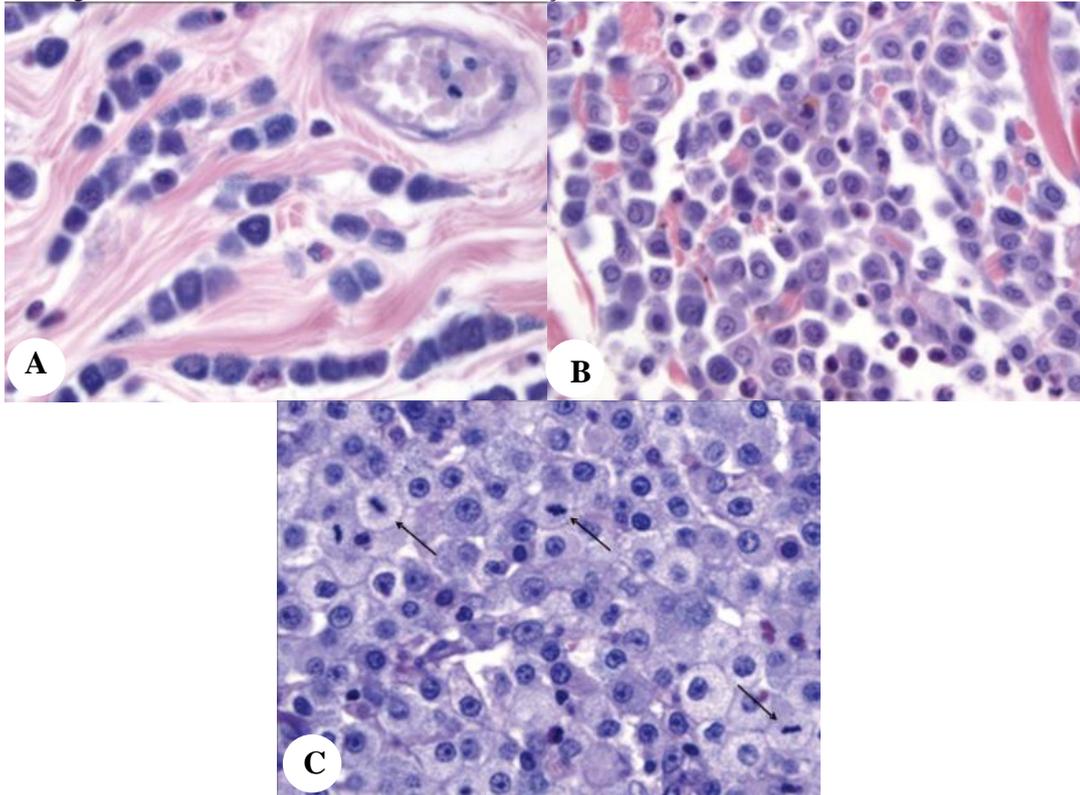
	I (baixo)	II (intermediário)	III (alto)
Localização	Derme e espaços interfoliculares	Infiltração em derme e/ou tecido subcutâneo, podendo se estender em músculos e tecidos adjacentes	Infiltração em subcutâneo e tecidos adjacentes
Morfologia celular	Redondos, com grânulos intracitoplasmáticos de tamanho médio	Redondos à ovoides, moderado pleomorfismo, com grânulos intracitoplasmáticos mais grosseiros	Pleomórficos, de tamanho médio, grânulos intracitoplasmáticos finos ou sem grânulos, células gigantes e multinucleadas
Morfologia nuclear	Núcleos redondos, cromatina densa	Núcleos redondos a indentados, cromatina difusa, nucléolos únicos	Núcleos vesiculosos, indentados a redondos, com um ou mais nucléolos proeminentes
Arquitetura, celularidade, reação estromal	Arranjados em cordões ou pequenos grupos, baixa celularidade, separados por fibras de colágenos madura e	Arranjadas em grupos com um estroma fibrovascular delicado, moderada a alta celularidade	Arranjadas em grupos compactos, estroma fibrovascular com áreas de hialinização, alta celularidade
Figuras de mitose	Ausente	Raras (0-2/CMA)	Comum (3-6/CMA)
Necrose e edema	Mínimo	Área difusa de edema e necrose	Comum, edema, hemorragia e necrose

Abreviação: CMA, campo de maior aumento.

Fonte: adaptado de Avallone *et al.* (2021, p. 6).

De acordo com os mesmos autores, em relação ao tempo de sobrevida, 93% dos cães que apresentaram MCTc grau I sobreviveram mais que 1.500 dias em comparação com 44% dos MCTc grau II e 6% dos MCTc grau III.

Figura 2 – Fotomicrografia de diferentes graus de mastocitoma. (A) Mastocitoma grau I (bem diferenciado). Baixa celularidade, células arranjadas em fileiras ou em pequenos grupos, com citoplasma repleto de grânulos e núcleos redondos. (B) Mastocitoma grau II (moderadamente diferenciado). Moderado a alta celularidade, células arranjadas em grupos, grânulos não são evidentes em algumas células neoplásicas. (C) Mastocitoma grau III (pouco diferenciado). Alta celularidade, células arranjadas em grupos compactos, grânulos são finos ou não evidentes. Figuras de mitoses são comuns (setas). Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). 400x.



Fonte: adaptado de Strefezzi *et al.* (2009, p. 114).

