

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
HOSPITAL DE CLÍNICAS VETERINÁRIAS
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE EM SAÚDE
ANIMAL E COLETIVA**

**NEOPLASMAS GASTROINTESTINAIS PRIMÁRIOS NÃO LINFOIDES EM CÃES
NO RIO GRANDE DO SUL**

Mônica Slaviero

PORTO ALEGRE

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
HOSPITAL DE CLÍNICAS VETERINÁRIAS
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE EM SAÚDE
ANIMAL E COLETIVA**

**NEOPLASMAS GASTROINTESTINAIS PRIMÁRIOS NÃO LINFOIDES EM CÃES
NO RIO GRANDE DO SUL**

Autora: Mônica Slaviero

**Trabalho de Conclusão de Residência
apresentado à Faculdade de Veterinária
da Universidade Federal do Rio Grande
do Sul como requisito parcial para
obtenção do grau de Especialista em
Patologia Veterinária**

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Sonne

PORTO ALEGRE

2019

Slaviero , Mônica

Neoplasmas gastrointestinais primários não
linfóides em cães no Rio Grande do Sul / Mônica
Slaviero . -- 2019.

26 f.

Orientadora: Luciana Sonne.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Residência em Área Profissional da
Saúde em Saúde Animal e Coletiva, sub-área Patologia
Veterinária, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. caninos. 2. neoplasia gástrica. 3. neoplasia
intestinal. 4. histopatologia. 5. imuno-histoquímica.
I. Sonne, Luciana, orient. II. Título.

MÔNICA SLAVIERO

NEOPLASMAS GASTROINTESTINAIS PRIMÁRIOS NÃO LINFOIDES EM CÃES NO
RIO GRANDE DO SUL

Aprovado em 27 de fevereiro de 2019.

APROVADO POR:

Profª. Dra. Luciana Sonne
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof. Dr. David Driemeier
Membro da Comissão

Dr. Welden Panziera
Membro da Comissão

RESUMO

Neoplasmas gastrointestinais (NGI) são pouco frequentes em cães, porém, na maior parte dos casos apresentam comportamento maligno e prognóstico reservado. Assim, um diagnóstico preciso é fundamental para se estabelecer um prognóstico e tratamento mais acurados. Os tipos de NGI em cães e sua frequência, bem como características epidemiológicas e histopatológicas foram analisados por meio de um estudo retrospectivo de exames de biópsias de 24.711 cães entre os anos de 2005 a 2017. Cortes histológicos de NGI foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica (IHQ), utilizando os anticorpos anti-pancitoqueratina, vimentina, actina de músculo liso, c-Kit, S100, CD31, CD79 e enolase-neurônio-específico. Do total de cães analisados, 88 corresponderam a NGI. Os neoplasmas ocorreram com maior frequência em cães de raça pura [64,8% (57/88)], machos [53,4% (47/88)], com mediana de idade de 10 anos. O intestino foi acometido em 84,1% dos casos (74/88) e o estômago em 15,9% (14/88). O intestino grosso (IG) foi o segmento mais afetado [67,6% (50/74)] e a maior parte dos neoplasmas tinha apresentação maligna [88,6% (78/88)]. Quanto à classificação, 46,6% (41/88) dos diagnósticos corresponderam a neoplasmas epiteliais, 46,6% (41/88) mesenquimais, 5,7% hematopoiéticos (5/88) e 1,1%, neuroendócrino (1/88). Os neoplasmas mais frequentemente diagnosticados foram adenocarcinoma papilar [19,3% (17/88)], leiomiossarcoma [17,0% (15/88)], GIST [12,5% (11/88)] e leiomioma [12,5%, (8/88)]. Adenocarcinomas papilares localizavam-se principalmente no reto. Todos os carcinomas apresentaram na IHQ marcação intracitoplasmática e/ou membranária para a pancitoqueratina. Leiomiossarcomas desenvolveram-se principalmente no ceco e caracterizavam-se por neoplasmas com imunomarcação para actina de músculo liso e negativa para c-Kit. GISTs correspondiam aos neoplasmas com marcação positiva na IHQ para c-Kit e localizavam-se majoritariamente no ceco. Leiomiomas apresentaram mesma distribuição no estômago e intestino e correspondiam a neoplasmas com marcação positiva para actina de músculo liso e negativa para c-Kit. Diferenciavam-se dos leiomiossarcomas por serem bem delimitados e possuírem baixo pleomorfismo. Os neoplasmas epiteliais demonstraram um potencial maior de invasão linfática enquanto que os mesenquimais aparentaram ser mais expansivos, com necrose e hemorragia intratumorais. A imuno-histoquímica mostrou ser uma técnica diagnóstica importante para a identificação de células neoplásicas infiltrativas no caso dos carcinomas e uma técnica indispensável para o diagnóstico definitivo de sarcomas.

Palavras-Chave: caninos, neoplasia gástrica, neoplasia intestinal, histopatologia, imuno-histoquímica

