

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA**  
**COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Paula Baêta da Silva Rios Turquete

**AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DO STATUS NODAL EM CÃES COM  
MASTOCITOMA CUTÂNEO**

Belo Horizonte

2024

Paula Baêta da Silva Rios Turquete

**AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DO STATUS NODAL EM CÃES COM  
MASTOCITOMA CUTÂNEO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo dos Santos Horta.

Coorientadora: Dra. Ayisa Rodrigues de Oliveira

Belo Horizonte  
2024

T957a Turquete, Paula Baêta da Silva Rios,1989 -  
Avaliação prognóstica do Status Nodal em cães com Mastocitoma  
Cutâneo/ Paula Baêta da Silva Rios Turquete.- 2024.  
68f: il.

Orientador: Rodrigo dos Santos Horta  
Coorientadora: Ayisa Rodrigues de Oliveira  
Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da  
UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra.  
Bibliografia: f. 62 - 67  
Anexos: f.68.

1. Cão - Doenças - Teses - 2. Tumores em animais - Teses - I. Horta,  
Rodrigo dos Santos - II. Oliveira, Ayisa Rodrigues de - III.Universidade  
Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 639.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569  
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

PAULA BAËTA DA SILVA RIOS TURQUETE

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS.

Aprovado(a) em 25 de março de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Rodrigo dos Santos Horta - Orientador(a)

Dr.(a). Ayisa Rodrigues de Oliveira

Dr.(a). Gleidice Eunice Lavalle

Dr.(a). Felipe Augusto Ruiz Sueiro



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo dos Santos Horta, Servidor(a)**, em 25/03/2024, às 12:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ayisa Rodrigues de Oliveira, Professora do Magistério Superior**, em 26/03/2024, às 12:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Augusto Ruiz Sueiro, Usuário Externo**, em 26/03/2024, às 14:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gleidice Eunice Lavalle, Usuária Externa**, em 01/04/2024, às 16:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 3134895 e o código CRC 763C6338.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, por estar sempre presente na minha vida, pelas pessoas especiais que coloca em meu caminho, por me permitir viver e realizar mais um sonho, por ser minha fortaleza e direcionar meus caminhos.

Aos meus pais Amauri e Maria Inês que nunca mediram esforços para me apoiarem em todas as etapas da minha vida. Em especial meu pai que enfrentou comigo toda semana, a BR 040 em seus 145 km de ida, para me deixar na UFMG. Sem vocês, nada disso seria possível!

Ao Diego, meu esposo, meu amor e companheiro, por estar sempre comigo. Agradeço o apoio, incentivo e paciência, você é sem dúvidas, a minha melhor escolha!

Ao meu orientador, professor Rodrigo Horta, pela oportunidade em me deixar fazer parte de sua equipe, pelo voto de confiança, pela paciência, por me permitir realizar esse trabalho e esse sonho. Obrigada, por ser esse excelente profissional, exercendo a profissão brilhantemente, deixando bons exemplos e grande admiração de quem o conhece. Muito obrigada, por tudo!

A minha coorientadora professora Ayisa Rodrigues Oliveira, pela leitura das lâminas do projeto e pelos ensinamentos. Obrigada também pela paciência e disponibilidade!

A banca, professora Ayisa Rodrigues Oliveira, Dr. Felipe Augusto Ruiz Sueiro, Dra Gleidice Eunice Lavallo e Dra. Mariana Pádua Costa pelo aceite a participação da banca e a contribuição para esse trabalho. Muito obrigada!

A toda equipe do professor Rodrigo, Bruna, Isabella, Paloma, Mariana Figueiredo, Pedro e Tati pelas trocas de experiências, por estarem sempre aptos a ajudar, pelas conversas, pelo apoio e pelo trabalho em equipe. Vocês fazem parte desse trabalho e sempre vão estar guardados em meu coração. Agradeço em especial a Bruna, que com sua experiência em oncologia me ajudou com o trabalho escrito, tirando minhas dúvidas sobre o mastocitoma.

Aos meus amigos Heloisa Pedroza e Antônio Catunda que não me deixaram desistir deste sonho e ativamente me ajudaram a realizá-lo. Em especial a Helô pelos conselhos, pelas caronas e companhia nesses dois anos. Vocês são especiais!

A Nayara do setor de patologia da UFMG, pela ajuda na realização deste trabalho, com inúmeros cortes nos blocos de parafina, contribuição com a análise histopatológica, pela paciência e disponibilidade. Obrigada!

Agradeço minha cunhada Ariani e sua família por me acolher em sua casa, toda semana, contribuindo para eu possa estar por mais tempo na UFMG.

A minha família de uma forma geral, que me apoiou e sempre estão ao meu lado, sendo sinônimos de amor e união, é muito bom saber que posso contar com vocês!

Aos animais, em especial Jenner, Malibu, Mel e o Luty (meus amores) que foram minha maior inspiração na escolha da minha profissão e área de atuação.

## RESUMO

Mastocitomas são neoplasias cutâneas frequentes em cães, que apresentam comportamento biológico e prognóstico variável. A partir de avaliação clínica, características histopatológicas do tumor e linfonodo é possível determinar fatores prognósticos relacionados ao comportamento biológico, direcionando o tratamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a importância prognóstica do grau de comprometimento do linfonodo em cães com mastocitoma cutâneo, após a remoção cirúrgica do MCT primário e seus linfonodos regionais, analisando as taxas de sobrevida e os padrões de recorrência do tumor. Foram incluídos cães atendidos no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG (Brasil) e Veterinary Medical Centre, City University of Hong Kong (China), com mastocitoma cutâneo que foram submetidos a cirurgia com exérese do tumor e linfadenectomia, que foram ou não submetidos à quimioterapia adjuvante. Realizou-se a recuperação do prontuário médico para registro da raça, idade, sexo, peso, localização das lesões, tamanho das lesões, número de lesões, avaliação clínica do linfonodo, histórico de mastocitomas prévios, exames diagnósticos, tratamentos realizados e histórico de recorrência, intervalo livre de doença e sobrevida. O estadiamento clínico foi realizado conforme classificação TNM preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Posteriormente foram realizados cortes histológicos e graduação histopatológica seguindo os critérios de Patnaik (1984) e Kiupel et al. (2011), avaliando ainda margens cirúrgicas, extensão e distribuição predominante (cordão ou manto), contagem de células multinucleadas e figuras mitóticas. A avaliação dos linfonodos seguiu os critérios propostos por Weishaar et al. (2014). Um total de 42 cães foram incluídos no estudo, sendo 42,8% (18/42) sem raça definida e 57,2% (24/42) de raças variadas. Foi observado uma maior ocorrência dos tumores localizados em região de tronco 49% (24/49), membros 44,9% (22/49), seguido de locais com menor incidência 6,1% (3/49), como prepúcio (n=1), bolsa escrotal (n=1) e pina da orelha (n=1). Os 42 cães foram divididos em grupos de acordo com a classificação de Kiupel em baixo grau 71,4% (30/42) e alto grau 28,6% (12/42), de acordo com o status nodal 40,5% (17/42) classificados como HN0, 14,3% (6/42) classificados como HN1, 14,3% (6/42) classificados como HN2 e 30,9% (13/42) classificados como HN3 e também agrupando o status nodal com a graduação histopatológica do tumor, nos grupos que tiveram 5 ou mais casos, como HN0 baixo grau 35,7% (15/42), HN1 baixo grau 11,9% (5/42), HN3 baixo grau 14,3% (6/42) e HN3 alto grau 16,7% (7/42). Os resultados indicaram que cães com mastocitoma cutâneo de alto grau e metástase no linfonodo HN3 tiveram menor tempo de sobrevida e intervalo livre de doença quando comparado com os outros grupos. Houve correlação positiva moderada entre a ocorrência de óbito e graduação histopatológica do tumor em alto grau de Kiupel e grau III de Patnaik ( $p=0,0093$ ,  $rs=0,4455$ ) e correlação positiva moderada também na ocorrência de óbito com a classificação da metástase no linfonodo ( $p=0,0094$ ,  $rs=0,4211$ ). Conclui-se que em cães portadores de mastocitoma cutâneo a avaliação do status metastático do linfonodo juntamente com a graduação histopatológica do tumor é importante para determinação prognóstica, melhor decisão terapêutica e para melhor controle da doença.

Palavras-chave: cão; neoplasias; linfonodo; metástase; mastócitos.

## ABSTRACT

Mast cell tumors are common skin neoplasms in dogs that present variable biological behavior and prognosis. Through clinical evaluation, histopathological characteristics of the tumor, and lymph node assessment, it is possible to determine prognostic factors related to biological behavior, driving treatment decisions. The aim of this study was to evaluate the prognostic importance of lymph node involvement in dogs with cutaneous mast cell tumors, following surgical removal of the primary MCT and its regional lymph nodes, analyzing survival rates and tumor recurrence patterns. The study included dogs treated at the Veterinary Hospital of the School of Veterinary Medicine of UFMG (Brazil) and the Veterinary Medical Centre, City University of Hong Kong (China), with cutaneous mast cell tumors who underwent tumor excision surgery and lymphadenectomy, with or without adjuvant chemotherapy. Retrieval of medical records was performed to record breed, age, sex, weight, lesion location, lesion size, number of lesions, clinical lymph node evaluation, history of previous mast cell tumors, diagnostic exams, treatments performed, recurrence history, disease-free interval, and survival. Clinical staging was performed according to the TNM classification recommended by the World Health Organization (WHO). Subsequently, histological sections were made and histopathological classification of the tumor was performed, evaluating surgical margins, extent, and predominant distribution (cord or mantle), multinucleated cell count, and mitotic figures. Lymph node evaluation followed the criteria proposed by Weishaar et al. (2014). A total of 42 dogs were included in the study, with 42.8% (18/42) mixed-breed and 57.2% (24/42) various breeds. A higher occurrence of tumors was observed in the trunk region 49% (24/49), limbs 44.9% (22/49), followed by sites with lower incidence 6.1% (3/49), such as prepuce (n=1), scrotal sac (n=1), and pinna of the ear (n=1). The 42 dogs were divided into groups according to Kiupel's classification into low grade 71.4% (30/42) and high grade 28.6% (12/42), according to nodal status 40.5% (17/42) classified as HN0, 14.3% (6/42) classified as HN1, 14.3% (6/42) classified as HN2 and 30.9% (13/42) classified as HN3 and also grouping the nodal status with the histopathological grade of the tumor, in groups that had 5 or more cases, such as HN0 low grade 35.7% (15/42), HN1 low grade 11.9% (5/42), HN3 low grade 14, 3% (6/42) and high grade HN3 16.7% (7/42). The results indicated that dogs with high-grade cutaneous mast cell tumors and lymph node metastasis HN3 had shorter survival time and disease-free interval compared to other groups. There was a moderate positive correlation between mortality and histopathological grading of the tumor in high-grade Kiupel and grade III Patnaik ( $p=0.0093$ ,  $r_s=0.4455$ ) and a moderate positive correlation also between mortality and lymph node metastasis classification ( $p=0.0094$ ,  $r_s=0.4211$ ). It is concluded that in dogs with cutaneous mast cell tumors, assessment of lymph node metastatic status together with histopathological grading of the tumor is important for prognostic determination, better therapeutic decision-making, and disease control.