Entretanto, alguns autores como Northrup *et al.* (2005) e Kiupel *et al.* (2011) fizeram críticas à classificação de Patnaik e colaboradores de 1984. Foi verificado uma grande variação interobservador na graduação histológica, ou seja, diferentes patologistas classificavam o mesmo tumor com graduação distinta. O nível de concordância demonstrado no estudo de Northrup *et al.* (2005) foi de 27% entre 10 patologistas, e 3 tumores foram classificados com as três graduações. A hipótese de que possa ocorrer discordância intraobservador, foi levantada pelos autores, isto é, o mesmo patologista classifica em dois momentos o mesmo tumor com graus diferentes. As variações possivelmente ocorrem por se tratar de um sistema de classificação com critérios subjetivos, os quais diminuem a clareza e reprodutibilidade do método. Outro ponto observado foi a alta predominância do grau II, o que gera dificuldade e incerteza em determinar o comportamento biológico da neoplasia e o prognóstico desses pacientes.

A partir de então, uma nova proposta de classificação foi sugerida. Kiupel *et al.* (2011) dividiram os MCTc canino em dois graus a fim de eliminar a ambiguidade gerada pelo grau intermediário. A metodologia consiste em classificar os MCTc em baixo e alto grau, conforme critérios da tabela 2.

Tabela 2 – Sistema de classificação histológica proposto por Kiupel *et al.* (2011).

Alto grau se apresentar qualquer um dos seguintes critérios:	
Figura de mitose (10 CMA)	≥ 7
Células multinucleadas	≥ 3
Núcleos bizarros (altamente atípicos, com endentações, segmentação e forma irregular; 10 CMA)	≥ 3
Cariomegalia (diâmetros nucleares variando em pelo menos o dobro do volume de pelo menos 10% das células neoplásicas)	
Baixo grau	Se não for classificado como alto grau

Abreviação: CMA, campo de maior aumento.

Fonte: adaptado de Avallone *et al.* (2021, p.6).

Segundo os mesmos autores, os MCTc de alto grau são significativamente associados a um menor tempo de sobrevida, rápido desenvolvimento de metástases ou ao surgimento de um novo tumor. O tempo médio de sobrevida para MCTc de alto grau foi menor do que quatro meses e para MCTc de baixo grau foi maior do que dois anos.

O sistema proposto por Kiupel *et al.* (2011) foi elaborado para diminuir a subjetividade e resolver as inconsistências da classificação de Patnaik (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). Por mais que o novo sistema de classificação, inicialmente, tenha identificado melhor os cães com prognóstico ruim, o estudo é baseado em um pequeno número de cães e não considerou outros fatores, como a extensão da doença nesses cães (MOORE *et al.*, 2020). Por essas razões, a aplicação dos dois sistemas de classificação devem ser feitos rotineiramente até que novos estudos de validação possam escolher apenas um deles (SABATTINI *et al.*, 2015) e, a associação dos dois sistemas de graduação histológica deve ser considerada, pois adiciona descrições importantes para avaliar o comportamento do MCTc canino (AVALLONE *et al.*, 2021).

Embora os MCTc canino classificados em grau I e II de Patnaik (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984) e baixo grau de Kiupel (KIUPEL *et al.*, 2011) exibam baixo potencial para comportamento agressivo, Bae *et al.* (2020) realizaram uma revisão sistemática e metanálise e constataram que dos 121 cães classificados com MCTc de baixo grau, 99 apresentavam metástase em linfonodo regional com 637 dias de tempo médio de sobrevida, enquanto 22 cães estavam acometidos com metástase a distância e tiveram 194 dias de tempo médio de sobrevida, o que caracterizou um comportamento biológico agressivo.

Por outro lado, Moore *et al.* (2020) avaliaram cães com MCTc classificados em alto grau de Kiupel (KIUPEL *et al.*, 2011) e tratados com remoção cirúrgica. O estudo demonstrou

tempo médio de sobrevida de 1.046 dias, bem como taxa de sobrevida para 1 ano de 79% e para 2 anos de 73%. Esses resultados sugerem que cães com MCTc de alto grau podem ter boa sobrevida, especificamente aqueles com controle cirúrgico local adequado, único nódulo, de menor tamanho e baixo índice mitótico.

Frente a esses casos onde o MCTc possui tanta variabilidade de comportamento biológico, Moore *et al.* (2020) destacam a importância de não utilizar apenas a graduação histológica na determinação do prognóstico e sugere que o uso de informações do estadiamento clínico podem ser tão úteis quanto a graduação histológica.

5.3 Avaliação imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica é uma técnica que pode auxiliar na confirmação diagnóstica de MCTc indiferenciados, após o diagnóstico morfológico realizado pelo exame histológico. Ademais, é considerado um exame complementar responsável por fornecer informações adicionais acerca de fatores prognósticos, ao avaliar a expressão de proteínas que podem indicar comportamento biológico agressivo, como a proteína nuclear ki-67, e da terapêutica do paciente, ao avaliar a expressão de proteínas ligadas à resposta à determinados tratamentos, como por exemplo o padrão de expressão do KIT (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

A técnica permite a localização e visualização do antígeno específico no tecido, em cortes histológicos, a partir do emprego de anticorpos primários. A visualização microscópica da reação antígeno-anticorpo é possível através da utilização de cromógeno que revela a coloração (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