ABSTRACT

Gastrointestinal neoplasms (GIN) are uncommon in dogs, but in most cases they have malignant behavior and poor prognosis. Therefore, an accurate diagnosis is essential to determine a more accurate prognosis and treatment. The types of GIN in dogs and their frequency, as well their epidemiological and histopathological characteristics were analyzed through a retrospective study of the biopsies from 24.711 dogs between the years 2005 to 2017. Histological sections of the neoplasms were submitted to immunohistochemistry (IHC) using antibodies against pancytokeratin, vimentin, smooth muscle actin, c-Kit, S100, CD31, CD79 and enolase-neuron-specific. Of the total dogs analyzed, 88 corresponded to GIN. Neoplasms occurred more frequently in pure-bred dogs [64,8% (57/88)], males [53,4% (47/88)], with median age of 10 years. The intestine was affected in 84,1% of the cases (74/88) and the stomach in 15,9% (14/88). The large intestine was the most affected segment [67,6% 50/74)] and most of the neoplasms had malignant behavior [88.6% (78/88)]. Regarding the classification, 46.6% (41/88) of the diagnoses corresponded to epithelial neoplasms, 46.6% (41/88) mesenchymal, 5.7% hematopoietic (5/88) and 1.1%, neuroendocrine (1/88). The most frequently diagnosed neoplasms were papillary adenocarcinoma [19.3% (17/88)], leiomyosarcoma [17.0% (15/88)], GIST [12.5% (11/88)] and leiomyoma [5%, (8/88)]. Papillary adenocarcinomas were located mainly in the rectum. All carcinomas showed intracytoplasmic or membrane immunolabeling for pancytokeratin. Leiomyosarcomas developed mainly in the cecum and were characterized by neoplasms with immunolabeling for smooth muscle actin and negative for c-Kit. GISTs corresponded to neoplasms that express Kit protein, and were located mainly in the cecum. Leiomyomas presented the same distribution in the stomach and intestine and corresponded to neoplasms with positive immunostaining for smooth muscle and lack of Kit immunolabeling. They differed from leiomyosarcomas because they were well delimited and had low pleomorphism. Epithelial neoplasms showed a greater potential for lymphatic invasion while the mesenchymal appeared to be more expansive, with intratumoral necrosis and hemorrhage. Immunohistochemistry showed to be an important diagnostic technique for the identification of infiltrating neoplastic cells in the case of carcinomas and an indispensable technique for the definitive diagnosis of sarcomas.

Keywords: canine, gastric neoplasia, intestinal neoplasia, histopathology immunohistochemistry

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Anticorpos e protocolos imuno-histoquímicos utilizados em neoplasmas gastrointestinais caninos.....	12
Tabela 2. Diagnósticos morfológicos, localização e número de casos de neoplasmas gastrointestinais em caninos no período de Janeiro de 2005 a Dezembro de 2017.....	14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAIS E MÉTODOS	11
3 RESULTADOS	13
3.1 Aspectos epidemiológicos e gerais	13
3.2 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas epiteliais	14
3.3 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas mesenquimais	15
3.4 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas hematopoiéticos	17
3.5 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas neuroendócrinos	17
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1 INTRODUÇÃO

Os neoplasmas gastrointestinais (NGI) são pouco frequentes em cães, porém, na maior parte dos casos apresentam comportamento maligno e prognóstico reservado (SWANN; HOLT, 2002; UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). O estômago e o intestino apresentam as mesmas estruturas histológicas básicas e, portanto, exibem tipos de neoplasmas primários semelhantes, os quais são classificados em: epitelial, neuroendócrino, mesenquimal hematopoiético e mesenquimal não hematopoiético (HEAD *et al.*, 2003).

Embora relatos de casos de NGI e estudos individualizados de cada tipo são frequentes (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1978; PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1980; LAROCK; GINN, 1997; OZAKI *et al.*, 2002; PAOLONI; PENNINCK; MOORE, 2002; BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; COHEN; POST; WRIGHT, 2003; FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; KUPANOFF; POPOVITCH; GOLDSCHMIDT, 2006; HAYES *et al.*, 2013), estudos retrospectivos que reúnam todos os tipos neoplásicos do trato gastrointestinal de cães e que abordem características histológicas e técnica imuno-histoquímica (IHQ) ainda são escassos na literatura (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; FRGELECOVÁ *et al.*, 2014). Ainda, pouco se sabe sobre os dados epidemiológicos, localizações anatômicas de ocorrência e comportamento destes neoplasmas.

Além disso, os tumores mesenquimais não linfoides e não angiogênicos apresentam características histológicas muito semelhantes entre si e, até recentemente, devido à falta de critérios, estes neoplasmas tem sido pouco definidos na medicina veterinária (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Isso resulta em classificações inconsistentes destes neoplasmas como tumores estromais gastrointestinais (GISTs), tumores de músculo liso, tumores de origem neural e tumores fibroblásticos, os quais possuem uma ampla variedade de comportamentos biológicos (LAROCK; GINN, 1997). Em humanos, recentemente foi definido que GISTs referem-se especificamente aos neoplasmas mesenquimais que expressam na IHQ a proteína c-Kit, e que são originados a partir das células intersticiais de Cajal (KINDBLOM *et al.*, 1998; MIETTINEN; LASOTA, 2001). A identificação e definição adequada dos GISTs tornou-se importante principalmente após a introdução do tratamento com o inibidor de tirosina-quinase seletiva para proteína Kit, o mesilato de imatinibe (VAN OOSTERO *et al.*, 2001; DEMETRI *et al.*, 2002). Desde então, estudos têm reclassificado os neoplasmas mesenquimais gastrointestinais caninos baseados nos critérios humanos de classificação, principalmente através da IHQ (FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003;

MAAS *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013), com o objetivo de estabelecer um diagnóstico preciso e determinar um prognóstico e tratamento mais acurados.

Este trabalho teve como objetivo determinar a frequência e os tipos de NGI não linfoides de cães a partir de amostras de biópsias diagnosticadas na Região Metropolitana de Porto Alegre, abordando seus aspectos epidemiológicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a identificação de casos de NGI foram revisados os registros de biópsias de cães do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) referentes ao período de janeiro de 2005 a dezembro de 2017. Os aspectos epidemiológicos como a raça, idade e sexo, bem como localização anatômica, características histopatológicas e o diagnóstico foram analisados e compilados. Neoplasmas multicêntricos, como os de origem linfoide, não foram incluídos no presente estudo. As amostras foram previamente fixadas em formalina a 10%, processadas rotineiramente para histologia e coradas pela técnica de hematoxilina e eosina. Os casos eram provenientes principalmente de clínicas e hospitais veterinários da Região Metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Os diagnósticos dos NGI do presente estudo foram padronizados segundo os critérios histológicos estabelecidos pela World Health Organization (HEAD *et al.*, 2003) e a classificação proposta por Hayes *et al.* (2013) para os sarcomas gastrointestinais não-linfoides e não-angiogênicos. Os neoplasmas mesenquimais que fazem parte do sistema hematopoiético foram separados na categoria específica de neoplasmas hematopoiéticos.

Cortes histológicos dos NGI foram submetidos à técnica de IHQ, e os anticorpos primários e os protocolos utilizados estão especificados na Tabela 1. Quando necessário, secções dos NGI de origem mesenquimal foram submetidos à coloração especial de Tricrômico de Masson e Vermelho-congo, para a identificação de fibras de colágeno e de amiloide, respectivamente.