Keywords: dog, neoplasms, lymph node, metastasis, mast cells.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Caracterização histopatológica das amostras de tumores dos cães deste estudo, para a classificação dos mastocitomas (MCT), segundo Patnaik *et al.*, (1984) e Kiupel *et al.*, (2010). **(A)** Mastocitoma bem delimitado chegando até a derme profunda, classificado como baixo grau e grau II, HE, 100X. **(B)** Mastocitoma bem diferenciado, células neoplásicas com moderado pleomorfismo celular, separadas por estroma de colágeno classificada como baixo grau e grau II, HE, 400X. **(C)** Mastocitoma, com pleomorfismo acentuado e grânulos intracitoplasmático pouco evidentes, presença de figuras de mitose (seta) e de célula cariomegálica (ponta de seta) classificado como alto grau e grau III, HE, 400X. **(D)** Mastocitoma, com pleomorfismo acentuado e grânulos intracitoplasmático pouco evidentes, presença de células binucleadas (\*), classificado como alto grau e grau III, HE, 400X. 35

Figura 2: Fotomicrografias de cortes histológicos de linfonodos deste estudo para a classificação de metástases de mastocitoma segundo Weishaar *et al.* (2014). **(A)** linfonodo classificado como HN0, parênquima preservado com presença de linfócitos, HE, 400X. **(B)** linfonodo classificado como HN0, onde foram observados raros mastócitos individualizados (seta), Giemsa, 400X. **(C)** linfonodo classificado como HN1, com parênquima preservado com presença de linfócitos, HE, 400X. **(D)** linfonodo classificado como HN1, com mastócitos multifocais distribuídos no parênquima (seta), Giemsa, 400X. 36

Figura 3: Fotomicrografias de cortes histológicos de linfonodos deste estudo para a classificação de metástases de mastocitoma segundo Weishaar *et al.* (2014). **(A)** linfonodo classificado como HN2, com agregados de mastócitos neoplásicos no parênquima, HE, 400X. **(B)** linfonodo classificado como HN2, com agregados de mastócitos neoplásicos, Giemsa, 400X. **(C)** linfonodo classificado como HN3, com agregados de mastócitos levando a perda da arquitetura linfonodal, HE, 400X. **(D)** linfonodo classificado como HN3, com perda da arquitetura linfonodal pelos agregados de mastócitos, Giemsa, 400X. 37

Figura 4: Curva de Kaplan-Meier contendo o tempo de sobrevida dos casos classificados baixo grau (n=30) e alto grau (n=12) com mediana de sobrevida atingida apenas para alto grau com 1292 dias. O tempo de sobrevida foi prolongado em ambos os grupos. Teste de longrank  $p < 0,0001$ . 48

Figura 5: Curva de Kaplan-Meier contendo o intervalo livre de doença dos casos classificados como baixo grau (n=30) e alto grau (n=12) a mediana do intervalo livre de doença não foi atingida em ambos os grupos. O intervalo livre de doença foi prolongado em ambos os grupos. 48

Figura 6: Curva de Kaplan-Meier contendo o tempo de sobrevida dos casos combinando status nodal e graduação tumoral, para grupos com 5 ou mais casos, sendo HN0 baixo grau (n=15), HN1 baixo grau (n=5), HN3 baixo grau (n= 6) e HN3 alto grau (n=7). A mediana de sobrevida foi atingida somente para o grupo HN3 alto grau com 117 dias e o tempo de sobrevida foi prolongado nos demais grupos. Teste de longrank  $p < 0,0001$ . 49

Figura 7: Curva de Kaplan-Meier contendo o intervalo livre de doença dos casos combinando status nodal e graduação tumoral, para grupos com 5 ou mais casos, sendo HN0 baixo grau (n=15), HN1 baixo grau (n=5), HN3 baixo grau (n= 6) e HN3 alto grau (n=7). A mediana do intervalo livre de doença foi atingida somente para o grupo HN3 alto grau com 61 dias e o



tempo do intervalo livre de doença foi prolongado nos demais grupos. Teste de logrank  $p < 0,0001$ .

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema de classificação para avaliação microscópica de metástase ganglionar em cães com mastocitoma.	15
Tabela 2: Correlação entre graduação histológica, aspecto microscópico e sobrevida, segundo Patnaik et. al, 1984.	16
Tabela 3: Sistema de graduação proposto por Kiupel et al. (2011), para o mastocitoma canino.	16
Tabela 4– Classificação TNM preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), para o mastocitoma em cães (Owen 1980).	27
Tabela 5: Classificação da margem histopatológica tumoral	28
Tabela 6.: Características clínicas dos 42 cães com mastocitoma cutâneo incluídos no estudo.	31
Tabela 7.: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo dos grupos de baixo grau e alto grau do estudo.	39
Tabela 8.: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo do grupo combinando o status nodal e graduação HN0 baixo e alto grau e HN1 baixo e alto grau.	44
Tabela 9: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo do grupo combinando o status nodal e graduação HN2 baixo e alto grau e HN3 baixo e alto grau.	46
Tabela 10 - Estatística inferencial (correlação de Spearman) dos 42 cães com MCT cutâneo incluídos no estudo.	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNOR: *Argyrophilic nucleolar organizer regions* (regiões organizadoras nucleares argirofílicas).

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

HV-UFMG: Hospital veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

ILD: Intervalo livre de doença

IM: índice mitótico

IV: Intravenoso

KITr: Receptor KIT ou receptor do fator de células tronco

LN: Linfonodo

LNs: Linfonodos

MCT: Mastocitoma

MCTs: Mastocitomas

MG: Minas Gerais

MULTILAB: Laboratório de unidade multidisciplinar e multiusuária de pesquisa animal

OMS: Organização Mundial de Saúde

%: Percentual

PCNA - *Proliferating cell nuclear antigen* (antígeno nuclear de proliferação celular).

EQT: Eletroquimioterapia

RLN: Linfonodo Regional

RS: correlação de Spearman

RT: Radioterapia

SLN: Linfonodo Sentinela

TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral- $\alpha$

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

VCM: Veterinary Medical Centre

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1.	ASPECTOS CLÍNICOS E COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO MASTOCITOMA CANINO .....	12
2.2.	DIAGNÓSTICO .....	13
2.3.	FATORES PROGNÓSTICOS .....	17
2.4.	TRATAMENTO .....	20
2.5.	STATUS NODAL .....	23
3.	HIPÓTESE .....	25
4.	OBJETIVOS .....	25
4.1.	GERAIS .....	25
4.2.	ESPECÍFICOS .....	25
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.1.	LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO .....	26
5.2.	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO .....	26
5.3.	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA .....	27
5.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
6.	RESULTADOS.....	30
7.	DISCUSSÃO .....	52
8.	CONCLUSÃO .....	61
9.	REFERÊNCIAS.....	62

## 1. INTRODUÇÃO

O mastocitoma (MCT) é uma neoplasia frequente em cães e de extrema importância na oncologia veterinária. Representa o terceiro subtipo tumoral mais comum, sendo o tumor maligno de pele mais comum em cães (De Nardi, *et al.* 2018). Os mastocitomas (MCTs) apresentam-se como massas solitárias ou múltiplas, com localização dérmica e/ou infiltração de tecido subcutâneo (Gross, *et al.* 2005). Sua manifestação é extremamente variável, podendo se confundir com diversas outras lesões cutâneas, devendo sempre ser considerado como diagnóstico diferencial (Dobson e Scase, 2007).

O comportamento biológico do MCT canino é, também, extremamente variado, sendo importante a interpretação de fatores prognósticos, destacando-se a graduação histopatológica proposta por Patnaik *et al.* (1984) e a graduação de Kiupel *et al.* (2011).

O linfonodo regional (RLN) é, frequentemente, o primeiro sítio metastático do MCT canino sendo a ocorrência de metástase um fator prognóstico desfavorável (Weishaar, *et al.* 2014). A cirurgia é a principal modalidade terapêutica indicada nos casos de MCT canino, associada à linfadenectomia para adequado estadiamento e decisão terapêutica adjuvante. A presença de metástase no linfonodo (LN) implica em maior risco de disseminação à distância e a necessidade de quimioterapia adjuvante, independentemente das características do tumor primário, como grau histopatológico e índices de proliferação (HUME, *et al.*, 2011; De Nardi, *et al.* 2022).

A definição do tratamento dos MCTs cutâneos é baseada na avaliação de fatores prognósticos clínicos, histopatológicos, imuno-histoquímicos e genéticos (Horta *et al.*, 2018). O tratamento cirúrgico é a primeira escolha na maioria dos casos, podendo ser associada à outras formas de controle local como a radioterapia (RT) ou eletroquimioterapia (EQT) (London e Thamm 2013; De Nardi *et al.*, 2022). O histórico de recorrência tumoral e o estadiamento clínico avançado, destacando a ocorrência de metástase ostensiva em linfonodo, foram associados a um elevado risco de progressão da doença após a cirurgia e óbito relacionado ao MCT, enquanto, outros fatores, foram associados a um risco intermediário, incluindo graduação histopatológica elevada, elevado índice mitótico, organização microscópica do tumor primário em manto, expressão elevada de Ki-67 e aberrante do receptor KIT (KIT III) e presença de duplicações internas em tandem no exon 11 do gene *c-KIT*. Na

presença de um risco moderado ou alto de óbito relacionado ao MCT sugere-se a inclusão de terapias adjuvantes sistêmicas na tentativa de evitar ou atrasar a progressão da doença, destacando-se o uso isolado ou combinado de agentes quimioterápicos, como vimblastina, lomustina, ciclofosfamida e chlorambucil, mas também inibidores tirosina-quinase, como o fosfato de toceranib e mesilato de masitinib, empregados ainda no manejo de mastocitomas inoperáveis ou metastáticos (London e Thamm, 2013; Warland *et al.*, 2015; Horta *et al.*, 2018).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a importância prognóstica do grau de comprometimento do linfonodo em cães com MCT cutâneo, após a remoção cirúrgica do MCT primário e seus RLN, analisando as taxas de sobrevida e os padrões de recorrência do tumor.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O MCT é uma neoplasia mesenquimal, formada a partir de mastócitos, podendo ocorrer nas apresentações cutânea e extracutânea (London e Thamm, 2013). É a neoplasia maligna mais comum em cães representando até 21% de todos os tumores de pele. A etiologia do MCT não foi completamente elucidada, no entanto, sugerem a influência da inflamação crônica na pele, enquanto a presença de mutações no gene *c-KIT* tem sido relacionada ao desenvolvimento e progressão tumoral (De Nardi, *et al.* 2018; Villamil, *et al.* 2011). Existem evidências também da existência de fatores de risco genético, devido a maior incidência dessa patologia em determinadas raças (London e Thamm, 2013).

Os mastócitos são células relativamente grandes, fusiformes ou esféricas, contendo núcleo redondo ou ovóide e citoplasma repleto de grânulos de coloração vermelha arroxeada, tem origem a partir de células-tronco hematopoiética pluripotente, CD34, sendo maturados no seu local de ação, estando presentes na derme, pulmão, mucosa gástrica e região perivascular. Os mastócitos circulam no sangue e migram para o tecido conjuntivo, onde sofrem maturação e desempenham funções relacionadas ao sistema imunológico (Lemarié *et al.*, 1995; Friederichs e Young, 2013). Uma quantidade discreta de mastócitos pode ser encontrada, também, na região paracortical dos linfonodos (Tomita *et al.*, 2003). Possuem grânulos intracitoplasmáticos compostos por substâncias bioativas como heparina, histamina, TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor- $\alpha$* ) e proteases (London & Thamm, 2013).

## 2.1. ASPECTOS CLÍNICOS E COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO MASTOCITOMA CANINO

Clinicamente, os MCTs caninos podem se manifestar como formações de diferentes tamanhos e aspectos (De Nardi, *et al.* 2018; Villamil, *et al.* 2011). Fatores relacionados à apresentação clínica, tais como localização, número de tumores e presença de ulceração podem influenciar o prognóstico. Os MCTs localizados na região escrotal e focinho são os mais agressivos e resultam em um tempo de sobrevida mais curto (Hillman, *et al.* 2010). No estudo de Smiech *et al.* (2018) a localização de maior risco para a ocorrência do MCT cutâneo, foi a região escrotal. Para o desenvolvimento do tumor de alto grau a região escrotal, inguinal e axilar apresentaram maior risco e por sua vez, o tronco foi considerado a região com maior risco de desenvolvimento de tumor de baixo grau.

O MCT cutâneo ocorre com uma distribuição de 50-60% no tronco, 25-40% nos membros e 10-15% na cabeça e pescoço, com menor frequência em bolsa escrotal, períneo e cauda (Welle *et al.*, 2008). Macroscopicamente, o MCT cutâneo pode mimetizar qualquer lesão de pele, incluindo pápula, nódulo, tumor, erosão, úlcera e crosta (Welle *et al.*, 2008; Couto, 2010). MCTs bem diferenciados comumente se apresentam como nódulos cutâneos únicos, de crescimento lento e tamanho entre 1 e 4 cm. Podem também se apresentar como tumores no subcutâneo, muitas vezes sendo confundidos com lipomas (Welle *et al.*, 2008). Já os MCTs indiferenciados podem estar associados a características como crescimento rápido, ulceração, dor, inflamação local e presença de nódulos satélite (Daleck, *et al.* 2017; Welle *et al.*, 2008). A manipulação excessiva de um MCT cutâneo pode levar à degranulação das células com liberação de histamina e outras substâncias vasoativas, o que resulta em vasodilatação, edema e eritema no tecido circundante ao tumor, caracterizando um fenômeno conhecido como sinal de Darier (Welle *et al.*, 2008; London e Thamm, 2013).

O comportamento biológico do MCT é variável, podendo ser de indolente a altamente invasivo e metastático. O potencial metastático do MCT varia de acordo com sua classificação histopatológica, entretanto metástase para órgãos distantes parecem ocorrer apenas após metástase em LN (Warland *et al.*, 2014). Os órgãos mais frequentemente acometidos por metástases são os RLN, pele, baço e fígado. Geralmente, os MCTs com maior graduação histopatológica, grau III de Patnaik e de alto grau de Kiupel desenvolvem metástases e têm um pior prognóstico, por outro lado uma pequena porcentagem dos MCTs de baixo grau histológico,

grau I e II de Patnaik e baixo grau de Kiupel se comportam biologicamente agressivos e apresentam doença metastática ao diagnóstico (Patnaik, *et al.* 1984; Thamm, *et al.* 2006; Stefanello, *et al.* 2015).