6 ESTADIAMENTO CLÍNICO

O estadiamento clínico tem por objetivo analisar a extensão da doença no sítio primário e também à distância, incluindo o estado geral do paciente, já que doenças concomitantes são comuns em pacientes geriátricos. É um processo que envolve todas as características clínicas, patológicas, moleculares da neoplasia e consiste em determinar o impacto total do câncer no paciente (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

O MCTc canino tem grande capacidade de desenvolver metástases a distância, os principais locais são: linfonodos, baço, fígado e medula óssea. Todos os pacientes acometidos devem ser submetidos ao estadiamento clínico, o qual envolve a realização de exames laboratoriais de rotina, classificação histológica, análise de margem cirúrgica, avaliação de linfonodo sentinela e de metástase à distância. A inclusão de fatores prognósticos como marcadores de proliferação celular e marcadores moleculares devem ser considerados, haja visto a variabilidade do comportamento biológico do MCTc. A partir da análise dos dados do paciente é possível determinar o prognóstico e definir a melhor terapêutica (LONDON; SEGUIN, 2003; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016; BERLATO *et al.*, 2021).

O estadiamento clínico estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) denominado de sistema TNM de classificação de tumores malignos (tabela 3), baseia-se na avaliação de três componentes: T – a extensão do tumor primário; N – a condição dos linfonodos regionais; M – metástases à distância (OWEN, 1980).

Tabela 3 – Sistema de estadiamento clínico para mastocitoma canino da OMS.

Estádio	Descrição
I	Tumor único confinado a derme, sem envolvimento do linfonodo regional
II	Tumor único confinado a derme, com envolvimento do linfonodo regional
III	Tumores múltiplos dérmicos ou tumor largamente infiltrativo, com ou sem envolvimento do linfonodo regional
IV	Qualquer tumor com metástase a distância ou recorrência com metástases, incluindo envolvimento sanguíneo ou de medula óssea.

*Cada estágio é subdividido em: (a) sem sinais de doença sistêmica e (b) com sinais de doença sistêmica. Fonte: adaptado de Owen (1980).

Diante das discussões geradas pela classificação proposta pela OMS, principalmente para o prognóstico do estágio III, em 2008, durante o 1º Encontro Mundial de Oncologia Veterinária (ESVONC/VCS), em Copenhague, foi proposto um novo sistema de estadiamento clínico para o MCTc em cães (tabela 4) (BLACKWOOD *et al.*, 2012; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

Tabela 4 – Estadiamento clínico para mastocitoma cutâneo canino.

Estádio	Tumor	Linfonodo regional	Metástase
I	Único, < 3 cm, bem circunscrito	-	-
II	+1 nódulo, < 3 cm, com distância interlesional > 10 cm, bem circunscrito	-	-
III	1 ou +, > 3 cm, com distância interlesional < 10 cm, mal circunscrito ou ulcerado	-	-
IV	Qualquer tipo lesional	+	-
V	Qualquer tipo lesional	- ou +	+

Fonte: adaptado de Daleck; Rocha; Ferreira (2016).

Apesar de ambos os sistemas de estadiamento propostos permitirem a avaliação da extensão da doença, ainda requerem melhoramento. A literatura tem debatido a respeito do verdadeiro impacto dos estádios II e III e se depara com a dificuldade do diagnóstico de metástase linfonodal e de que a presença de múltiplos tumores pode não determinar um pior prognóstico para o paciente, especialmente quando não há envolvimento do linfonodo (O'CONNELL; THOMSON, 2011; HORTA *et al.*, 2018). Afim de propor uma melhor definição destes estádios clínicos, Horta *et al.* (2018) sugeriram uma emenda ao sistema proposto pela OMS com uma divisão em 5 níveis (tabela 5), com base no risco de recorrência ou metástase do MCTc canino. Pacientes com múltiplos nódulos e sem envolvimento do linfonodo regional costumam ter melhor prognóstico do que aqueles com único nódulo e acometimento linfonodal; pacientes com tumor largamente infiltrativo ou com múltiplos nódulos com envolvimento linfonodal permanecem com pior prognóstico.

Tabela 5 – Proposta de emenda ao sistema de estadiamento clínico para mastocitoma cutâneo e subcutâneo canino da OMS.

Estádio	Descrição
I	Tumor único, sem envolvimento do linfonodo regional
II	Múltiplos tumores (≥ 3), sem o envolvimento do linfonodo regional
III	Tumor único, com envolvimento do linfonodo regional
IV	Tumor largamente infiltrativo sem delimitação, ou múltiplos tumores (≥ 3) com envolvimento do linfonodo regional
V	Qualquer tumor com metástase à distância, incluindo medula óssea e a presença de mastócitos em sangue periférico

Fonte: adaptado de Horta *et al.* (2018).