Tabela 1. Anticorpos e protocolos imuno-histoquímicos utilizados em neoplasmas gastrointestinais caninos.

Anticorpo	Código	Recuperação Antigênica	Diluição	Método de detecção	Cromógeno
Anticorpo monoclonal					
anti-actina do músculo liso humano ^a	M0851	20 min/120°C, tampão Tris-EDTA pH 9.0	1:50	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-CD79 ^{acy} ^a	M7051	20 min/96°C, tampão Tris-EDTA pH 9.0	1:100	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-enolase neurônio específica ^a	M0873	40 min/96°C, tampão Citrato pH 6.0	1:200	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-pancitoqueratina (AE1/AE3) ^a	M3515	3 min/125°C, tampão Citrato pH 6.0	1:80	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-vimentina (clone V9) ^c	18-002	3 min/125°C, tampão Citrato pH 6.0	1:200	MACH4 ^b	AEC ^a
Anticorpo policlonal					
anti-c-Kit (CD117) ^a	A04502	40 min/96°C, tampão Citrato pH 6.0	1:400	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-S-100 ^a	Z0311	20 min/96°C, tampão Citrato pH 6.0	1:200	MACH4 ^b	AEC ^a
anti-CD31 ^a	A0082	3 min/125°C, tampão Citrato pH 6.0	1:800	MACH4 ^b	AEC ^a

MACH 4: Universal HRP Polymer, AEC: cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol. Fontes de aquisição: ^aDako, ^bBiocare Medical, ^cZymed

3 RESULTADOS

3.1 Aspectos epidemiológicos e gerais

No período de janeiro de 2005 a dezembro de 2017 foram processadas e avaliadas 24.711 biópsias de cães, das quais 14.603 eram diagnósticos de neoplasmas. Os NGI não linfoides corresponderam a 88 amostras, totalizando 0,4% do total de biópsias de caninos e 0,6% do total de diagnósticos de neoplasmas. NGI afetaram cães com raça pura em 64,8% dos casos (57/88), sem raça definida (SRD) em 32,9% (29/88) e em dois casos a raça não foi informada. As raças mais acometidas foram Poodle (8/88), Boxer (5/88), Dachshund (5/88) e Labrador (4/88). A faixa etária variou de um a 17 anos, com a mediana de idade de 10 anos. Neoplasmas epiteliais apresentaram mediana de oito anos, e os mesenquimais, de 10 anos. Quanto ao sexo, 53,4% (47/88) dos casos eram machos e em 44,3% (39/88), fêmeas. Dois casos não tiveram o sexo informado.

Os neoplasmas envolveram o intestino em 84,1% dos casos (74/88) e o estômago em 15,9% (14/88). Em relação ao envolvimento intestinal, o intestino grosso (IG) foi o segmento mais afetado [67,6% (50/74)], e o intestino delgado (ID) correspondeu a 29,7% dos casos (22/74). Em dois casos não foi informado o segmento intestinal afetado e estes não puderam ser determinados histologicamente por tratar-se de amostras diminutas. Em relação ao comportamento biológico, 88,6% dos neoplasmas eram malignos (78/88) e 11,4%, benignos (10/88).

Quanto à classificação, 46,6% (41/88) dos diagnósticos corresponderam a neoplasmas epiteliais, 46,6% (41/88) mesenquimais, 5,7% hematopoiéticos (5/88) e 1,1% a neuroendócrina (1/88). Os principais diagnósticos de NGI não linfoides em cães do presente estudo foram adenocarcinoma papilar [19,3% (17/88)], leiomiossarcoma [17,0% (15/88)] e GIST [12,5% (11/88)]. Os diagnósticos completos de NGI em caninos estão descritos na Tabela 2, bem como a localização anatômica e o número de casos.

Tabela 2. Diagnósticos morfológicos, localização e número de casos de neoplasmas gastrointestinais em caninos no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2017.

	Localização				TOTAL	%
	Estômago	ID	IG	Intestino*		
Epiteliais						
Adenocarcinoma papilar	0	2	15		17	19,3%
Adenocarcinoma acinar/tubular	2	4	4		10	11,4%
Adenocarcinoma mucinoso	1	3	2		6	6,8%
Carcinoma indiferenciado	2	1	2		5	5,7%
Carcinoma em anel de sinete	2	0	0		2	2,3%
Adenoma tubular	1	0	0		1	1,1%
Mesenquimais						
Leiomiossarcoma	1	4	9	1	15	17,0%
GIST	0	3	7	1	11	12,5%
Leiomioma	4	1	3		8	9,2%
Não-GIST/não-leiomiossarcoma	0	3	2		5	5,7%
Hemangiossarcoma	0	0	1		1	1,1%
Fibroma	0	0	1		1	1,1%
Hematopoiéticos						
Mastocitoma	0	1	2		3	3,4%
Plasmocitoma	0	0	2		2	2,3%
Neuroendócrino						
Tumor neuroendócrino maligno	1	0	0		1	1,1%
TOTAL	14	22	50	2	88	100%

*em dois casos não foi informado o segmento intestinal afetado e a amostra era muito pequena para que se pudesse determinar histologicamente.

3.2 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas epiteliais

Os neoplasmas de origem epitelial corresponderam a 46,6% (41/88) dos diagnósticos dos NGI não linfoides, sendo os carcinomas os mais frequentemente diagnosticados [97,6% (40/41)]. Localizavam-se principalmente no IG (23/40), no qual 20 estavam. Dentre eles, o adenocarcinoma papilar foi o principal tipo observado, representando 41,5% (17/41) dos neoplasmas epiteliais. Estes neoplasmas formavam projeções papilares da mucosa em direção ao lúmen, revestidas por múltiplas camadas de células colunares. Geralmente estavam limitados à mucosa e em três casos visualizou-se invasão da submucosa, um da muscular e um transmural.