Os principais sítios de metástase de MCT são principalmente os RLN, podendo posteriormente afetar o baço, fígado, pele e raramente os pulmões, sendo a via linfática responsável pela disseminação tumoral. Raramente é observada ocorrência de MCT em outros órgãos, como no trato gastrointestinal, na conjuntiva, glândulas salivares, nasofaringe, cavidade oral, uretra e medula espinhal (Welle *et al.*, 2008; London e Thamm, 2013). A medula óssea pode ser afetada caracterizado como uma leucemia mielóide de mastócitos que corresponde á doença em seu estadiamento final e quando acontece apresenta um pior prognóstico e menor tempo de sobrevida. O potencial metastático dos MCTs varia de acordo com sua classificação histopatológica, ocorrendo em menos de 10% dos casos de MCTs bem diferenciados, em 5% a 22% das neoplasias moderadamente diferenciadas e em 55% a 95% dos casos pouco diferenciados. A forma visceral da doença ou *mastocitose sistêmica*, é geralmente precedida por uma lesão cutânea inicial, com disseminação de mastócitos para os órgãos internos, e normalmente tem um comportamento mais agressivo e um pior prognóstico (Grano *et al.*, 2012; London e Thamm, 2013).

A presença de metástase em LN no momento do diagnóstico está diretamente relacionada com um maior risco de óbito devido à doença, porém seu efeito sobre o prognóstico não está bem estabelecido, pois parte dos animais alcançam um longo tempo de sobrevida com tratamento. Estudos demonstraram que cães diagnosticados com MCT que foram submetidos a exérese do tumor e linfadenectomia obtiveram um aumento no tempo médio de sobrevida, comparados a animais que não realizaram a linfadenectomia (Marconato *et al.*, 2018; Chalfon *et al.*, 2022). Recidivas de MCT cutâneo tem efeito negativo significativo no prognóstico, com ocorrência de óbito devido ao tumor chegando a 80% dos casos. Embora esses pacientes ainda se beneficiem de tratamento envolvendo cirurgia e terapias adjuvantes, o prognóstico permanece desfavorável (Horta *et al.*, 2018).

## 2.2. DIAGNÓSTICO

Os MCTs são inicialmente diagnosticados com base na avaliação citológica, com material obtido por punção aspirativa por agulha fina (PAAF), identificando células redondas com



grânulos citoplasmáticos abundantes. Uma pequena porcentagem de grânulos que não se coram facilmente pode gerar uma aparência de célula epitelial ou de macrófago tornando-se necessária a utilização de colorações especiais, como o Giemsa ou azul de toluidina que geralmente revelam os grânulos citoplasmáticos (London, *et al.* 2013). Camus *et al.* (2016) sugeriu a classificação citológica dos MCTs em baixo e alto grau baseando nas características morfológicas das células neoplásicas, incluindo cariomegalia, multinucleação, pleomorfismo nuclear e figuras mitóticas, sendo que o esquema de graduação citológica teve sensibilidade de 88% e especificidade de 94% em relação à graduação histopatológica, no entanto mais MCTs foram considerados de alto grau por citologia do que por histologia podendo superestimar o grau. No estudo de Paes *et al.* (2022), uma nova classificação citológica foi sugerida considerando a concentração de fibroblastos e/ ou fibrilas de colágeno e foram associadas a maior sobrevida e baixo grau histopatológico quando avaliados em conjunto, com outros critérios, granulação citoplasmática, presença de figuras mitóticas, multinucleação e cariomegalia.

A caracterização da metástase em linfonodo pode ser difícil considerando a possibilidade da presença de mastócitos não neoplásicos nos linfonodos (Daleck, *et al.* 2017). No estudo de Bookbinder *et al.* (1992) foi observado de 1 a 16 mastócitos (mediana de 5 mastócitos) na aspiração de linfonodos em 24% (11/46) dos cães saudáveis. A avaliação citológica dos LN é desafiadora, apresentando sensibilidade de 68 a 75%, são usados critérios para determinar a probabilidade de metástase, como o número e a morfologia dos mastócitos, podendo ser classificado como normal, hiperplasia linfoide reativa, possível metástase, provável metástase e metástase certa (Krick, *et al.* 2009). Sendo a metástase certa definida pela presença de agregados de mastócitos pouco diferenciados com pleomorfismo, anisocitose, anisocariose e/ou granulação diminuída ou variável, entretanto na avaliação citológica podem ocorrer resultados falsos-negativos, pois a área puncionada pode não ser a área acometida pela metástase, sugerindo que o exame histopatológico dos LNs deve sempre ser realizado para o diagnóstico definitivo (Krick, *et al.* 2009; Ku, *et al.* 2016).

O padrão histopatológico da metástase no linfonodo leva em consideração o número e distribuição de mastócitos, bem como qualquer perda de arquitetura baseada em avaliação microscópica (Weishaar, *et al.* 2014). Para avaliação histopatológica dos linfonodos, é necessário a realização de cortes seriados do LN, a fim de representar a maior área possível sendo possível avaliar invasão capsular e extracapsular podendo ser adicionadas técnicas de

colorações especiais e imunohistoquímica para um diagnóstico mais eficaz (De Nardi, *et al.* 2022). O sistema de classificação consiste em quatro classes HN0 (linfonodo não metastático), HN1 (linfonodo pré-metastático), HN2 (metástase precoce ou inicial), e HN3 (linfonodo metastático ou metástase ostensiva), sendo observado a perda de arquitetura do linfonodo somente na classificação HN3. (**TABELA 1**) (Weishaar, *et al.* 2014).

Tabela 1: Sistema de classificação para avaliação microscópica de metástase ganglionar em cães com mastocitoma.

<b>Classificação</b>	<b>Critério histopatológico</b>	<b>Interpretação</b>
HN0	Nenhum ou raros (0e3), mastócitos dispersos, individualizados (isolados) nos seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou parênquima do linfonodo por campo 40x, ou não atende aos critérios para qualquer outra classificação abaixo.	Não metastático
HN1	Mais de três mastócitos individualizados (isolados) nos seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou parênquima do linfonodo por campo 40x, em no mínimo 4 campos	Pré-metastático
HN2	Agregados (clusters) de mastócitos ( $\geq 3$ células) em seios (subcapsular, paracortical ou medular) e/ou parênquima, ou cordões sinusóides de mastócitos	Metástase precoce
HN3	Rompimento ou perda da arquitetura nodal normal por focos discretos, nódulos, com focos de mastócitos organizados em manto ou cordão.	Metástase evidente

O exame histopatológico é, portanto, padrão-ouro para a graduação do MCT canino e avaliação de metástase de linfonodo. A graduação histopatológica do MCT canino foi descrita por Patnaik, *et al.* (1984), baseando-se na diferenciação celular podendo ser dividido em bem diferenciado ou grau I, intermediário ou grau II, e indiferenciado ou grau III, enquanto a descrição de Kiupel, *et al.* (2010) considera apenas baixo e alto grau de malignidade baseando-se em características objetivas (**TABELA 2 e TABELA 3**). Técnicas imuno-histoquímicas têm sido aplicadas para diferenciação de outros tumores de células redondas, nos casos de MCTs

pouco diferenciados, mas principalmente para investigação prognóstica (Simoes & Schoning, 1994; Horta, *et al.* 2018).

Tabela 2: Correlação entre graduação histológica, aspecto microscópico e sobrevida, segundo Patnaik *et. al.*, 1984.

<b>Grau</b>	<b>Características</b>
<b>I</b>	Células neoplásicas confinadas à derme superficial, arranjadas em manto ou cordão e separadas por bandas de colágeno. O pleomorfismo celular é baixo e pode-se visualizar grânulos intracitoplasmáticos em grande quantidade. Figuras mitóticas raras ou ausentes.
<b>II</b>	Células neoplásicas infiltradas na derme profunda e tecido subcutâneo, podendo invadir a musculatura esquelética, arranjadas em manto ou cordão e separadas por estroma colagenoso que pode estar espesso ou hialinizado (colagenólise). O pleomorfismo celular é moderado e raras células multinucleadas podem estar presentes. O índice mitótico varia de 0 a 2 mitoses por campo. Áreas de edema e necrose podem estar presentes.
<b>III</b>	Células neoplásicas se estendem para o subcutâneo e tecidos adjacentes. O pleomorfismo celular e nuclear é acentuado e os grânulos intracitoplasmáticos são dificilmente visualizados sem o auxílio de colorações histoquímicas (Giemsa ou azul de toluidina), sendo comum a identificação de células binucleadas. Figuras mitóticas frequentes, variando de 3 a 6 por campo. Edema, hemorragia e necrose são mais acentuadas.

Tabela 3: Sistema de graduação proposto por Kiupel *et al.* (2011), para o mastocitoma canino

<b>Características</b>	<b>Baixo Grau</b>	<b>Alto Grau</b>
<b>Figuras mitóticas</b>	< 7 figuras mitóticas em 10 campos (aumento de 400x).	≥ 7 figuras mitóticas em 10 campos (aumento de 400x)
<b>Células Multinucleadas</b>	< 3 células multinucleadas em 10 campos (aumento de 400x).	≥ 3 células multinucleadas em 10 campos (aumento de 400x)

<b>Núcleos bizarros (forma irregular, presença de edentações e segmentações)</b>	< 3 núcleos bizarros em 10 campos (aumento de 400x)	≥ 3 núcleos bizarros em 10 campos (aumento de 400x)
<b>Cariomegalia (núcleos duas vezes maiores que o esperado)</b>	< 10% das células neoplásicas	≥ 10% das células neoplásicas

Técnicas histoquímicas como Giemsa, azul de toluidina são importantes no diagnóstico do MCT podendo diferenciar de outras neoplasias de células redondas, através da identificação e afinidade pelos grânulos nos tumores pouco diferenciados. No entanto, em alguns casos de MCT pouco diferenciados podem exigir imuno-histoquímica para confirmação diagnóstica (Fernandez *et al.*, 2005; De Nardi *et al.*, 2022).

A imunohistoquímica tem sido utilizada para analisar marcadores que auxiliam no diagnóstico diferencial e na compreensão do comportamento biológico do MCT. O ki-67 é um marcador proliferativo e a determinação de sua expressão é realizada a partir da imunomarcagem de núcleos positivos em 5 campos de maior aumento, sendo acima de 23 células positivas associado com alto risco de recidiva ou ocorrência de metástase (Webster *et al.*, 2007). O padrão *c-KIT* é avaliado a partir da imunomarcagem do receptor em membrana citoplasmática, focal ou de forma difusa em citoplasma, também denominados padrão I, II ou III (Kiupel *et al.*, 2011). Os padrões focal e difuso, ou seja, II e III estiveram associados a prognósticos desfavoráveis, principalmente padrão III (De Nardi *et al.*, 2018; Thamm *et al.*, 2019).

Outros marcadores prognósticos mais recentemente pesquisados são os marcadores de proliferação e metabolismo celular, que ajudam a determinar a possibilidade de um MCT apresentar comportamento agressivo. A marcação para AgNORs, PCNA, Ki67, índice mitótico e a expressão do receptor de membrana KIT, tem mostrado importância na predição do comportamento de MCTs (London e Thamm, 2013, Warland *et al.*, 2015).

### 2.3. FATORES PROGNÓSTICOS

Vários fatores prognósticos foram propostos e avaliados na tentativa de obter a melhor decisão terapêutica para o MCT canino, incluindo características clínicas, histopatológicas, imuno-histoquímicas e genéticas. Dentre as características clínicas destacam-se a raça, idade, histórico de recidiva, localização tumoral, presença de metástase em linfonodo e estadiamento clínico (Takeuchi, *et al.* 2013; Daleck, *et al.* 2017; Horta *et al.*, 2018).

Algumas raças, como Boxer, Buldogue, Labrador, Golden Retriever e Shar-pei, são acometidas com maior frequência pelo MCT, por outro lado, o Pastor alemão, Dachshund, Poodle e Yorkshire Terrier apresentam menor risco (London, *et al.* 2013; Villamil, *et al.* 2011; Mochizuki *et al.*, 2016). Sobre o comportamento biológico do MCT estudos recentes buscaram correlacionar com a predisposição da raça e sugeriram que cães Pug e Boxer são mais propensos a tumores de baixo grau, enquanto o shar-pei, Weimaraner, Rottweiler e Shih Tzu tendem a desenvolver tumores de alto grau (Mochizuki *et al.*, 2016; Smiech *et al.*, 2018).