6.1 Exames laboratoriais de rotina

Hemograma completo, perfil bioquímico e urinálise devem ser incluídos na avaliação de qualquer paciente com suspeita de neoplasia. No MCTc canino o hemograma completo pode revelar leucocitose eosinofílica causada pela liberação de fatores quimiotáticos, principalmente a interleucina 5 (IL-5), produzidos pelos mastócitos neoplásicos; e anemia ocasionada pela ruptura de úlcera gastrointestinal. Essas alterações são secundárias à

síndrome paraneoplásica (LONDON; SEGUIN, 2003; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

6.2 Múltiplos nódulos

Ainda não está claro se a presença de múltiplos tumores representam uma forma atípica de metástase ou se são independentes e não estão correlacionados (KIUPEL *et al.*, 2005; LONDON; THAMM, 2012). Outra questão que não está compreendida é se essa forma da doença pode apresentar pior prognóstico se comparado a pacientes que apresentam um único nódulo. Diferentes estudos foram realizados a fim de verificar essa correlação. Na publicação de Kiupel *et al.* (2005) verificaram que cães que apresentavam múltiplos tumores no momento do diagnóstico e que foram tratados somente cirurgicamente tiveram pior prognóstico. Por outro lado, Séguin *et al.* (2001) demonstraram que não há evidências de pior prognóstico e O'Connell e Thompson (2013) sugerem que todos os MCTc múltiplos devem ser tratados como neoplasias individuais, sendo que o prognóstico deve ser dependente da graduação dos tumores, e não relacionado ao número de tumores presentes, concluindo então que não possuem relação com o tempo de sobrevida.

6.3 Localização

Não há um consenso entre os autores de que a localização do tumor possa afetar o prognóstico. Estudos anteriores na atribuíam comportamento mais agressivo aos mastocitomas de região prepucial/inguinal, e outras áreas muco cutâneas, incluindo cavidade oral e períneo (LONDON; THAMM, 2012).

Kiupel *et al.* (2005) investigaram o valor prognóstico da localização de MCTc removidos cirurgicamente em cães e verificaram que não houve associação significativa entre a localização tumoral e o tempo de sobrevida. Da mesma forma, Sfiligoi *et al.* (2005) sugerem que o prognóstico para cães com MCTc na região inguinal ou perineal pode ser comparável ao prognóstico para cães com MCTc em outras localizações cutâneas. Por outro lado, Blackwood *et al.* (2012) destacam que o pior prognóstico nesses locais pode ser devido à dificuldade de se realizar remoção cirúrgica completa devido ao difícil acesso, possibilitando recidiva local.

6.4 Avaliação de margem cirúrgica

A avaliação histológica das margens cirúrgicas em tumores localmente invasivos é um fator prognóstico para cães. O processo se baseia na identificação fenotípica microscópica de células neoplásicas em relação a uma margem cirúrgica histologicamente definida (MILOVANCEV; RUSSELL, 2017).

A remoção cirúrgica com margens amplas é indicada para todos os MCTc. A obtenção de margem de segurança adequada é desejada com o objetivo de evitar a recidiva do tumor, já que a maioria dos MCTc tende a se estender microscopicamente além das bordas palpáveis. Recomenda-se, sempre que possível, realizar a excisão cirúrgica respeitando uma margem de 3cm em todas as direções e pelo menos um plano (fáscia) profundo, não comprometido, permitindo assim a remoção do tumor em bloco. A inflamação e/ou edema peritumoral e a localização do tumor, frequentemente se apresentam como um desafio ao planejamento da excisão cirúrgica, especialmente em grandes massas tumorais. Tumores localizados na face e em região distal de membros são áreas de difícil obtenção de margens profunda e de limitação de pele. A cirurgia reconstrutiva, nesses casos, é muitas vezes necessária, além de ser uma alternativa à amputação, caracterizada como uma abordagem mais agressiva, e que pode comprometer a qualidade de vida e o bem-estar do paciente (BLACKWOOD *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

A obtenção de margens livres do tumor no exame histopatológico não descarta a possibilidade de recorrência da neoplasia, principalmente no que se refere aos MCTc de graus II, III e alto grau (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

6.5 Avaliação de metástase em linfonodo sentinela

O linfonodo sentinela é o primeiro linfonodo, dentro de uma cadeia linfática, a receber a drenagem proveniente do tumor primário (TUOHY *et al.*, 2009) A presença ou ausência de células tumorais no linfonodo sentinela indica a disseminação do tumor, que é analisada por meio da histopatologia. O mapeamento do linfonodo sentinela é muito utilizado na medicina humana, e também pode ser empregada na medicina veterinária.

A metástase em linfonodo é um indicador de prognóstico desfavorável bem conhecido, e tem sido correlacionada com menor tempo de sobrevivência, alto risco de disseminação para diferentes locais, implicando ainda na necessidade do uso de terapia adjuvante (FERRARI *et*

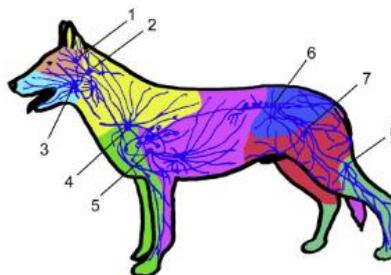
al., 2018). A detecção precoce de uma metástase linfonodal é crucial para determinar o estadiamento e prognóstico do paciente.

Weishaar *et al.* (2014) propuseram um sistema de classificação com objetivo de padronizar um critério histológico que defina a metástase de MCTc em linfonodo. A classificação se baseia no número e distribuição de mastócitos e ruptura arquitetônica do linfonodo e foi dividida em HN0 (não metastático); HN1 (pré metastático); HN2 (metástase precoce); e HN3 (metástase evidente). Os resultados deste estudo indicaram que a classificação histológica dos linfonodos acometidos com mastócitos neoplásicos se correlacionou com o desfecho clínico do paciente. Nos casos em que os linfonodos tiveram maior número de células neoplásicas e maior extensão do envolvimento linfonodal houve redução de tempo livre de doença e sobrevida global em comparação aqueles linfonodos que tiveram menor acometimento neoplásico. Também foi demonstrado que essa proposta de classificação possui valor prognóstico onde casos classificados em HN0/HN1 obtiveram 1.824 dias de tempo médio de sobrevida, enquanto para HN2/HN3 foi de 804 dias.