O arranjo acinar (quando no intestino) ou tubular (quando no estômago) foi o segundo padrão mais observado, representando 24,4% (10/41) dos casos. À histologia, a mucosa encontrava-se substituída por formações acinares/tubulares que frequentemente infiltravam as camadas submucosa, muscular e serosa na forma de grupos celulares ou ácinos individuais. Em 14,6% (6/41) dos casos visualizou-se abundante quantidade de material mucinoso extracelular, formando múltiplos aglomerados que por vezes substituíam a mucosa e frequentemente invadiam as camadas submucosa, muscular e serosa, sendo classificados como adenocarcinoma mucinoso.

Em 12,1% (5/41) as células epiteliais neoplásicas arranjavam-se de maneira sólida, com pleomorfismo moderado a acentuado, sem diferenciação glandular, sendo classificados como carcinomas indiferenciados. Estes neoplasmas apresentaram um caráter infiltrativo, com invasão massiva das camadas submucosa, muscular (5/5) e ocasionalmente serosa (2/5). Em 4,9% (2/41) os neoplasmas foram classificados como carcinoma em anel de sinete, nos quais a mucosa estava substituída por abundante quantidade de células epiteliais com citoplasma amplo e preenchido por material mucinoso que deslocava o núcleo perifericamente. Estas células infiltravam as camadas submucosa e muscular.

Frequentemente visualizaram-se nos NGI epiteliais células neoplásicas no interior de vasos linfáticos [68,3% (28/41)]. Estas foram visualizadas em todos os neoplasmas com arranjo acinar, mucinoso, em anel de sinete e indiferenciado, enquanto que apenas cinco dos 17 casos com arranjo papilar apresentaram invasão linfática.

Todos os carcinomas apresentaram na IHQ marcação citoplasmática e/ou membranar para a pancitoqueratina, que variou de fraca a acentuada, sem diferenças entre os arranjos.

3.3 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas mesenquimais

Os neoplasmas de origem mesenquimal corresponderam a 46,6% (41/88) dos diagnósticos de NGI não linfoides. Dentre eles os mais frequentemente diagnosticados foram: leiomiossarcoma [36,6% (15/41)], GIST [26,8% (11/41)] e leiomioma [19,5% (8/41)]. Dos neoplasmas mesenquimais, 78,0% eram malignos (32/41) e 22,0% benignos (9/41).

Os leiomiossarcomas [36,6% (15/41)] foram observados principalmente no IG (9/15). Destes, seis se localizavam no ceco. Histologicamente correspondiam a uma proliferação de células neoplásicas arranjadas em feixes em múltiplas direções, com alta densidade celular e pleomorfismo celular e nuclear moderado a acentuado. Em 46,7% (7/15) dos casos havia em meio ao tumor extensas áreas de necrose, por vezes associada à hemorragia e mineralização.

Localizavam-se na camada muscular e em 66,7% (10/15) infiltrava a serosa, 53,4% (8/15) a submucosa, e em 40,0% (6/15) estendia-se até a mucosa. Em três casos (20,0%) visualizou-se invasão de células neoplásicas em vasos linfáticos. Na IHQ caracterizavam-se por marcação anti-actina de músculo liso forte e difusa intracitoplasmática.

Os GISTS [26,8% (11/41)] foram visualizados majoritariamente no IG [63,6% (7/11)], no qual cinco deles estavam ceco. Nos outros dois casos não foi possível identificar o exato segmento. Histologicamente 54,5% (6/11) apresentavam padrão fusiforme e 36,4% (4/11) epitelióide. Um neoplasma (9,1%) apresentou células com alto pleomorfismo e acentuada quantidade de vacúolos em meio a um estroma basofílico fibroso a mixomatoso, e assim foi classificado como pleomórfico. Todos os neoplasmas eram densamente celulares e vacuolização perinuclear foi frequentemente observada. Em 81,8% (9/11) dos casos notaram-se em meio ao tumor áreas extensas de necrose, por vezes associadas à hemorragia. Originavam-se em meio à camada muscular, com ocasional invasão das camadas mucosa, submucosa e serosa [36,4% (4/11)]. Em cinco casos não se pode precisar a camada afetada devido ao tamanho reduzido da amostra. Em um caso (9,1%) observou-se invasão de vasos linfáticos. Na IHQ apresentaram marcação positiva para c-Kit intracitoplasmática, a qual era difusa (10/11) ou multifocal (1/11) e variou de fraca (5/11), moderada (2/11) a intensa (4/11).

Nos tumores benignos de origem da musculatura lisa, os leiomiomas [19,5% (8/41)], as células neoplásicas formavam estrutura nodular bem delimitada restrita à camada muscular. Arranjavam-se em feixes mimetizando o tecido muscular liso normal, com baixo pleomorfismo. Na IHQ, todos os casos apresentaram marcação para actina de músculo liso, a qual era predominantemente difusa e fraca, com áreas multifocais de marcação moderada intracitoplasmática.

Os sarcomas classificados como não-GISTs/não-leiomiossarcomas apresentaram diferentes padrões morfológicos e de imunorreatividade na IHQ. Dos cinco (5,7%), quatro foram positivos na vimentina, e três positivos também para a proteína S-100. Os neoplasmas positivos no S-100 localizavam-se no ID e apresentaram dois padrões morfológicos. Dois deles eram compostos por células mesenquimais dispostas em feixes em diversas direções, densamente celular, com moderadas anisocitose e anisocariose. Em meio ao tumor, observavam-se ainda extensas áreas de hemorragia e necrose. Foi visualizado outro padrão, caracterizado por células mesenquimais arranjadas de maneira frouxa em meio a um estroma mixomatoso, com menor densidade celular e anisocitose e anisocariose acentuadas. Observou-se nesses casos imunomarcação para S-100 citoplasmática moderada e multifocal.

Um sarcoma apresentou imunomarcção anti-CD31, multifocal e discreta, e foi classificado como hemangiossarcoma [1 (1,1%)]. Localizava-se no IG e as células neoplásicas formavam frequentemente espaços vasculares irregulares preenchidos por hemácias, em meio a áreas mais sólidas. Havia moderado pleomorfismo. Apesar do padrão morfológico mesenquimal, um caso (1,1%) não apresentou imunorreatividade para nenhum anticorpo testado (vimentina, c-Kit, actina de músculo liso, S-100).