Os MCTs podem ocorrer em animais de qualquer faixa etária, mas acometem principalmente animais adultos, com a média de nove anos de idade. Um estudo feito por Rigas *et al.* (2020) incluiu 16 cães com MCT com média de 9 meses de idade, onde 13 eram cutâneos e em três eram subcutâneos. Dos MCT cutâneos 4 foram descritos como de alto grau e 9 eram baixo grau e grau II de Patnaik, três tiveram índice mitótico maior que 5 em 10 campos de maior aumento. Dos três tumores subcutâneos, dois apresentavam padrão de crescimento infiltrativo. Dos 10 cães testados, sete apresentavam mutações do c-kit no éxon 11 e em nove cães a pontuação do Ki-67 estava acima do valor do ponto de corte. Em 12 cães, os linfonodos locorreionais foram avaliados por citologia (n = 8) e/ou histopatologia (n = 4). Em todos os casos, os linfonodos eram de tamanho palpável ou ultrassonograficamente normal. Doença metastática foi identificada em quatro cães, um pela citologia e três pela histopatologia. Após diversos protocolos de tratamento, todos os pacientes estavam vivos e livres da doença em uma mediana de 1.115 dias após o diagnóstico demonstrando melhor comportamento biológico, sendo menos agressivo mesmo com o MCT apresentando características histopatológicas e moleculares desfavoráveis.

Os MCTs que se desenvolvem na cavidade oral, junções mucocutâneas, pina de orelhas, região prepucial, escrotal, inguinal, perineal e subungueal tendem a se comportar de maneira mais agressiva, independentemente do grau histológico e maior chance de metástases (Dobson e Scase, 2007). No entanto, diferentes estudos descartaram a associação de comportamento

agressivo com localizações na cavidade oral, região inguinal e perineal (Sfiligoi *et al.*, 2005; Hillman *et al.*, 2010). Quando os MCTs ocorrem na região escrotal e nasal são mais propensos a exibirem comportamento mais agressivo e metástases mais precoces (Horta *et al.*, 2018; Smiech *et al.*, 2018). No estudo de Horta *et al.* (2018), o histórico de recorrência tumoral e o estadiamento clínico avançado, com metástase ostensiva em linfonodos, foram os dois principais fatores de risco para mortalidade relacionada ao MCT.

Dentre os critérios histopatológicos destacam-se os sistemas de graduação propostos por Patnaik e Kiupel, mas também o índice mitótico e organização microscópica do tumor primário, sendo que no estudo de Horta *et al.* (2018), na ausência de fatores relacionados ao alto risco de óbito pelo MCT (histórico de recorrência tumoral e metástase ostensiva em linfonodo), foi demonstrado que tumores de alto grau, com índice mitótico (IM) elevado e/ou organização em manto foram associados a um risco intermediário de óbito pelo MCT. Tumores de alto grau Kiupel ou tumores de grau II e III Patnaik apresentam pior prognóstico e estão relacionados ao menor tempo de sobrevida (London, *et al.* 2013).

No estudo de Patnaik *et al.*, (1984) 83 cães com MCT cutâneo foram classificados morfológicamente em 3 graus, que demonstrou diferença significativa do tempo de sobrevida entre os três grupos. No grupo classificado como grau I, 93% (28/30) dos cães tiveram sobrevida maior que 1500 dias, no grupo grau II 47% (16/36) teve sobrevida maior que 1500 dias e no grupo III somente 6% (1/17) teve sobrevida de 1500 dias, observando pior prognóstico nos graus II e III. Esse sistema proposto por Patnaik *et al.* (1984) não estabelece critérios rígidos para a classificação o que resulta em predomínio dos mastocitomas de grau 2 e variações entre observadores, sendo sugerido por Kiupel *et al.*, (2011) classificação em baixo e alto grau, onde 95 cães com MCT cutâneos foram classificados por 28 patologistas diferentes. Os MCTs de alto grau foram significativamente associados a um menor tempo para a ocorrência de metástase ou recorrência tumoral e menor tempo de sobrevida, sendo inferior a 4 meses para MCT de alto grau, mas superior a 2 anos para MCT de baixo grau.

Além da graduação histopatológica outros marcadores prognósticos, como o índice mitótico (IM), tem sido avaliado como forma de prever o comportamento biológico dessa neoplasia, sugere-se que o IM é um forte preditor de sobrevida global para cães com MCT (Romansik, *et al.* 2007). A contagem mitótica tem sido descrita como fator prognóstico independente de outras características histopatológicas, apresentando índices elevados associados a um pior

prognóstico. O valor de corte proposto por Elston *et al.* (2009) é de mais de 7 figuras mitóticas, já Romansik *et al.* (2007), encontrou prognóstico e sobrevida piores para MCTs com mais que 5 mitoses em 10 campos (40x) e recentemente Horta *et al.* (2018) tenham encontrado maior sensibilidade na determinação do prognóstico ao adotar um valor de corte de 2 figuras de mitose em 10 campos (40x).

Na imuno-histoquímica e avaliação genética, foram incluídos também como fatores associados a risco moderado de óbito pelo MCT, a expressão elevada de Ki-67 (>23 células positivas em 5 campos de maior aumento), expressão aberrante do receptor KIT (KIT III) e/ou presença de duplicações internas em tandem no exon 11 do gene *c-KIT*. Terapias adjuvantes sistêmicas devem ser consideradas em pacientes com risco elevado ou intermediário de óbito relacionado ao MCT (Horta *et al.*, 2018).

## **2.4. TRATAMENTO**

A escolha terapêutica é baseada na avaliação dos fatores prognósticos e estadiamento clínico da doença, podendo ser realizado uma abordagem única ou associação de técnicas como excisão cirúrgica, RT, EQT, quimioterapia e ITK (Daleck, *et al.* 2017). A excisão cirúrgica ampla é o tratamento de escolha respeitando margem cirúrgica de 3cm nas laterais e pelo menos um plano profundo, podendo variar nos casos de MCTs de baixo grau e grau intermediário com margens de apenas 2 cm e um plano profundo ou usar margens proporcionais à dimensão máxima do tumor. Além da exérese da massa é importante a realização da exérese de SLN (Fulcher, *et al.* 2006; Selmic & Ruple 2020).

Na maioria dos casos de MCTs de baixo grau e intermediário, a intervenção cirúrgica isolada, realizada com margens seguras, sem nenhum fator prognóstico negativo, tem efeito resolutivo, não sendo observado recidiva ou metástase (London, *et al.* 2013). Para cães com MCTs de alto grau, com ou sem metástase no RLN, as recomendações atuais de tratamento incluem a excisão cirúrgica do tumor primário, com ou sem RT, seguida de quimioterapia sistêmica adjuvante (Daleck, *et al.* 2017).

Apesar da graduação histopatológica ser considerada o critério mais confiável de valor prognóstico, outros fatores prognósticos devem ser levados em consideração para definir a necessidade de tratamento sistêmico adjuvante, como sugerido por Horta *et al.* (2018), que

considera de alto risco os MCTs com histórico de recorrência tumoral e/ou metástase em LN ou à distância e risco intermediário os casos de MCTs sem metástase em linfonodo que apresente qualquer uma das seguintes características: graduação de Patnaik grau III, Kiupel alto grau, mais que 2 mitoses em 10 campos, Ki67 maior que 5,6%, expressão de KITr padrão III ou duplicação no exon 11 do gene *c-KIT*.

Vários protocolos foram descritos, sendo mais frequente a utilização dos protocolos com único agente quimioterápico associado à prednisona ou prednisolona (De Nardi, *et al.* 2022). Os agentes quimioterápicos mais comumente utilizados são vimblastina, ciclofosfamida, lomustina e clorambucil em diferentes protocolos, sendo a vimblastina considerada a medicação de escolha associada ou não a prednisona (Thamm, *et al.*, 2006; London, *et al.* 2013).

A quimioterapia também pode ser usada como terapia neoadjuvante, em MCTs inoperáveis como tumores grandes ou localizados em sítios anatômicos de difícil abordagem cirúrgica e em pacientes com doença avançada, visando controlar a progressão da doença no perioperatório e diminuição do tamanho tumoral, permitindo melhor controle local (Blackwood *et al.*, 2012). Os corticosteróides inibem a proliferação e induz a apoptose de mastócitos *in vitro* no entanto, uma resposta anti-tumoral aparente pode decorrer de redução do edema e inflamação peritumoral (London e Thamm, 2013). No entanto, sabe-se que a redução microscópica pode não acompanhar a redução macroscópica do tumor, sendo assim as margens cirúrgicas podem não reduzir proporcionalmente. A resposta ao tratamento quimioterápico neoadjuvante tende a ser temporária, com duração média de 40 a 70 dias, sendo recomendada a intervenção cirúrgica nesse período (De Nardi *et al.*, 2022). A resposta aos GCs pode representar também um importante fator prognóstico para o mastocitoma canino, sendo observado no estudo de Horta *et al.* (2018), onde as respostas clínicas mensuráveis foram obtidas principalmente nos mastocitomas bem diferenciados, de graduação intermediária a baixa, com distribuição, predominantemente em cordão, expressão membranar ou citoplasmática focal de KITr e reduzida fração de crescimento estimada pelo Ki-67.

Os receptores de tirosina quinase estão envolvidos nos mecanismos de proliferação, diferenciação, migração, angiogênese e ativação celular. Os TKI são opções de tratamento de terapias de alvo molecular no MCT, com atuação no bloqueio da ligação do ATP ao receptor como inibidores competitivos (reversível ou não) prevenindo a fosforilação e consequente proliferação celular e sinalização (London *et al.*, 2013). Medicamentos de terapia alvo, TKI



como toceranib e masitinib são indicados no tratamento do MCT inoperável, recidivante ou metastático (London, *et al.* 2013; Horta, *et al.*, 2018; De Nardi, *et al.* 2022). No trabalho de Horta et al. 2018 foi avaliado a resposta dos MCTs de alto risco tratados com TKIs (toceranibe e masitinibe) e correlacionaram a resposta ao tratamento com diferentes fatores prognósticos. O grau histológico, o índice mitótico, o valor Ki-67, o padrão KITr e até mesmo o estado mutacional no exon 11 do oncogene c-kit não tiveram impacto na sobrevida, o único fator prognóstico considerado significativo foi a resposta inicial ao tratamento em cães com doença em estágio avançado.

A eletroquimioterapia é o processo de quimioterapia potencializada pela eletroporação da membrana citoplasmática por meio de pulsos elétricos permitindo maior penetração localizada do fármaco. A efetividade depende da concentração extracelular do fármaco no momento da eletroporação e da distribuição do campo elétrico no tumor, sendo que os tumores menores que 3 cm possuem melhor resposta (Daleck *et al.*, 2017). A EQT em MCTs pode ser usada como terapia única, no transoperatório, ou adjuvante à cirurgia quando as margens estão comprometidas. Além dos efeitos citotóxicos diretos, a EQT também tem efeitos antitumorais indiretos vasculares que levam à vasoconstrição e destruição da vasculatura local, e efeitos imunológicos que levam à sinalização da morte celular imunogênica (Spugnini *et al.*, 2019). Um possível efeito colateral relatado ao tratar MCTs com EQT poderia ser degranulação das células tumorais. Kodré et al. (2009) em seu estudo, onde 9 cães apresentando 12 mastocitomas cutâneos foram submetidos a eletroquimioterapia como tratamento único, não observou nenhum efeito adverso, o que pode ser justificado pela vasoconstrição causada por pulsos elétricos o que impede a liberação de mediadores inflamatórios contidos nos grânulos de mastócitos na corrente sanguínea. O tamanho médio dos tumores tratados em seu estudo foi de 2,9 cm, sendo observada maior eficácia em tumores < 2 cm.

A radioterapia em cães com MCT cutâneo pode ser realizada previamente a cirurgia, no pós-operatório em casos de margens incompletas ou de forma paliativa. A RT mostra-se eficaz como ferramenta no tratamento adjuvante e controle local dos MCTs cutâneos, principalmente nos casos em que a terapêutica cirúrgica foi incompleta (De Nardi *et al.*, 2022). Quando usada de forma paliativa, em tumores inoperáveis de alto grau, tem como principal objetivo melhora na qualidade de vida do paciente não havendo aumento na sobrevida. Efeitos colaterais podem ocorrer como eritema local, alopecia, hiperpigmentação e espessamento da pele, mas sem sinais graves da degranulação de mastócitos (Dobson *et al.*, 2004; Daleck *et al.*, 2017).