A palpação do linfonodo possui limitado valor preditivo para metástases. Realizar exame citológico ou histológico apenas de linfonodos que estejam palpavelmente aumentados leva a um estadiamento impreciso. O exame citológico tem sido associado a uma alta proporção de falso positivo bem como falso negativo; além disso, nem todos os linfonodos regionais são viáveis para a punção aspirativa. No estudo de Ferrari *et al.* (2018) detectaram que 50% dos linfonodos regional/sentinela não palpável ou de tamanho normal estavam ocultando a metástase de MCTc. A falta de precisão da análise do linfonodo sentinela faz com que alguns profissionais optem rotineiramente por remover profilaticamente o linfonodo regional durante a excisão do tumor primário, de modo a minimizar a incidência de nódulos falsamente negativos diagnosticados por citologia ou biópsia incisional (TUOHY *et al.*, 2009).

Com o objetivo de identificar o linfonodo sentinela em cães com MCTc a autora Worley (2014) utilizou a técnica de linfocintilografia associada à injeção do corante azul de metileno peritumoral. Este estudo verificou que 42% dos linfonodos marcados pelo corante não refletiam com precisão os linfonodos regionais, que anatomicamente se esperavam que drenassem, demonstrando que a drenagem linfática da área em que o tumor está localizado muitas vezes drena para cadeias linfáticas distintas. Portanto, a revisão da drenagem linfática ou a linfocintilografia regional pode ser benéfica na determinação do linfonodo que deve ser amostrado (figura 3) (KIUPEL; CAMUS, 2019).

Figura 3 – Diagrama da drenagem linfática. Principais linfonodos: 1 = parótida, 2 = submandibular, 3 = retrofaríngeo, 4 = pré-escapular, 5 = axilar, 6 = ilíaco, 7 = inguinal, e 8 = poplíteo.



Fonte: Kiupel e Camus, (2019, p. 832).

No estudo de Marconato *et al.* (2020) foram avaliados cães que apresentavam MCTc de grau I e II de Patnaik (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984) e baixo grau de Kiupel (KIUPEL *et al.*, 2011), com linfonodo regional com metástase precoce (HN2). Estes cães, os quais foram submetidos a excisão cirúrgica do tumor primário associado a linfadenectomia eletiva, tiveram um prognóstico excelente em contraste ao grupo que recebeu somente o tratamento médico adjuvante (quimioterapia e/ou inibidores da tirosina quinase).

O exame histopatológico é considerado “padrão-ouro” para determinar metástases em linfonodos. A avaliação de amostras com múltiplas secções seriadas aumenta a probabilidade de detecção de linfonodo positivo e pode ser incluída na rotina de patologistas, ao contrário do tradicional corte único transversal e longitudinal usado atualmente e que é determinante para a taxa de falso negativo de linfonodo sentinela (WORLEY, 2014).

6.6 Avaliação de metástase a distância

6.6.1 Ultrassonografia abdominal

Os sítios metastáticos mais comuns dos MCTc, além dos linfonodos, são: baço, fígado e medula óssea. A presença de metástase a distância está associada a um pior prognóstico e leva a redução no tempo de sobrevivência (STEFANELLO *et al.*, 2009; BOOK *et al.*, 2011; PECCEU *et al.*, 2020).

A utilização da ultrassonografia abdominal para detectar metástase em baço e fígado é controversa, assim como a citologia guiada por ultrassom (US) também é discutível (PECCEU *et al.*, 2020). Em seu estudo Book *et al.* (2011) demonstraram que a sensibilidade do ultrassom em detectar metástase em baço e fígado em cães diagnosticados com MCTc considerados agressivos, foi de 43% e 0%, respectivamente, concluindo que a aparência ultrassonográfica de baço e fígado não era um preditor confiável de infiltração de mastócitos. Os achados de Pecceu *et al.* (2020) também revelaram que o US é um mau preditor de

metástases. Este estudo avaliou cães definidos como de alto risco para metástases viscerais e os resultados mostraram uma sensibilidade e especificidade para o baço de 67% e 68%, e para o fígado de 29% e 93%, respectivamente.

6.6.2 Radiografia torácica

A metástase pulmonar é incomum no MCTc canino (LONDON; SEGUIN, 2003). Pecceu *et al.* (2020) e Warland *et al.* (2014) mostraram que a radiografia torácica não apresentou relevância significativa no estadiamento de cães com MCTc; no entanto pode ser indicada na triagem de comorbidades.