O fibroma [1 (1,1%)] consistia de proliferação neoplásica bem delimitada sob a submucosa, de células fusiformes arranjadas em feixes, que na coloração de Tricrômico de Masson apresentou intensa reação. Na IHQ demonstrou marcação fraca para vimentina e negativa para actina de músculo liso.

3.4 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas hematopoiéticos

Dentre os diagnósticos de NGI, 5,7% (5/88) corresponderam a origem hematopoiética. Destes, 80,0% (4/5) localizavam-se em região colorretal. Os mastocitomas [3 (3,4%)] localizavam-se na submucosa, com infiltração na mucosa, muscular e serosa [66,7%(2/3)]. Todos se caracterizavam por células redondas raramente contendo grânulos, com moderado pleomorfismo e imunorreatividade para c-Kit, a qual era multifocal e moderada, intracitoplasmática.

Os plasmocitomas [2 (2,3%)] eram compostos por células redondas com citoplasma amplo e eosinofílico com núcleos excêntricos, localizados na submucosa e estendendo-se à camada muscular. Em um caso observou-se abundante deposição de amiloide, o qual foi evidenciado pela coloração histoquímica Vermelho-congo. Na IHQ, um caso apresentou marcação para CD79, fraca e multifocal. Em nenhum deles visualizou-se invasão de vasos linfáticos.

3.5 Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos dos neoplasmas neuroendócrinos

Em 1,1% (1/88) dos casos identificou-se neoplasma de origem neuroendócrina no estômago. As células neoplásicas formavam proliferação pouco delimitada na submucosa e muscular, formada por células arranjadas em ninhos sólidos sustentados por escasso estroma fibrovascular com moderado pleomorfismo. Visualizaram-se áreas multifocais de necrose e mineralização intratumorais. Na IHQ observou-se marcação multifocal fraca intracitoplasmática para enolase neurônio-específica.

4 DISCUSSÃO

O presente trabalho descreve os achados epidemiológicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos dos NGI de cães. Os NGI totalizaram 0,6% das neoplasias e 0,4% do total de biópsias de caninos no período analisado, concordando com o fato de que estes neoplasmas compreendem um diagnóstico pouco comum nesta espécie. Trabalhos anteriores apontam frequências de 0,2% a 3,0% (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; PENNINCK; MOORE; GLIATTO, 1998; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

Cães de raça pura foram afetados em 64,8% dos casos. Uma vez que a casuística do laboratório compreende principalmente cães sem raça definida, é possível inferir que NGI ocorrem principalmente em cães de raça pura, assim como relatado por outros estudos (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; MAAS *et al.*, 2007). Entretanto, houve um grande número de diferentes raças afetadas, portanto, uma frequência racial conclusiva não pode ser estabelecida neste estudo. A idade variou de um a 17 anos, com a mediana de idade de oito anos para neoplasmas epiteliais e de 10 anos para mesenquimais, o que confirma que estes neoplasmas ocorrem majoritariamente em cães adultos de meia idade a idosos (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; SWANN; HOLT, 2002; BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; RUSSELL *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013). Um estudo anterior relata que neoplasmas epiteliais tendem a ocorrer em animais um pouco mais jovens quando comparado aos mesenquimais (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977). Machos foram mais acometidos que fêmeas, assim como relatado em outros estudos (PAOLONI; PENNINCK; MOORE, 2002; RUSSELL *et al.*, 2007), porém os motivos desta predisposição ainda são desconhecidos.

Embora alguns trabalhos cite que a ocorrência de NGI de origem epitelial seja mais comum que de mesenquimal (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; HEAD *et al.*, 2003), neste estudo a frequência de diagnósticos mesenquimais foi semelhante aos epiteliais, o que demonstra que os neoplasmas mesenquimais também são importantes em cães e devem ser considerados sempre como um diagnóstico diferencial. Porém, quando os diagnósticos são analisados individualmente, os carcinomas foram os mais frequentes, seguido pelo leiomiossarcoma, semelhante ao relatado por outros autores (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; HEAD *et al.*, 2003; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

Os neoplasmas envolveram o estômago em 15,9% dos casos e o intestino em 84,1%, sendo o IG o segmento mais afetado. No presente estudo, os neoplasmas malignos foram os mais frequentes. Pesquisadores relatam que a apresentação maligna é considerada mais

comum no trato gastrointestinal quando comparados aos benignos (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977). Além disso, aproximadamente 75% dos neoplasmas gástricos são malignos, e neoplasmas intestinais benignos são raros (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Independentemente da origem celular, os tumores benignos são diferenciados dos carcinomas e sarcomas baseados na presença de invasão ou metástases, aumento da celularidade com alta relação núcleo/citoplasma, anisocitose e anisocariose e abundantes ou atípicas figuras de mitose (GILLESPIE *et al.*, 2011).

Os neoplasmas benignos corresponderam quase na sua totalidade aos neoplasmas de origem muscular lisa. Os leiomiomas ocorreram na mesma frequência no estômago e no intestino, diferente do que é citado na literatura, na qual autores relatam que o local mais comum desta neoplasia é no estômago (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Porém, considerando que foram utilizadas neste estudo amostras de biópsias e que leiomiomas usualmente não levam a ocorrência de sinais clínicos e não são removidos cirurgicamente, o número de leiomiomas gástricos provavelmente está subestimado neste estudo. O estômago foi um importante local de desenvolvimento de neoplasmas de musculatura lisa, no qual este tipo foi o único na categoria mesenquimal visualizado neste órgão, resultado semelhante ao de outro estudo (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003). Neoplasmas benignos como os fibromas e adenomas são raramente relatados em cães (HEAD *et al.*, 2003; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Como em humanos os adenomas são considerados lesões pré-malignas, pode-se especular que os adenomas ocorrem em cães com muito maior frequência do que é reconhecido, porém são detectados apenas quando já ocorreu transformação para adenocarcinoma resultando em doença clínica (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