## 2.5. STATUS NODAL

Os principais sítios de metástase de mastocitoma são linfonodo, fígado, baço e pele sendo a via linfática responsável pela disseminação tumoral. Em um estudo realizado por Warland, *et al.* (2012), 220 cães com MCT foram submetidos ao estadiamento usando palpação e citologia de RLN, ultrassonografia abdominal e radiografia torácica em busca de metástase, onde foi observado que 30,9% dos cães apresentavam metástase no RLN e 6,8% apresentaram metástase à distância e que nenhum animal com metástase a distância deixou de apresentar a metástase no RLN, com isso sugerindo que a combinação de informações sobre o tumor primário e RLN podem indicar melhores informações sobre a extensão da lesão e provável comportamento do mastocitoma, tornando o estadiamento adicional nesses casos de baixa utilidade. Posteriormente no estudo de Fejos, *et al.* (2022) pacientes com mastocitomas foram divididos em grupos de alto risco quando apresentava pelo menos um dos fatores prognósticos negativos, sendo eles grau III Patnaik, alto grau de Kiupel, metástase no RLN, crescimento rápido, ulceração, recorrência e localização de alto risco, e baixo risco os MCTs sem fatores prognósticos negativos. 99 cães com MCT foram incluídos nesse estudo onde 49% foram classificados de alto risco e 51% de baixo risco, avaliando a taxa de metástase a distância onde apenas 7 animais manifestaram metástase a distância sugerindo que o estadiamento extenso não parece ter benefício em MCTs sem presença fatores prognósticos negativos.

Pacientes com MCTs de qualquer grau e com envolvimento de RLN em geral têm pior prognóstico (Murphy *et al.*, 2006; London e Thamm, 2013; Weishaar *et al.*, 2014). Nos MCTs de qualquer graduação é possível a metastização, ocorrendo em aproximadamente 20% dos MCTs caninos (London e Thamm, 2013). Entretanto, embora a metástase ocorra em menos de 10-15% dos MCTs bem diferenciados, os tumores de grau 3 que representam 29% a 40% dos todos os MCTs caninos tem a taxa metastática relatada de 55% a 96%. No estudo de Hume, *et al.* (2011) avaliou 43 cães com MCT grau III sendo 21 deles com metástase no LN, observou que o tamanho do tumor maior que 3cm, o linfonodo com evidência metastática e o IM influenciaram significativamente no intervalo livre de doença e sobrevida global, já com relação ao controle local da doença o tratamento do linfonodo metastático e o IM foram significativamente associados com a sobrevida. O que indica que a presença de metástase no LN em cães com MCT grau III é um indicador de prognóstico negativo, gerando impactos na condução clínica e indicação terapêutica.

A análise citológica dos LNs é desafiadora, pois os LNs comumente podem conter um baixo número de mastócitos não neoplásicos e o próprio MCT e sua inflamação associada pode recrutar mastócitos normais por via linfática especialmente após manipulação e degranulação (KIUPEL e CAMUS, 2019). A sensibilidade varia de 68% a 75%, o que pode gerar resultados conflitantes, sugerindo que o exame histopatológico dos linfonodos deve ser realizado (Ku *et al.*, 2016).

Estudos demonstraram que cães com MCT que foram submetidos a ressecção cirúrgica do tumor primário e linfadenectomia obtiveram aumento significativo no tempo de sobrevida, quando comparados a animais que não realizaram. No estudo de Marconato *et al.*, (2018) o risco de progressão tumoral e morte relacionada ao tumor se mostraram 5,47 e 3,61 vezes maior, respectivamente, em animais que realizaram apenas a análise citopatológica por punção e não remoção cirúrgica do LN quando comparada a animais que realizaram linfadenectomia com análise histopatológica. Mendez *et al.*, (2019) observou em seu estudo com 42 cães com MCTs de alto grau, um tempo de sobrevida maior para os que foram linfadenectomizados com 1908 dias quando comparado a cães que não foram submetidos a linfadenectomia com 284 dias.

Em um estudo retrospectivo conduzido por Ferrari *et al.*, (2018) que foi incluído 93 cães com MCT cutâneo único sem metástase a distância submetidos a exérese tumoral e linfadenectomia de RLN que não apresentavam alteração de consistência e tamanho durante a palpação, estando normais. Os LNs foram submetidos a classificação histopatológica sugerida por Weishaar *et al.*, (2014), onde 35,5% (33/93) foram classificados como HN0, 15% (14/93) foram HN1, 28% (26/93) foram HN2 e 21,5% (20/93) foram HN3. Demonstrando que LNs de tamanho e consistência normais podem abrigar doença metastática em até 50% dos casos, e a sua remoção cirúrgica permite melhor estadiamento.

Chalfon *et al.*, (2022) avaliou o impacto da linfadenectomia no resultado em cães com MCTs cutâneos de alto grau e metástase em RLN, 49 cães incluídos, onde 18 não foram submetidos a linfadenectomia e 31 foram submetidos a linfadenectomia. O intervalo livre de doença e sobrevida foi significativamente menor no grupo que não realizou a linfadenectomia, com 150 dias (ILD) e 250 dias (SG), quando comparado ao grupo que realizou a linfadenectomia com 229 dias (ILD) e 371 dias (SG). A falta da linfadenectomia foi associada a maior risco de progressão da doença e maior risco de morte relacionada ao MCT e o tamanho tumoral foi relacionado ao maior risco de recorrência local. Demonstrando que mesmo os

pacientes com MCT agressivos de alto grau e estágio II se beneficiam do tratamento com linfadenectomia.

O LS é o primeiro linfonodo dentro de uma rede linfática que drena um tumor primário, portanto, os primeiros a conter as células tumorais, mas nem sempre será necessariamente o linfonodo anatômico regional (Paz *et al.*, 2001). As neoplasias podem alterar a drenagem pois induzem a linfangiogênese formando assim novos vasos de drenagem e recrutando um maior número de LNs, tornando difícil prever a localização exata do SLN. A linfografia indireta realizada no pré-operatório com injeção peritumoral de corantes radiográficos permite a identificação não invasiva do SLN (Patsikas *et al.*, 2006). O uso de corantes intraoperatórios para marcação dos gânglios facilita a identificação e morbidade pós-operatória relacionado a manipulação. Os corantes mais empregados em medicina veterinária são o azul patente e o azul de metileno (Gervasoni *et al.*, 2000; Worley, 2012). A literatura mostra que a associação de diferentes técnicas aumenta a sensibilidade na identificação do linfonodo sentinela, como por exemplo a linfografia indireta e a injeção de corantes vitais (East *et al.*, 2009).

### **3. HIPÓTESE**

Em cães com MCT a remoção do RLN/SLN favorece o controle da doença, estabelecimento do prognóstico e decisão terapêutica, sendo que a classificação HN2-HN3 correlaciona-se com fatores prognósticos desfavoráveis.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1.GERAIS**

Esse estudo tem como objetivo avaliar o resultado do tratamento de cães com MCT cutâneo de baixo e alto grau de Kiupel e grau I, II ou III de Patnaik submetidos a excisão cirúrgica do tumor primário e do RLN/SLN, associada ou não à terapias adjuvantes sistêmicas.

#### **4.2.ESPECÍFICOS**

- Revisar a classificação histopatológica do tumor primário e RLN/SLN de cães com MCT no estágio I, II e III (WHO) submetidos ao tratamento cirúrgico.

- Avaliar a sobrevida específica de cães com MCT de baixo ou alto grau de Kiupel, segundo o status nodal.
- Avaliar a correlação entre a graduação histopatológica de Patnaik e Kiupel, status nodal, intervalo livre de doença e a sobrevida específica de cães com MCT, considerando ainda outras variáveis: aspectos clínicos (idade, raça, sexo, localização, tamanho e número de lesões, ocorrência prévia de mastocitoma, presença de ulceração, avaliação clínica do linfonodo, recidiva local), anátomo-patológicos (índice mitótico, número de células binucleadas e multinucleadas, disposição em cordão ou em manto, classificação histopatológica do linfonodo, margens cirúrgicas), e tratamentos realizados (EQT transcirúrgica e pós cirúrgica, quimioterapia adjuvante, uso de TKI, uso de corticóide).

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1. LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO**

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o protocolo de número 171/2023, conforme demonstrado no anexo 01.

O projeto foi executado no Hospital Veterinário (HV) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG, Belo Horizonte/Brasil) em colaboração com o Veterinary Medical Centre (VCM), City University of Hong Kong (CityU, Hong Kong/China). A revisão histopatológica foi realizada no laboratório do setor de Patologia da EV-UFMG.

### **5.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO**

O prontuário médico foi recuperado para registro da raça, idade, sexo, peso, localização das lesões, tamanho das lesões, número de lesões, avaliação clínica do LN, histórico de MCT prévios, exames diagnósticos, tratamentos realizados e histórico de recorrência e sobrevida. Os tutores foram contatados por telefone para obter informação de sobrevida e ocorrência de novas lesões nos casos em que o registro médico foi perdido. Após levantamento dos dados, obteve-se 321 casos de cães com MCTs cutâneos diagnosticados no Hospital Veterinário da EV-UFMG, no período de janeiro de 2012 a maio de 2023 entretanto, ao realizar a análise dos dados

e incluindo os critérios de inclusão foram excluídos os casos em que não foram submetidos a linfadenectomia (n=150), os que não foram submetidos a cirurgia (n=96), os que foram submetidos a tratamento quimioterápico neoadjuvante (n=8) e os que não foram possíveis recuperar o laudo histopatológico (n=32). No Centro Médico Veterinário (VCM de Hong Kong) no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2022 foram 56 casos diagnosticados com MCTs cutâneos com exclusão de 47 casos que não foram submetidos à cirurgia e/ou linfadenectomia, 1 que foi submetido a quimioterapia neoadjuvante e 1 caso que não foram possíveis recuperar o bloco de parafina. Foram então incluídos 26 casos retrospectivos (19 da UFMG e 7 VCM de Hong Kong) e 16 casos prospectivamente, foram selecionados cães com MCT cutâneo nos estágios I, II e III (WHO) submetidos ao tratamento cirúrgico com excisão do tumor primário e linfonodo regional/sentinela.

O estadiamento clínico foi realizado conforme classificação TNM preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) descrita na **TABELA 4** (Owen, 1980). O estadiamento clínico foi avaliado a partir da mensuração do tumor primário, palpação do RLN, e ultrassonografia abdominal. Não foi realizada punção de fígado e baço exceto na identificação de alterações ultrassonográficas.

Tabela 4– Classificação TNM preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), para o mastocitoma em cães (Owen 1980).

<b>Estágio</b>	<b>Descrição</b>
I	Tumor único, confinado à derme, sem envolvimento de linfonodos regionais.
II	Tumor único, confinado à derme, com envolvimento de linfonodos regionais.
III	Tumores múltiplos ou grandes e infiltrativos, com ou sem envolvimento de linfonodos regionais
IV	Qualquer tumor com metástase distante, incluindo invasão medular e presença de mastócitos no sangue periférico.

### **5.3.AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA**

Foram resgatados os blocos de parafinas do arquivo do setor de Patologia da EV-UFMG e as lâminas dos casos do Veterinary Medical Centre (VCM) foram escaneadas e enviadas para

posterior leitura. Nos blocos de parafina recuperados foram posteriormente realizados cortes histológicos com espessura de 4 µm, coloração em hematoxilina e eosina (HE) e coloração especial de Giemsa e posterior avaliação consensual das lâminas por dois patologistas ao mesmo tempo com microscópio óptico Leica DM2500.

A avaliação microscópica dos tumores primários incluiu a avaliação das margens cirúrgicas, extensão e distribuição predominante (cordão ou manto), contagem de células multinucleadas, binucleadas e figuras mitóticas (em 10 campos de maior aumento). A graduação foi realizada de acordo com critérios histomorfológicos definidos por dois estudos distintos: Patnaik *et al.* (1984) e Kiupel *et al.* (2011).

A avaliação dos LNs seguiu os critérios propostos por Weishaar *et al.* (2014), considerando o nível de comprometimento do LN pelo MCT em quatro categorias: não metastático (HN0), suspeito (HN1), metástase inicial (HN2) ou avançada (HN3) (Weishaar, *et al.* 2014). Sendo considerado metástases as classificações HN2 e HN3.

O índice mitótico foi determinado pela contagem do número de figuras de mitose, presentes em dez campos consecutivos, com maior atividade mitótica no aumento de 400x (De Nardi, *et al.* 2022). Além da classificação de margem histológica avaliada com microscópio óptico conforme proposto por Meuten *et al.* (2021) (TABELA 5).

Tabela 5: Classificação da margem histopatológica tumoral

CLASSIFICAÇÃO	MARGEM	DISTÂNCIA
M1	Infiltrada/ comprometida (focal ou difusa)	0mm
M2	Próxima	<2mm
M3	Limpa	2-5mm
M4	Limpa	>5mm

Fonte: Meuten *et al.* (2021)

#### 5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada análise estatística descritiva, todas as informações coletadas foram transferidas para uma planilha de Excell, incluindo raça, idade, sexo, peso, localização das

lesões, tamanho das lesões, número de lesões, presença de ulceração, avaliação clínica do LN, histórico de MCTs prévios, estadiamento clínico, graduação histopatológica do tumor, classificação histopatológica do LN, número de células binucleadas e multinucleadas, tratamentos adjuvantes, avaliação da margem cirúrgica lateral e profunda, número de mitoses em 10hpf, disposição em cordão ou em manto, ocorrência de recidiva ou novas lesões (“de novo” MCT), além do registro de óbito relacionado ou não ao MCT.