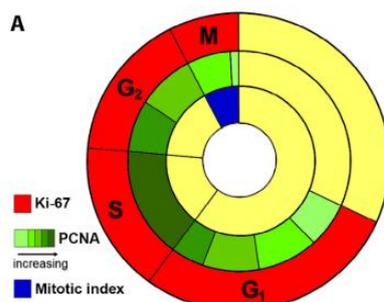
7 FATORES PROGNÓSTICOS

O prognóstico do MCTc canino pode ser muitas vezes desafiador em virtude da variabilidade de seu comportamento biológico. Por essa razão, em muitos casos é necessário a associação de métodos adicionais. Ao longo dos últimos anos têm se intensificado estudos e testes visando encontrar fatores prognósticos mais precisos. Os estudos demonstraram que os seguintes fatores estão associados ao prognóstico do paciente: como índice mitótico, marcador de proliferação ki-67, mutação do *c-kit* e padrão de expressão do KIT (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

7.1 Marcadores de proliferação celular

Existem vários marcadores de proliferação celular e cada um avalia diferentes aspectos e fases do ciclo celular. Esses marcadores foram associados ao tempo de sobrevida, intervalo livre de doença e ocorrência de metástases em cães com MCTc. É necessário entender quais informações que cada índice de proliferação irá fornecer antes de analisar e interpretar os resultados. A proliferação celular é o resultado do número de células no ciclo celular (fração de crescimento) e da taxa de progressão celular (taxa de proliferação). É importante destacar que nenhum índice único avalia ao mesmo tempo a fração de crescimento e a taxa de proliferação, e por isso é necessário a avaliação de múltiplos marcadores de proliferação para produzir uma análise completa (figura 4) (WEBSTER *et al.*, 2007; SLEDGE; WEBSTER; KIUPEL, 2016). Nessa seção serão abordados o índice mitótico e ki-67.

Figura 4 – Ciclo celular e os métodos de avaliação que refletem a fração de crescimento: ki-67, PCNA e índice mitótico.



Fonte: adaptado de Sledge, Webster e Kiupel (2016, p. 47).

7.1.1 Contagem mitótica

Contagem mitótica é o método de mensuração da atividade celular proliferativa amplamente utilizado, é critério importante para a graduação histológica. Esse método baseia-se na contagem de células em mitose representada pela fase M do ciclo celular em uma lâmina de histologia corada com hematoxilina e eosina, não refletindo, portanto, a fração de crescimento completa. É necessário escolher a área de maior atividade mitótica, a contagem de figuras de mitose é feita em 10 CMA (400x) em campos de 2,37 mm². Comparado a outros fatores prognósticos, o exame constitui um método simples, que não requer colorações adicionais e técnicas de imuno-histoquímicas especiais, apresenta fácil execução e baixo custo (ROMANSIK *et al.*, 2007; STREFEZZI *et al.*, 2009 NATIVIDADE *et al.*, 2014). Preziosi, Sarli e Paltrinieri (2007) mostraram que existe correlação entre a contagem de mitose e o sistema de classificação proposto por Patnaik e colaboradores e o tempo de sobrevivência. Dessa forma, o número de figuras mitóticas apresenta alta sensibilidade prognóstica. Daleck, Rocha e Ferreira (2016) ainda acrescentam que o índice mitótico pode servir como um fator prognóstico independente de outras características histológicas, visto que tumores com elevado IM estão associados a piores prognósticos ao paciente.

Os valores de limites prognósticos (*cut-offs*) para a contagem mitótica variam entre os estudos. No entanto, no estudo de Romansik *et al.* (2007) propuseram um *cut-off* de cinco figuras de mitose e correlacionaram diretamente com a graduação de Patnaik (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). Sledge; Webster; Kiupel (2016), demonstraram que um índice mitótico acima de cinco tem sido consistentemente sugerido como um indicador de mau prognóstico. A partir da análise de Romansik *et al.* (2007) a mediana de sobrevivência para cães com IM menor ou igual a cinco, foi de setenta meses, significativamente maior do que para aqueles com IM maior que cinco, o qual foi de dois meses.

Os autores também encontraram uma associação entre IM e taxa de metástase: quanto maior o IM, maior o risco de desenvolver a doença metastásica. Esses resultados são particularmente importantes em relação aos tumores de grau II, já que são mais difíceis de determinar o seu comportamento tornando a tomada de decisão clínica desafiadora em relação a necessidade de tratamento adjuvante após o controle local. Nesses casos o IM foi capaz de identificar aqueles que eram os mais agressivos. É possível concluir que o IM é um forte fator de prognóstico de sobrevida para cães com MCTc e deve ser incluído como um indicador de prognóstico ao determinar as opções terapêuticas.

Por outro lado, Strefezzi *et al.* (2009) apresentaram algumas ressalvas ao trabalho de Romansik *et al.* (2007), como a falta de padronização do tamanho dos campos microscópicos, e de que este método de contagem representa apenas a fase M do ciclo celular. Apesar dos excelentes resultados a técnica de contagem de figuras de mitose no HE necessita de mais corroboração.

7.1.2 Ki-67

Ki-67 é uma proteína nuclear que é expressada durante todo o ciclo celular (G1, S, G2 e M), exceto quando a célula está em quiescência, ou seja, quando não está em proliferação; entretanto não reflete a taxa de progressão no ciclo celular. Através da análise imuno-histoquímica é possível mensurar o índice de proliferação celular, considerado um fator de prognóstico independente muito utilizado em tumores agressivos. Webster *et al.* (2007) estabeleceram o método de contagem em 10 campos de maior número de células positivas (*hot-spots*) numa gradícula na objetiva de 40x, com *cut-off* de vinte e três células positivas. O resultado da contagem acima do *cut-off* foi associado ao aumento da taxa de recidiva local, metástase e menor tempo de sobrevida (WEBSTER *et al.*, 2007; VASCELLARI *et al.*, 2013; SLEDGE; WEBSTER; KIUPEL, 2016).