Os adenocarcinomas são os principais NGI de cães (HEAD *et al.*, 2003). Neste estudo estes neoplasmas corresponderam a metade dos diagnósticos do estômago, e a 44,5% dos diagnósticos do intestino. O adenocarcinoma papilar foi o principal padrão histológico. Os adenocarcinomas tendem a ocorrer com mais frequência no IG quando comparado ao ID, principalmente em região colorretal (HEAD *et al.*, 2003). Devido ao diagnóstico geralmente tardio, frequentemente os adenocarcinomas já estão em um estado avançado de evolução, presentes nas camadas mais profundas do estômago e do intestino (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017), o que explica o grande número de casos com infiltração nas camadas intestinais e de invasão linfática nos neoplasmas epiteliais observada nesse estudo. Em humanos o tipo de arranjo parece estar envolvido na chance de metástases, uma vez que neoplasmas que se projetam ao lúmen possuem chance muito menor de metástase que aquelas

que crescem primeiro em direção à parede gástrica ou intestinal (GOLDBLUM, 2018). Em nosso estudo, dos 17 adenocarcinomas papilares, apenas cinco infiltravam as camadas mais profundas e vasos linfáticos, enquanto que os que apresentavam arranjo acinar, mucinoso, em anel de sinete e indiferenciado invadiam e substituíam frequentemente as camadas intestinais, e todos invadiam os vasos linfáticos. Portanto, neoplasmas nestes arranjos devem ser considerados como neoplasmas com um maior potencial metastático quando comparados aos papilares.

Todos os carcinomas apresentaram imunomarcção para pancitoqueratina, sem diferenças entre os arranjos. A IHQ para pancitoqueratina é uma importante ferramenta diagnóstica para confirmar a origem epitelial das células, principalmente nos casos em que os neoplasmas estão muito indiferenciados, bem como para facilitar a identificação de células infiltrativas nas camadas mais profundas ou de raras células neoplásicas em pequenas amostras de biópsias (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

Em relação aos neoplasmas mesenquimais, muitas vezes GISTs assemelham-se principalmente aos leiomiossarcomas na histologia, especialmente quando apresentam padrão fusiforme, e portanto a IHQ é indicada para um diagnóstico definitivo mais acurado (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Uma marcação positiva para c-Kit define o diagnóstico de GIST, e a falta de imunomarcção deste anticorpo e marcação para actina de músculo liso define um leiomiossarcoma (MAAS *et al.*, 2007; RUSSELL *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013). Porém, a reatividade apenas para actina de músculo liso não deve ser utilizada para um diagnóstico definitivo de leiomiossarcoma, uma vez que uma parte dos GISTs podem expressar também marcadores de músculo liso e de origem neural (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; MAAS *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013).

Estudos anteriores à identificação dos GISTs consideram que os neoplasmas mesenquimais não linfoides mais comuns do trato gastrointestinal de cães sejam os neoplasmas de origem da musculatura lisa (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; PENNINGCK; MOORE; GLIATTO, 1998), dentre os quais o leiomiossarcoma é o principal sarcoma não linfoide (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; LAROCK; GINN, 1997; CRAWSHAW *et al.*, 1998). Porém, após a descoberta da expressão de c-Kit pelos GISTs, alguns estudos reclassificaram por meio da IHQ os tumores, e demonstraram que a maioria destes correspondiam a GISTs (MAAS *et al.*, 2007; RUSSELL *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013), e que estes diagnósticos de leiomiossarcomas são superestimados. Entretanto, no presente estudo, 36,6% dos neoplasmas mesenquimais foram classificados como

leiomiossarcomas, baseados na falta de marcação para c-Kit e marcação para actina de músculo liso, e apenas 26,8% como GISTs, dado este que corrobora com a literatura (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; LAROCK; GINN, 1997; CRAWSHAW *et al.*, 1998).

Os leiomiossarcomas localizavam-se principalmente no IG, o que difere de alguns estudos que consideram esses neoplasmas raros no intestino (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003), e frequentes no estômago (RUSSELL *et al.*, 2007). Outro estudo descreve o ceco como a principal localização dos leiomiossarcomas (COHEN; POST; WRIGHT, 2003). Os leiomiossarcomas possuem um crescimento lento e frequentemente possuem áreas de necrose e hemorragia, (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017), assim como observado neste estudo.

Os GISTs neste estudo compreenderam o segundo neoplasma mesenquimal mais frequente, diferentemente ao descrito por alguns autores (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; MAAS *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013). Enquanto em humanos os GISTs são mais comuns no estômago, (MIETTINEN; LASOTA, 2001), em caninos os GISTs são encontrados preferencialmente no intestino, com apenas alguns relatos no estômago (BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; MAAS *et al.*, 2007; RUSSELL *et al.*, 2007; GILLESPIE *et al.*, 2011; HAYES *et al.*, 2013). Em nosso estudo a principal localização dos GISTs foi IG, principalmente no ceco.

Os GISTs em cães podem ser classificados histologicamente baseados em quatro padrões morfológicos, conforme descrito em humanos: fusiforme, mixoide, fascicular e epitelióide. É comum mais de um padrão em um mesmo neoplasma. Nestes casos o padrão é definido de acordo com o padrão mais proeminente (MIETTINEN; LASOTA, 2001; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Apenas os tipos fusiforme e epitelióide são descritos em cães, e o fusiforme é relatado como o mais comum (HAYES *et al.*, 2013), assim como observado em nosso estudo. Ainda, vacuolização perinuclear é uma característica comum dos GISTs e ocasionalmente é muito proeminente (MIETTINEN *et al.*, 2003), podendo ser considerada um fator importante para diferenciá-los de outros sarcomas histologicamente. Estes tumores envolveram a túnica muscular com frequente infiltração transmural e necrose intratumoral, assim como descrito por Frost *et al.* (2003). Na IHQ observou-se marcação que variou de fraca a forte, mas frequentemente difusa, com apenas um caso multifocal. Alguns autores sugerem que GISTs no padrão epitelióide tendem a apresentar uma marcação menos uniforme e fraca (MIETTINEN *et al.*, 2003), porém em nosso estudo não pudemos relacionar a marcação com o tipo histológico provavelmente pelo número pequeno de casos.