O intervalo livre de doença (ILD) foi definido como o tempo decorrido entre o evento cirúrgico onde se atingiu controle local e a progressão da doença na forma de recidiva local. Para a avaliação do intervalo livre de doença (ILD) não foi considerado recidiva quando eram lesões de baixo grau e distantes do foco primário, sem relação e impacto na sobrevida do paciente. Para avaliação de sobrevida e ILD, os dados de graduação histopatológica do tumor primário e classificação histopatológica do LN foram agrupados de acordo com a classificação de Kiupel, de acordo com o status nodal e agrupando o status nodal com a graduação histopatológica do tumor.

Todas as inferências estatísticas foram realizadas através do software Graph PadPrism v. 6.02, com índice de significância de 5%.

A correlação de Spearman foi utilizada, com a finalidade de avaliar a associação entre os fatores clínicos (idade, raça, sexo, localização, tamanho e número de lesões, estadiamento clínico, ocorrência prévia de MCT, presença de ulceração, número de lesões, avaliação clínica do linfonodo, recidiva local), anátomo-patológicos (gradações de Patnaik e Kiupel, IM, número de células binucleadas e multinucleadas, disposição em cordão ou em manto, classificação histopatológica do LN, margens laterais e profundas), e tratamentos realizados (eletroquimioterapia transcirúrgica e pós cirúrgica, quimioterapia adjuvante, uso de inibidor de tirosina kinase, uso de corticóide). Foram consideradas como significativas as associações e concordâncias cuja probabilidade de significância do teste foi  $p < 0,05$ . Para o teste de Spearman, considerou-se, dentre as correlações significativas, a força da correlação como forte, se  $r_s > 0,7$ , moderada se  $0,3 < r_s < 0,7$  e fraca se  $r_s < 0,3$ .

As curvas de sobrevida foram realizadas de acordo com a graduação histopatológica do tumor e classificação histopatológica do LN sendo desenvolvidas segundo metodologia descrita por Kaplan e Meier (1958). A sobrevida específica foi estimada baseada na tabulação dos dados



dos pacientes que foram a óbito devido ao avanço da doença, animais cujos óbitos foram causados por outros motivos, foram tratados como censurados. As comparações das medianas foram realizadas pelo teste de longrank.

## 6. RESULTADOS

Foram incluídos 42 cães com mastocitoma cutâneo submetidos ao tratamento cirúrgico, com avaliação do linfonodo regional/sentinela, sendo 35 tratados no Hospital Veterinário da EV-UFMG e 7 tratados no Centro Médico Veterinário (VCM de Hong Kong), sendo 26 casos retrospectivos (19 da UFMG e 7 de VCM de Hong Kong) e 16 casos prospectivos.

Dos 42 animais do estudo 35,7% (15/42) eram machos e 64,3% (27/42) eram fêmeas, a idade variou entre 2 a 22 anos ( $9,07 \pm 4,75$  anos) (**TABELA 6**). Destes cães, 42,8% (18/42) não apresentaram raça definida, enquanto 57,2% (24/42) foram classificados nas raças Labrador (n=4), Golden Retriever (n=4), Pug (n=3), Buldogue Francês (n=2), Rottweiler (n=1), Boxer (n=1), Cane Corso (n=1), Pastor Alemão (n=1), Shih Tzu (n=1), Poodle (n=4), Doberman miniatura (n=1) e Yorkshire Terrier (n=1). Dos 42 cães incluídos no estudo, estavam presentes no total 49 tumores, sendo que três dos cães tinham 2 lesões e outros dois tinham 3 lesões. Foi observado uma maior ocorrência dos tumores localizados em região de tronco 49% (24/49), membro 44,9% (22/49), seguido de locais com menor incidência 6,1% (3/49) como prepúcio (n=1), bolsa escrotal (n=1) e pina da orelha (n=1).

O tecido tumoral primário estava disponível para revisão em 80% dos casos (34/42) e para 20% dos casos (8/42) em que o tecido tumoral não estavam disponíveis para revisão, a graduação do laudo foi incluída nos dados. Conforme proposto por Patnaik et al. (1984), os tumores foram graduados em grau I, em 18,4% (9/49), grau II em 61,2% (30/49) e grau III em 20,4% (10/49), e, segundo Kiupel et al. (2011), foram classificados como baixo grau em 75,5% (37/49) e alto grau em 24,5% (12/49) (**FIGURA 1**).

Tabela 6.: Características clínicas dos 42 cães com mastocitoma cutâneo incluídos no estudo.

AMOSTRA	SEXO	IDADE	RAÇA	LOCALIZAÇÃO DA LESÃO	Nº DE LESÕES	PALPAÇÃO DE LINFONODOS	ESTADIAMENTO CLÍNICO
1	F	7	LABRADOR	TRONCO	1	ALTERADO	2
2	F	2	SCHI TZU	TRONCO	1	NORMAL	1
3	F	7	PUG	TRONCO	1	NORMAL	2
4	F	7	SRD	TRONCO	1	ALTERADO	1
5	F	9	BULDOGUE FRANCÊS	MEMBRO	1	NORMAL	1
6	F	12	SRD	1: MEMBRO / 2: TRONCO	2	ALTERADO	1
7	F	7	GOLDEN RETRIEVER	TRONCO	1	NORMAL	1
8	F	5	ROTTWEILLER	MEMBRO	1	NORMAL	1
9	M	5	BULDOGUE FRANCÊS	MEMBRO	1	NORMAL	1
10	F	9	SRD	TRONCO	1	NORMAL	2
11	M	12	LABRADOR	TRONCO	1	NORMAL	1

12	M	10	SRD	1: TRONCO/ 2: MEMBRO/ 3: MEMBRO	3	NORMAL	3
13	F	4	SRD	MEMBRO	1	NORMAL	1
14	F	7	GOLDEN RETRIEVER	TRONCO	1	NORMAL	1
15	M	8	LABRADOR	BOLSA ESCROTAL	1	NORMAL	2
16	F	12	PUG	MEMBRO	1	NORMAL	1
17	F	10	SRD	1: TRONCO/ 2: TRONCO	2	NÃO CONSTA	2
18	F	14	SRD	MEMBRO	1	ALTERADO	2
19	F	NÃO CONSTA	SRD	MEMBRO	1	NORMAL	2
20	F	17	LABRADOR	TRONCO	1	ALTERADO	2
21	F	16	SRD	TRONCO	1	ALTERADO	2
22	M	22	SRD	PREPÚCIO	1	NORMAL	1
23	F	18	POODLE	TRONCO	1	NORMAL	2
24	F	8	SRD	MEMBRO	1	NORMAL	2
25	M	NÃO CONSTA	SRD	MEMBRO	1	ALTERADO	1

26	M	8	PASTOR ALEMÃO	PINA ORELHA	1	ALTERADO	2
27	F	17	PUG	1: TRONCO/ 2: MEMBRO	2	ALETRADO	1
28	M	8	CANE CORSO	MEMBRO	1	NORMAL	1
29	M	10	BOXER	TRONCO	1	NORMAL	1
30	M	11	SRD	MEMBRO	1	NORMAL	1
31	M	2	SRD	MEMBRO	1	NORMAL	1
32	F	7	SRD	TRONCO	1	NORMAL	1
33	F	8	GOLDEN RETRIEVER	TRONCO	1	NORMAL	1
34	M	5	SRD	1: TRONCO/ 2: TRONCO/ 3: TRONCO	3	NORMAL	3
35	F	7	GOLDEN RETRIEVER	MEMBRO	1	NORMAL	2
36	M	5	LABRADOR	TRONCO	1	NORMAL	2
37	F	14	DOBERMAN	MEMBRO	1	ALTERADO	2
38	F	13	SRD	MEMBRO	1	ALTERADO	1
39	F	9	POODLE	MEMBRO	1	NORMAL	1

40	M	11	SRD	MEMBRO	1	ALTERADO	2
41	M	5	YORKSHIRE TERRIER	MEMBRO	1	ALTERADO	2
42	F	3	POODLE	TRONCO	1	NORMAL	2

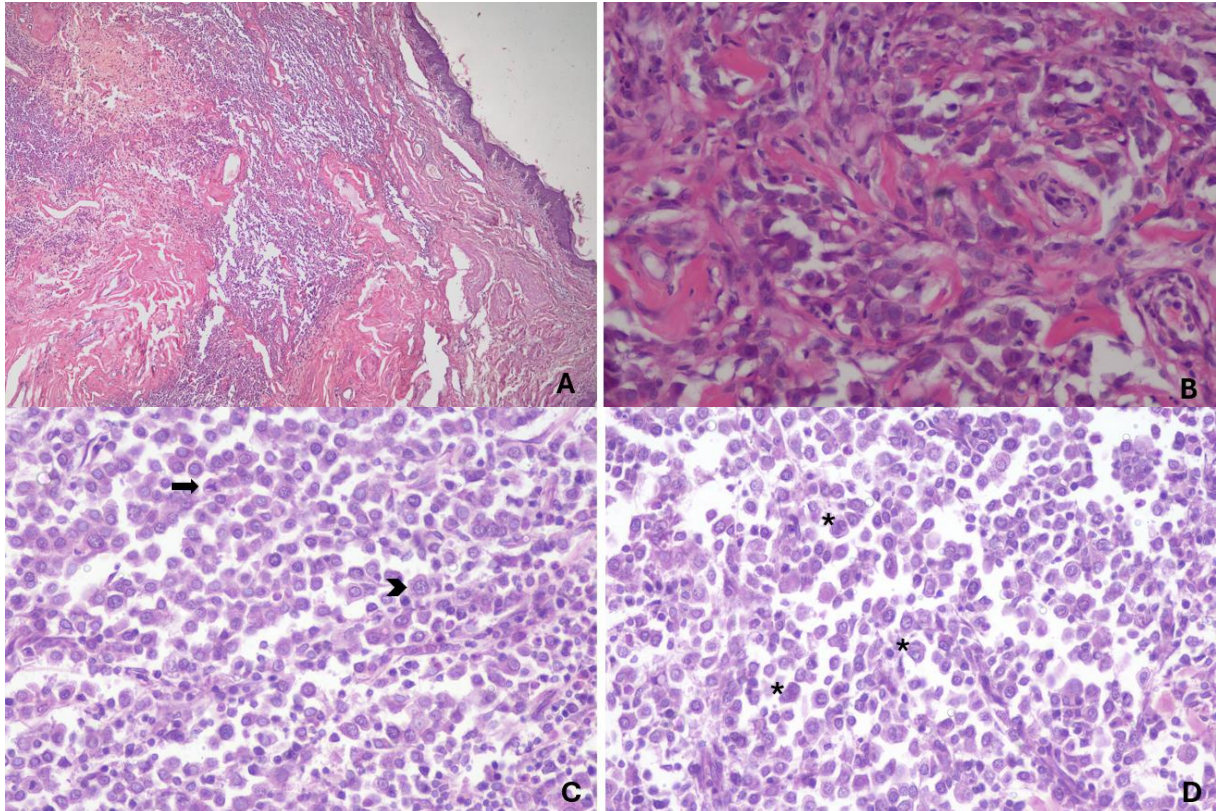


Figura 1: Caracterização histopatológica das amostras de tumores dos cães deste estudo, para a classificação dos mastocitomas (MCT), segundo Patnaik *et al.*, (1984) e Kiupel *et al.*, (2010). (A) Mastocitoma bem delimitado chegando até a derme profunda, classificado como grau II/baixo grau, HE, 100X. (B) Mastocitoma bem diferenciado, células neoplásicas com moderado pleomorfismo celular, separadas por estroma de colágeno classificada como grau II/baixo grau, HE, 400X. (C) Mastocitoma, com pleomorfismo acentuado e grânulos intracitoplasmático pouco evidentes, presença de figuras de mitose (seta) e de célula cariomegálica (ponta de seta) classificado como grau III/alto grau, HE, 400X. (D) Mastocitoma, com pleomorfismo acentuado e grânulos intracitoplasmático pouco evidentes, presença de células binucleadas (\*), classificado como grau III/alto grau, HE, 400X.