A imuno-histoquímica é uma técnica recomendada em casos em que há discordância entre histórico (padrão de crescimento tumoral ou presença de síndromes paraneoplásicas), característica tumoral (tamanho, ulceração ou grau de inflamação local) e índice mitótico, e particularmente em MCTc de grau histológico intermediário, pois é capaz de identificar os tumores agressivos (BERLATO *et al.*, 2015).

7.2 Marcadores moleculares

Marcadores moleculares associados a classificação histológica e aos achados clínicos produzem resultados mais precisos no estadiamento clínico de cães com MCTc. Os resultados obtidos dessa combinação auxiliam no prognóstico, permitindo a identificação de tumores de comportamento agressivo, e podem auxiliar na melhor escolha terapêutica na tentativa de individualizar o tratamento (SLEDGE; WEBSTER; KIUPEL, 2016; VASCELLARI *et al.*, 2013; WEBSTER *et al.*, 2007). Nesta seção serão tratados a mutação do *c-kit* e padrão de expressão anormal do KIT.

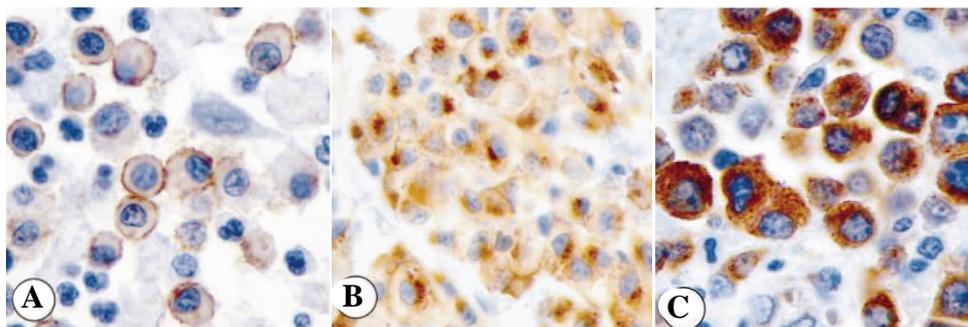
7.2.1 Mutação do gene *c-kit*

O proto-oncogene *c-kit* codifica o receptor tirosina quinase (KIT) que tem como ligante o SCF. Esse processo tem um papel importante na proliferação, migração, diferenciação e sobrevivência dos mastócitos. Duplicação no éxon 11 e 12 do *c-kit* são detectadas através do exame de reação em cadeia da polimerase (PCR) e resulta na fosforilação do receptor KIT tornando-o ativo independentemente da presença do SCF, que, por sua vez, leva a uma cascata de sinalização responsável pela proliferação descontrolada de mastócitos neoplásicos. As mutações do *c-kit* estão associadas a progressão da doença e a MCTc de alto grau histológico. A identificação dessa anomalia permite o uso de terapia alvo com inibidores de tirosina-quinase (LONDON *et al.*, 1999; WEBSTER *et al.*, 2006; LONDON; THAMM, 2012).

7.2.2 Padrão de expressão anormal do KIT

A avaliação do padrão de expressão do KIT é realizada por exame de imuno-histoquímica e é dividido em três categorias de acordo com a localização da marcação (figura 5): padrão I mastócitos não neoplásicos e neoplásicos bem diferenciados possuem marcação perimembranosa; padrão II mastócitos neoplásicos apresentam marcação citoplasmática focal ou pontilhado, e padrão III mastócitos neoplásicos têm marcação citoplasmática difusa (KIUPEL *et al.*, 2004).

Figura 5 – Imuno-histoquímica de cortes de MCTc canino. (A) Padrão KIT I caracterizado por marcação perimembranosa. (B) Padrão KIT II caracterizado por marcação citoplasmática focal ou pontilhado. (C) Padrão KIT III caracterizado por marcação citoplasmática difusa.



Fonte: Kiupel *et al.* (2004, p. 372).

Kiupel *et al.* (2004) mostraram em seu estudo que a imuno-histoquímica para o marcador KIT é uma excelente ferramenta para determinar o prognóstico de MCTc canino. Este marcador também serve para esclarecer os casos onde a graduação histológica é ambígua, além disso demonstrou que a expressão aumentada do KIT no citoplasma (padrão II e III) está relacionada ao maior risco de recidiva local e menor tempo de sobrevida. O padrão de expressão anormal de KIT também é considerado fator preditivo e é alvo dos inibidores dos receptores de tirosina quinase (DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A variabilidade de comportamento biológico do MCTc canino dificulta seu prognóstico.

A avaliação citológica permite o diagnóstico de triagem e auxilia no planejamento da margem cirúrgica.

O diagnóstico definitivo é realizado por exame histopatológico associando os dois sistemas de classificação: Patnaik (grau I, II e III) e Kiupel (baixo e alto grau).

Recomenda-se a remoção cirúrgica com margens amplas, 3cm em todas as direções e pelo menos um plano (fáscia) profundo não comprometido, sempre que possível, para todos os MCTc.

A presença de metástase a distância é um fator prognóstico negativo. Os sítios mais acometidos, além do linfonodo, são baço, fígado e medula óssea. Linfonodo clinicamente sem alterações pode ocultar metástase.