Cinco neoplasmas foram classificados como não-GIST/não-leiomiossarcoma baseado na ausência de marcação no c-Kit e na actina do músculo liso. Destes, quatro foram positivos para vimentina, semelhante ao encontrado por outros autores (RUSSELL *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2013). Três casos dos neoplasmas não-GIST/não-leiomiossarcoma também foram positivos para a proteína S-100, e possuem padrão histológico de tumores de bainha de nervo periférico, lembrando o padrão Antoni A e/ou Antoni B. Porém, uma vez que nem sempre a origem neurogênica destes neoplasmas possa ser confirmado, atualmente sugere-se que os tumores de bainha de nervo periférico sejam incluídos no grupo não-GISTs/não-leiomiossarcomas, com positividade para S-100 (HAYES *et al.*, 2013). Embora relativamente comum em outras localizações, os tumores de bainha de nervo são raramente descritos no trato gastrointestinal de cães (SCHÖNIGER; SUMMERS, 2009).

Hemangiossarcomas intestinais primários são raros em animais, e sempre deve ser eliminada a possibilidade de metástase a partir de outras localizações. Embora o ID seja considerado a principal localização (HEAD *et al.*, 2003), neste estudo o hemangiossarcoma localizava-se no IG. Histologicamente estes neoplasmas são formados por células fusiformes que formam espaços vasculares irregulares e que expressam o antígeno CD31, o qual é um importante marcador uma vez que é expressado por células endoteliais e é conservado em caso de neoplasias originadas destas células (FERRER *et al.* 1995; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017).

Em relação aos neoplasmas hematopoiéticos, quatro casos se desenvolveram no IG, sendo dois mastocitomas e dois plasmocitomas, e um caso de mastocitoma estava localizado no ID. Mastocitomas no trato intestinal são pouco frequentes em cães e tendem a ser mais agressivos que os cutâneos (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Histologicamente as células neoplásicas infiltravam a mucosa a serosa, com um caso substituindo todas as camadas, assim como é relatado por outros autores nestes neoplasmas ((PATNAIK; TWEDT; MARRETTA, 1980; OZAKI *et al.*, 2002). Neste trabalho os neoplasmas apresentaram marcação moderada para c-Kit. Embora em todos os casos o pleomorfismo celular tenha sido considerado moderado, autores relatam que não há relação entre o pleomorfismo celular e a expressão de c-Kit (OZAKI *et al.*, 2002). Enquanto em mastócitos normais a expressão de c-Kit normalmente seja membranar, nos mastocitomas a marcação tende a ser citoplasmática (REGUERA *et al.*, 2000), assim como observado no presente trabalho.

Os plasmocitomas extramedulares localizados no trato gastrointestinal são raros em cães e são encontrados mais frequentemente no IG (RAMOS-VARA *et al.*, 1998). Histologicamente são facilmente reconhecidos como tumores de células redondas com

citoplasma eosinofílico e núcleos excêntricos (KUPANOFF; POPOVITCH; GOLDSCHMIDT, 2006; MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017) e a IHQ anti-CD79a para linfócitos B pode ser utilizada como método diagnóstico auxiliar quando há pouca diferenciação (RAMOS-VARA *et al.*, 1998). Um neoplasma deste estudo não apresentou reatividade para CD79a, provavelmente pelo tempo prolongado de fixação da amostra, porém a morfologia celular característica somada a deposição de amiloide evidenciada pela coloração vermelho-congo foi considerada suficiente para o diagnóstico. Embora pouco frequente, plasmocitomas podem apresentar deposição de amiloide (ROWLAND *et al.*, 1991; KUPANOFF; POPOVITCH; GOLDSCHMIDT, 2006). Embora a maioria dos neoplasmas sejam restritos à submucosa, alguns plasmocitomas exibem um comportamento mais agressivo incluindo a invasão da túnica muscular (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016).

Os neoplasmas neuroendócrinos originam-se a partir das células enteroendócrinas gastrointestinais e ocorrem com pouca frequência no trato gastrointestinal (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Embora existam poucos relatos, estes tumores demonstram ter um comportamento agressivo. Em um estudo que avaliou quatro carcinoides intestinais, todos possuíam metástases distantes (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1980). O uso da morfologia celular não é indicado para avaliar o prognóstico, pois apesar do comportamento maligno que estes neoplasmas frequentemente demonstram, apenas em alguns casos apresentam atipia celular e altos índices mitóticos (MUNDAY; LÖHR; KIUPEL, 2017). Para confirmar a origem neuroendócrina é indicada a realização de IHQ para cromogranina A, enolase neurônio específica, sinaptofisina ou PGP 9.5 (HEAD *et al.*, 2003, SAKO *et al.*, 2003). No presente estudo, a marcação para enolase neurônio específica foi suficiente para o diagnóstico.

5 CONCLUSÃO

A partir deste estudo conclui-se que os neoplasmas gastrointestinais ocorreram principalmente em cães adultos a idosos, majoritariamente de raça pura e observado com maior frequência em machos. Acometem mais o intestino que o estômago, sendo principalmente no intestino grosso. O reto foi o principal local para desenvolvimento de carcinomas enquanto que o ceco foi o principal sítio de sarcomas. O estômago foi um importante local de desenvolvimento de neoplasmas de musculatura lisa, principalmente leiomiomas.

Os diagnósticos de NGI foram principalmente de neoplasmas malignos. O principal tumor observado foi adenocarcinoma, seguido por leiomiossarcoma e GIST. Os neoplasmas epiteliais demonstraram um potencial maior de invasão linfática enquanto que os mesenquimais aparentaram ser mais expansivos, com necrose e hemorragia intratumorais.