Sobre a avaliação e classificação microscópica do LN, estavam disponíveis 43 LNs dos 42 cães incluídos no estudo, sendo que em um dos pacientes foram avaliados 2 LNs, sendo considerado o LN de maior classificação para inclusão nos dados. O fragmento do LN estava disponível para revisão em 86% dos casos (36/42) e nos 14% dos casos (6/42) em que não estavam disponíveis foi incluído nos dados a classificação informada no laudo. Foram classificados, segundo os critérios propostos por Weishaar *et al.* (2014), 40,5% (17/42) como não metastático (HN0) em que nenhum ou raros mastócitos dispersos, individualizados são encontrados nos seios da face e/ou parênquima; 14,3% (6/42) classificados como pré-metastático (HN1) em que mais de três mastócitos individualizados são encontrados nos seios da face e/ou parênquima; 14,3% (6/42) classificados como metástase precoce (HN2), sendo encontrados agregados de mastócitos ( $\geq 3$  células associadas) em seios e/ou parênquima; além de 30,9% (13/42) classificados como metastático (HN3) apresentando perda da arquitetura



nodal normal por focos discretos ou nódulos evidentes compostos por mastócitos. Dos LNs avaliados 31% (13/42) tinham alterações na avaliação clínica, 66,6% (28/42) apresentavam -se normais na palpação e 2,4% (1/42) não tinha descrição sobre a avaliação clínica do linfonodo no prontuário médico (**FIGURA 2 e 3**). Sobre o estadiamento clínico 52,4% (22/42) foram classificados como estágio I, 42,8% (18/42) foram classificados como estágio II e 4,8% (2/42) foram classificados como estágio III.

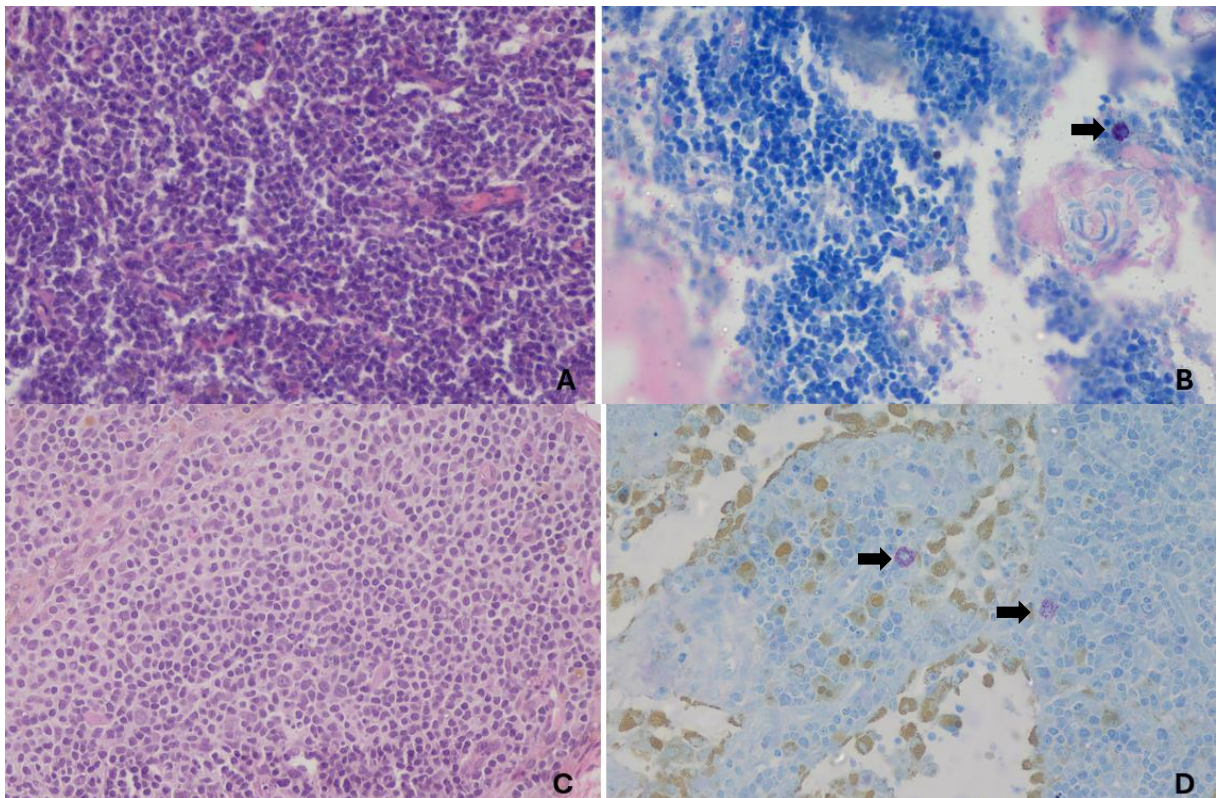


Figura 2: Fotomicrografias de cortes histológicos de linfonodos deste estudo para a classificação de metástases de mastocitoma segundo Weishaar et al. (2014). **(A)** linfonodo classificado como HN0, parênquima preservado com presença de linfócitos, HE, 400X. **(B)** linfonodo classificado como HN0, sendo observados raros mastócitos individualizados (seta), Giemsa, 400X. **(C)** linfonodo classificado como HN1, com parênquima preservado com presença de linfócitos, HE, 400X. **(D)** linfonodo classificado como HN1, com mastócitos multifocais distribuídos no parênquima (seta), Giemsa, 400X.

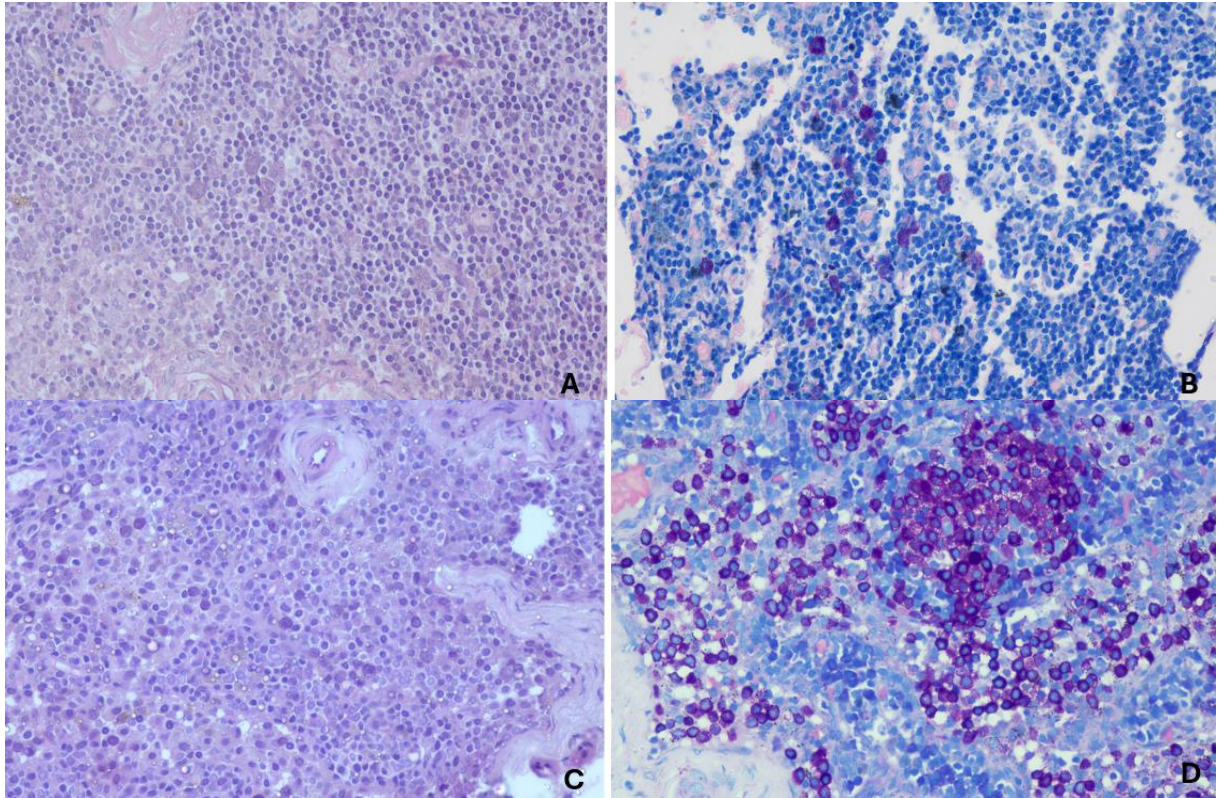


Figura 3- Fotomicrografias de cortes histológicos de linfonodos deste estudo para a classificação de metástases de mastocitoma segundo Weishaar *et al.* (2014). **(A)** linfonodo classificado como HN2, com agregados de mastócitos neoplásicos no parênquima, HE, 400X. **(B)** linfonodo classificado como HN2, com agregados de mastócitos neoplásicos, Giemsa, 400X. **(C)** linfonodo classificado como HN3, com agregados de mastócitos levando a perda da arquitetura linfonodal, HE, 400X. **(D)** linfonodo classificado como HN3, com perda da arquitetura linfonodal pelos agregados de mastócitos, Giemsa, 400X.

Para avaliação de sobrevida e ILD, os dados de graduação histopatológica do tumor primário e classificação histopatológica do LN foram agrupados. Os grupos foram divididos de acordo com a classificação de Kiupel em baixo 71,4% (30/42) e alto grau 28,6% (12/42), de acordo com o status nodal e agrupando o status nodal com a graduação histopatológica do tumor, nos grupos que tiveram 5 ou mais casos, como HN0 baixo grau 35,7% (15/42), HN1 baixo grau 11,9% (5/42), HN3 baixo grau 14,3% (6/42) e HN3 alto grau 16,7% (7/42).

A Tabela 7 apresenta os cães com MCT divididos em um grupo de baixo ou alto grau de Kiupel. Dos 30 cães graduados como baixo grau, 10% (3/30) apresentaram histórico de MCT prévio em localização distinta. Com base no sistema de classificação Patnaik, haviam 36 tumores sendo 22,2 % (8/36) classificados como grau I e 77,8% (28/36) classificados como grau II. Neste grupo os linfonodos foram, ainda, classificados como 50% (15/30) HN0, 16,7% (5/30) HN1, 13,3% (4/30) HN2 e 20% (6/30) HN3. A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M1 em 11,1% (4/36)



dos casos, M2 em 5,5% (2/36) dos casos, e M3 e M4 52,8% (19/36) e não foi possível avaliar em 30,6% (11/36). Na avaliação de margens profundas 16,7% (6/36) foram classificados como M1, 8,3% (3/36) como M2, 50% (18/36) como M3 e M4 e não foi possível avaliar em 25% (9/36) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 52,8% (19/36) em cordão, 41,7% (15/36) em manto e 5,5% (2/36) não foi possível avaliar. Na contagem de células binucleadas e multinucleadas 80,6% (29/36) apresentou até 2 células binucleadas, e nenhum MCT deste grupo apresentou um número maior que 2 células binucleadas embora não tenha sido possível reavaliar 19,4% dos casos (7/36). Já as células multinucleadas foram 72,2% (26/36) até 2 células, nenhum apresentou número maior que 2 células e 27,8% (10/36) não foi possível avaliar. Sobre o índice mitótico 58,3% (31/36) apresentando de 0-2 figuras de mitoses, 11,1% (4/36) entre 2-5 figuras de mitose e 2,8% (1/36) não foi possível avaliar. Neste grupo 56,7% (17/30) dos cães receberam algum tipo de tratamento adjuvante à cirurgia, sendo que 36,7% (11/30) receberam vimblastina, clorambucil ou lomustina isoladas ou em combinação, 6,7% (2/30) dos cães receberam EQT com bleomicina (IV) no transoperatório e 16,7% (5/30) receberam no pós-operatório. Dos 30 cães incluídos neste grupo 56,7% (17/30) estavam vivos ao término da coleta de dados, 30% (9/30) vieram a óbito, mas não relacionado ao MCT e 13,3% (4/30) não foi possível obter informações sobre a sobrevivência. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo 23,3% (7/30) apresentaram novas lesões posteriormente ao tratamento

Dos 12 cães com tumores graduados como alto grau, 25% (3/12) apresentaram histórico de MCT prévio em outra localização e 16,7% (2/12) apresentavam recidiva local no momento do diagnóstico. Com base no sistema de classificação Patnaik, haviam 12 tumores sendo 25% (3/12) classificados como grau II e 75% (9/12) classificados como grau III. Os linfonodos foram classificados como 16,7% (2/12) HN0, 8,3% (1/12) HN1, 16,7% (2/12) HN2 e 58,3% (7/12) HN3. A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M1 em 15,4% (2/13) dos casos, M2 em 7,7% (1/13) dos casos, e M3 e M4 23% (3/13) e não foi possível avaliar em 53,9% (7/13). Na avaliação de margens profundas 38,5% (5/13) foram classificados como M1, 7,7% (1/13) como M2, 15,3% (2/13) como M3 e M4 e não foi possível avaliar em 38,5% (5/13) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 23% (3/13) em cordão, 76,9% (10/13) em manto. Na contagem de células binucleadas e multinucleadas 53,8% (7/13) de até 2 células binucleadas, 46,2% (6/13) com contagem maior que 2 células binucleadas. Já as células multinucleadas foram 76,9% (10/13) até 2 células, 23,1% (3/13) com contagem maior que 2 células. Sobre o índice mitótico 61,5% (8/13) apresentou de 0-2 figuras de mitoses, 23% (3/13) entre 5-7 figuras de mitose e

15,4% (2/13) acima de 7 figuras de mitose. Neste grupo 66,7% (8/12) dos cães receberam algum tipo de tratamento adjuvante á cirurgia, sendo que 66,7% (8/12) receberam vimblastina, clorambucil ou lomustina isoladas ou em combinação, e 2 deles ainda receberam inibidor de tirosina-quinase associados. Dos 12 cães incluídos nesse grupo 33,3% (4/12) estavam vivos ao término da coleta de dados, 16,7% (2/12) vieram á óbito, mas não relacionado ao MCT e 50% (6/12) vieram a óbito relacionado ao MCT. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo 33,3% (4/12) apresentaram novas lesões posteriormente ao tratamento e 25% (3/12) tiveram recidiva local da doença

Em um dos casos do estudo foi observado dois MCT simultâneos, sendo um classificado como baixo grau e grau I e o outro como alto grau e grau II, sendo considerado o tumor de maior graduação na computação dos dados.