A detecção de metástase em baço e fígado por meio de US é controversa, assim como a citologia guiada por US. Sugere-se PAAF nos casos de MCTc mais agressivos.

A radiografia torácica não é um exame de imagem imprescindível no estadiamento clínico, visto que metástases pulmonares são incomuns.

O estadiamento clínico deve ser realizado com base em diversos fatores que devem ser avaliados simultaneamente, afim de determinar com precisão a extensão da doença, prognóstico e conduta terapêutica.

Ainda não existe nenhuma técnica isolada que consiga prever o comportamento biológico do MCTc canino.

A classificação histológica de Weishaar (2014) que avalia metástase em linfonodo pode auxiliar na definição do prognóstico.

Fatores prognósticos devem ser utilizados como métodos adicionais, em associação ao estadiamento clínico, especialmente nos casos de grau intermediário.

A contagem mitótica é relevante para o prognóstico. Contagem maior do que 5 figuras de mitose indica redução no tempo de sobrevida e elevado risco de metástase.

O marcador de proliferação ki-67 é considerado fator de prognóstico independente.

Mutação no gene *c-kit* e padrão anormal de KIT possuem valor prognóstico e preditivo.

Médicos veterinários oncologistas e patologistas devem trabalhar em colaboração para garantir o melhor tratamento possível dos cães afetados.

REFERÊNCIAS

- AVALLONE, G. et al. Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. **Veterinary Pathology**, 2021.
- 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, 2020.
- 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, 2015.
- 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, 2021.
- BLACKWOOD, L. et al. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 10, n. 3, p. 1–29, 2012.
- BOOK, A. P. et al. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 52, n. 5, p. 548–554, 2011.

DALECK, C. R.; ROCHA, N. S.; FERREIRA, M. G. P. A. Mastocitoma. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. (Eds.). . **Oncologia em Cães e Gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Gen Roca, 2016. p. 766.

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.

DOBSON, J. M. Breed-Predispositions to Cancer in Pedigree Dogs. **ISRN Veterinary Science**, v. 2013, p. 1–23, 2013.

DOWNING, S. et al. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-KIT in mast cell tumors of dogs. **Am J Vet Res**, v. 63, n. 12, p. 1718–1723, 2002.

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, 2018.

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, 2018.

HOWARD, E. B. et al. Mastocytoma and Gastroduodenal Ulceration. **Veterinary Pathology**, v. 158, p. 146–158, 1969.

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, 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: Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 52, n. 6, p. 280–286, 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, 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, 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, 1999.

LONDON, C. A.; SEGUIN, B. Mast cell tumors in the dog. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 473–489, 2003.

LONDON, C. A.; THAMM, D. H. Mast Cell Tumors. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. (Eds.). . **Small Animal Clinical Oncology**. 5. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2012. p. 335–355.

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, 2020.

MILOVANCEV, M.; RUSSELL, D. S. Surgical margins in the veterinary cancer patient. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 15, n. 4, p. 1136–1157, 2017.

MOORE, A. S. et al. Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 3, p. 402–408, 2020.

NATIVIDADE, F. S. et al. Análise de sobrevida e fatores prognósticos de cães com mastocitoma cutâneo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 874–884, 2014.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Tumores de mastócitos em cães e gatos. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Eds.). . **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5. ed. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 1191–1195.

NORTHRUP, N. C. et al. Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 6, p. 561–564, 2005.

O'CONNELL, K.; THOMSON, M. Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 11, n. 1, p. 51–62, 2011.

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, 2020.

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

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, 1984.

PECCEU, E. et al. Ultrasound is a poor predictor of early or overt liver or spleen metastasis in dogs with high-risk mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 3, p. 389–401, 2020.

PREZIOSI, R.; SARLI, G.; PALTRINIERI, M. Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 3, p. 287–296, 2007.

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, 2007.

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, 2015.

SABATTINI, S. et al. Comparison between May-Grünwald-Giemsa and rapid cytological stains in fine-needle aspirates of canine mast cell tumour: Diagnostic and prognostic implications. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 4, p. 511–517, 2018.

SCARPA, F.; SABATTINI, S.; BETTINI, G. Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, n. 3, p. 245–251, 2016.

SÉGUIN, B. et al. Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 Cases (1996-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 7, p. 1120–1123, 2001.

SFILIGOI, G. et al. Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 Cases (1990=2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 8, p. 1368–1374, 2005.

SLEDGE, D. G.; WEBSTER, J.; KIUPEL, M. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. **Veterinary Journal**, v. 215, p. 43–54, 2016.

ŞMIECH, 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. 1–9, 2018.

STEFANELLO, D. et al. Ultrasound-guided cytology of spleen and liver: A prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 5, p. 1051–1057, 2009.

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.

TUOHY, J. L. et al. A review of sentinel lymph node evaluation and the need for its incorporation into veterinary oncology. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 2, p. 81–91, 2009.

VASCELLARI, M. et al. Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Association With Grading and Prognosis. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 1, p. 110–121, 2013.

WARLAND, J. et al. The utility of staging in canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 12, n. 4, p. 287–298, 2014.

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, 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, 2007.

WEISHAAR, K. M. et al. Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with

mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 151, n. 4, p. 329–338, 2014.

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, 2008.

WILLMANN, M. et al. Comparative oncology: The paradigmatic example of canine and human mast cell neoplasms. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 1, p. 1–10, 2019.

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, 2014.