A imuno-histoquímica mostrou ser uma ferramenta importante para a confirmação do tipo celular envolvido no NGI, bem como para a identificação de células neoplásicas infiltravas no caso dos carcinomas e uma técnica indispensável para o diagnóstico definitivo de sarcomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, F. E. Effect of diet, life style, and other environmental/chemopreventive factors on colorectal cancer development, and assessment of the risks. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 22, n. 2, p. 91-148, 2004.
- BETTINI, G.; MORINI, M.; MARCATO, P. S. Gastrointestinal spindle cell tumours of the dog: histological and immunohistochemical study. **Journal of Comparative Pathology**, v. 129, n. 4, p. 283-293, 2003.
- BOYLE, P.; LANGMAN, J. S. Epidemiology. **Bmj**, v. 321, n. 7264, p. 805-808, 2000.
- COHEN, M.; POST, G. S.; WRIGHT, J. C. Gastrointestinal leiomyosarcoma in 14 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 1, p. 107-110, 2003.
- CRAWSHAW, J. *et al.* Prognosis for dogs with nonlymphomatous, small intestinal tumors treated by surgical excision. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 34, n. 6, p. 451-456, 1998.
- DEMETRI, G. D. *et al.* Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 7, p. 472-480, 2002.
- FRGELECOVÁ, L. *et al.* Canine gastrointestinal tract tumours: a retrospective study of 74 cases. **Acta Veterinaria Brno**, v. 82, n. 4, p. 387-392, 2014.
- FROST, D.; LASOTA, J.; MIETTINEN, M. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 1, p. 42-54, 2003.
- GILLESPIE, V. *et al.* Canine gastrointestinal stromal tumors: immunohistochemical expression of CD34 and examination of prognostic indicators including proliferation markers Ki67 and AgNOR. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 283-291, 2011.
- GOLDBLUM, J. R. Large Bowel. *In*: GOLDBLUM, J. R. *et al.* (Eds.). **Rosai and Ackerman's Surgical Pathology**. 11 ed. Philadelphia: Elsevier, 2018, cap. 17, p. 648-702.
- HAYES, S. *et al.* Classification of canine nonangiogenic, nonlymphogenic, gastrointestinal sarcomas based on microscopic, immunohistochemical, and molecular characteristics. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 5, p. 779-788, 2013.
- HEAD, K. W. *et al.* **Histological Classification of Tumors of the Alimentary System of Domestic Animals**. 2 ed. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology. Washington, 2003, v. X, 257p.
- KINDBLUM, L. G. *et al.* Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. **The American Journal of Pathology**, v. 152, n. 5, p. 1259, 1998.

KUPANOFF, P. A.; POPOVITCH, C. A.; GOLDSCHMIDT, M. H. Colorectal plasmacytomas: a retrospective study of nine dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 42, n. 1, p. 37-43, 2006.

LAROCK, R. G.; GINN, P. E. Immunohistochemical staining characteristics of canine gastrointestinal stromal tumors. **Veterinary Pathology**, v. 34, n. 4, p. 303-311, 1997.

MAAS, C. P. H. J. *et al.* Reclassification of small intestinal and cecal smooth muscle tumors in 72 dogs: clinical, histologic, and immunohistochemical evaluation. **Veterinary Surgery**, v. 36, n. 4, p. 302-313, 2007.

MIETTINEN, M.; LASOTA, J. Gastrointestinal stromal tumors—definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. **Virchows Archiv**, v. 438, n. 1, p. 1-12, 2001.

MIETTINEN, M. *et al.* Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. **Polish Journal of Pathology**, v. 54, n. 1, p. 3-24, 2003.

MUNDAY, J. S.; LÖHR, C.V.; KIUPEL, M. Tumors of the alimentary tract. *In*: MEUTEN, D. J. (Ed.) **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, 2017, cap. 13, p. 499-601.

OZAKI, K. *et al.* Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 5, p. 557-564, 2002.

PENNINCK, D. G.; MOORE, A. S.; GLIATTO, J. Ultrasonography of canine gastric epithelial neoplasia. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 39, n. 4, p. 342-348, 1998.

PAOLONI, M. C.; PENNINCK, D. G.; MOORE, A. S. Ultrasonographic and clinicopathologic findings in 21 dogs with intestinal adenocarcinoma. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 43, n. 6, p. 562-567, 2002.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; JOHNSON, G. F. Canine gastrointestinal neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 14, n.6, p. 547-1977.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; JOHNSON, G. F. Canine gastric adenocarcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 15, n. 5, p. 600-607, 1978.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; JOHNSON, G. F. Canine intestinal adenocarcinoma and carcinoid. **Veterinary Pathology**, v. 17, n. 2, p. 149-163, 1980.

PATNAIK, A. K.; TWEDT, D. C.; MARRETTA, S. M. Intestinal mast cell tumour in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 21, n. 4, p. 207-212, 1980.

PENNINCK, D. G.; MOORE, A. S.; GLIATTO, J. Ultrasonography of canine gastric epithelial neoplasia. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 39, n. 4, p. 342-348, 1998.

RAMOS-VARA, J. A. *et al.* Intestinal multinodular A λ -amyloid deposition associated with extramedullary plasmacytoma in three dogs: Clinicopathological and immunohistochemical studies. **Journal of Comparative Pathology**, v. 119, n. 3, p. 239-249, 1998.

REGUERA, M. J. *et al.* Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. **The American Journal of Dermatopathology**, v. 22, n. 1, p. 49-54, 2000.

ROWLAND, P. H. *et al.* Cutaneous plasmacytomas with amyloid in six dogs. **Veterinary Pathology**, v. 28, n. 2, p. 125-130, 1991.

RUSSELL, K. N. *et al.* Clinical and immunohistochemical differentiation of gastrointestinal stromal tumors from leiomyosarcomas in dogs: 42 cases (1990–2003). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 9, p. 1329-1333, 2007.

SAKO, T. *et al.* Immunohistochemical evaluation of a malignant intestinal carcinoid in a dog. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 2, p. 212-215, 2003.

SCHÖNIGER, S.; SUMMERS, B. A. Localized, plexiform, diffuse, and other variants of neurofibroma in 12 dogs, 2 horses, and a chicken. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 5, p. 904-915, 2009.

SWANN, H. M.; HOLT, D. E. Canine gastric adenocarcinoma and leiomyosarcoma: a retrospective study of 21 cases (1986–1999) and literature review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n. 2, p. 157-164, 2002.

UZAL, F. A.; PLATTNER, B. L.; HOSTETTER, J. M. Alimentary system. *In*: MAXIE, M. G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6 ed. Ontario: Elsevier, 2016, v. 2, cap. 1, p. 1-257.

VAN OOSTEROM, M. A. T. *et al.* Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. **The Lancet**, v. 358, n. 9291, p. 1421-1423, 2001.