Tabela 7.: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo dos grupos de baixo grau e alto grau do estudo.

VARIÁVEL	Baixo grau (n = 30 cães/ 36 tumores)	Alto grau (n = 12 cães e 13 tumores)
Ocorrência prévia de MCT		
SIM / LOCAL DIFERENTE	3/30 (10%)	3/12 (25%)
SIM / MESMO LOCAL	0	2/12 (16,7%)
NÃO	27/30 (90%)	7/12 (58,3%)
Classificação Patnaik		
GRAU I	8/36 (22,2%)	1/13 (7,7%)
GRAU II	28/36 (77,8%)	3/13 (23%)
GRAU III	0	9/13 (69,3%)
Status nodal		
HN0	15/30 (50%)	2/12 (16,7%)
HN1	5/30 (16,7%)	1/12 (8,3%)
HN2	4/30 (13,3%)	2/12 (16,7%)
HN3	6/30 (20%)	7/12 (58,3%)
Margem Lateral		
M1	4/36 (11,1%)	2/13 (15,4%)
M2	2/36 (5,5%)	1/13 (7,7%)
M3 e M4	19/36 (52,8%)	3/13 (23%)
Não foi possível avaliar	11/36 (30,6%)	7/13 (53,9%)

Margem Profunda		
M1	6/36 (16,7%)	5/13 (38,5%)
M2	3/36 (8,3%)	1/13 (7,7%)
M3 e M4	18/36 (50%)	2/13 (15,3%)
Não foi possível avaliar	9/36 (25%)	5/13 (38,5%)
Figuras de mitoses / 2,37mm <sup>2</sup>		
0 - 2 FIGURAS	31/36 (86,1%)	8/13 (61,5%)
2 - 5 FIGURAS	4/36 (11,1%)	0
5 - 7 FIGURAS	0	3/13 (23%)
>7	0	2/13 (15,4%)
Não foi possível avaliar	1/36 (2,8%)	0
Apresentação		
MANTO	15/36 (41,7%)	10/13 (76,9%)
CORDÃO	19/36 (52,8%)	3/13 (23%)
SEM INFORMAÇÃO	2/36 (5,5%)	0
Número de células / 2,37mm <sup>2</sup>		
BINUCLEADAS		
Até 2 células	29/36 (80,6%)	7/13 (53,8%)
Mais de 2 células	0	6/13 (46,2%)
Não foi possível avaliar	7/36 (19,4%)	0
Número de células / 2,37mm <sup>2</sup>		
MULTINUCLEADAS		
Até 2 células	26/36 (72,2%)	10/13 (76,9%)
Mais de 2 células	0	3/13 (23,1%)
Não foi possível avaliar	10/36 (27,8%)	0
Quimioterapia Adjuvante		
CLORAMBUCIL, VIMBLASTINA E/OU LOMUSTINA E/OU ITK	11/30 (36,7%)	8/12 (66,7%)
Eletroquimioterapia		
TRANSOPERATÓRIO	2/30 (6,7%)	0
PÓS-OPERATÓRIO	5/30 (16,7%)	0
Recorrência tumoral		

LOCAL	0	3/12 (25%)
DISTANTE	7/30 (23,3%)	4/12 (33,3%)
Sobrevida específica		
Óbito relacionado	0	6/12 (50%)
Óbito não relacionado	9/30 (30%)	2/12 (16,7%)
Acompanhamento perdido	4/30 (13,3%)	0
Vivos	17/30 (56,7%)	4/12 (33,3%)

As tabelas 8 e 9 apresentam as características dos cães agrupados de acordo com o status nodal e graduação histopatológica. O grupo HN0 baixo grau incluiu 15 cães e 16 MCTs, classificados, segundo Patnaik, em grau I (5/16; 31,3%) e grau II (11/16; 68,7%). A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M1 em 18,7% (3/16) dos casos, M3 e M4 em 37,5% (6/16) e não foi possível avaliar em 43,8% (7/16). Na avaliação de margens profundas 25% (4/16) foram classificadas como M1, 6,3% (1/16) como M2, 37,5% (6/16) como M3 e M4 e não foi possível avaliar em 31,2% (5/16) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 62,5% (10/16) em cordão, 25% (4/16) em manto e 12,5% (2/16) não foi possível avaliar. Sobre o índice mitótico 81,3% (13/16) apresentou contagem de 0-2 figuras de mitoses, 12,5% (2/16) apresentou contagem de 2-5 figuras de mitoses e 6,2% (1/16) não foi possível avaliar. Neste grupo 53,3% (8/15) dos cães receberam algum tratamento adjuvante a cirurgia. Sendo 26,7% (4/15) com vimblastina, clorambucil, lomustina e ou inibidor de tirosina-quinase isoladas ou em combinação, 6,7% (1/15) dos cães receberam eletroquimioterapia com bleomicina (IV) no trans cirúrgico e 20% (3/15) no pós-operatório. Dos 15 cães incluídos nesse grupo 66,7% (10/15) estavam vivos ao término da coleta de dados e 33,3% (5/15) vieram a óbito, mas não relacionado ao MCT. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo 26,7% (4/15) apresentaram novas lesões distantes do foco primário posteriormente ao tratamento.

No grupo HN1 baixo grau no sistema de classificação Patnaik, haviam 5 cães com 8 tumores sendo 25% (2/8) classificados como grau I, 75% (6/8) classificados como grau II e nenhum caso classificado como grau III. A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M2 em 12,5% (1/8) dos casos, M3 e M4 em 75% (6/8) e não foi possível avaliar em 12,5% (1/8). Na avaliação de margens profundas 12,5% (1/8) foram classificadas como M1, 75% (6/8) como M3 e M4 e não foi possível avaliar

em 12,5% (1/8) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 25% (2/8) em cordão, 75% (6/8) em manto. Sobre o índice mitótico 100% (8/8) apresentou contagem de 0-2 figuras de mitoses. Neste grupo 80% (4/5) dos cães receberam algum tratamento adjuvante à cirurgia. Sendo 40% (2/5) com vimblastina, clorambucil, lomustina e ou inibidor de tirosina-quinase isoladas ou em combinação, 40% (2/5) dos cães receberam eletroquimioterapia com bleomicina (IV) no pós-operatório. Dos 5 cães incluídos nesse grupo 80% (4/5) estavam vivos ao término da coleta de dados e 20% (1/5) vieram a óbito, mas não relacionado ao MCT. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo 40% (2/5) apresentaram novas lesões distantes do foco primário posteriormente ao tratamento.

No grupo HN3 baixo grau no sistema de classificação Patnaik, haviam 6 cães com 8 tumores sendo 12,5% (1/8) classificados como grau I, 87,5% (7/8) classificados como grau II e nenhum caso classificado como grau III. A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M1 em 25% (2/8) dos casos, como M2 em 12,5% (1/8) dos casos, M3 e M4 em 50% (4/8) e não foi possível avaliar em 12,5% (1/8). Na avaliação de margens profundas 25% (2/8) foram classificados como M1, 12,5% (1/8) como M2, 37,5% (3/8) como M3 e M4 e não foi possível avaliar em 25% (2/8) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 62,5% (5/8) em cordão, 37,5% (3/8) em manto. Sobre o índice mitótico 75% (6/8) apresentou contagem de 0-2 figuras de mitoses e 25% (2/8) apresentou contagem de 2-5 figuras de mitoses. Neste grupo 100% (6/6) dos cães receberam algum tratamento adjuvante a cirurgia. Sendo 83,3% (5/6) com vimblastina, clorambucil, lomustina e ou inibidor de tirosina-quinase isoladas ou em combinação, 16,7% (1/6) dos cães receberam eletroquimioterapia com bleomicina (IV) no pós-operatório e o mesmo animal também recebeu no pós-operatório 16,7% (1/6). Dos 6 cães incluídos nesse grupo 16,7% (1/6) estavam vivos ao término da coleta de dados, 33,3% (2/6) vieram a óbito, mas não relacionado ao MCT e 50% (3/6) vieram a óbito relacionado ao MCT. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo nenhum animal apresentou novas lesões posteriormente ao tratamento.

No grupo HN3 alto grau no sistema de classificação Patnaik, haviam 7 cães com 8 tumores sendo 12,5% (1/8) classificados como grau I, 12,5% (1/8) classificados como grau II e 75% (6/8) classificado como grau III. A avaliação histopatológica revelou margens laterais classificadas de acordo com Meuten *et al.* (2021) como M2 em 12,5% (1/8) dos casos, M3 e M4 em 25% (2/8) e não foi possível avaliar em 62,5% (5/8). Na avaliação de margens profundas

25% (2/8) foram classificados como M1, 12,5% (1/8) como M2, 12,5% (1/8) como M3 e M4 e não foi possível avaliar em 50% (4/8) dos casos. Sobre a disposição em cordão ou em manto foram observados 37,5% (3/8) em cordão, 62,5% (5/8) em manto. Sobre o índice mitótico 37,5% (3/8) apresentou contagem de 0-2 figuras de mitoses e 62,5% (5/8) apresentou contagem maior que 7 figuras de mitoses. Neste grupo 71,4% (5/7) dos cães receberam tratamento adjuvante à cirurgia com vimblastina, clorambucil, lomustina e ou inibidor de tirosina-quinase isoladas ou em combinação. Dos 7 cães incluídos neste grupo 14,3% (1/7) estavam vivos ao término da coleta de dados, 14,3% (1/7) vieram a óbito, mas não relacionado ao MCT e 71,4% (5/7) vieram a óbito relacionado ao MCT. Sobre a ocorrência de novas lesões deste grupo 28,6% (2/7) apresentaram novas lesões distante do foco primário e 42,9% (3/7) apresentaram recorrência local posteriormente ao tratamento.

Tabela 8.: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo do grupo combinando o status nodal e graduação HN0 baixo e alto grau e HN1 baixo e alto grau.

VARIÁVEL	HN0 Baixo grau (n= 15 cães/ 16 tumores)	HN0 Alto grau (n=2 cães/ 2 tumores)	HN1 Baixo grau (n= 5 cães/ 8 tumores)	HN1 Alto grau (n = 1 cão/ 1 tumor)
<b>Classificação Patnaik</b>				
GRAU I	5/16 (31,3%)	0	2/8 (25%)	0
GRAU II	11/16 (68,7%)	0	6/8 (75%)	0
GRAU III	0	2/2 (100%)	0	1/1 (100%)
<b>Margem Lateral</b>				
M1	3/16 (18,7%)	1/2 (50%)	0	0
M2	0	0	1/8 (12,5%)	0
M3 e M4	6/16 (37,5%)	0	6/8 (75%)	0
Não foi possível avaliar	7/16 (43,8%)	1/2 (50%)	1/8 (12,5%)	1/1 (100%)
<b>Margem Profunda</b>				
M1	4/16 (25%)	1/2 (50%)	1/8 (12,5%)	0
M2	1/16 (6,3%)	0	0	0
M3 e M4	6/16 (37,5%)	0	6/8 (75%)	0
Não foi possível avaliar	5/16 (31,2%)	1/2 (50%)	1/8 (12,5%)	1/1 (100%)
<b>Figuras de mitoses / 2,37mm<sup>2</sup></b>				
0 - 2 FIGURAS	13/16 (81,3%)	2/2 (100%)	8/8 (100%)	1/1 (100%)
2 - 5 FIGURAS	2/16 (12,5%)	0	0	0
5 - 7 FIGURAS	0	0	0	0
>7	0	0	0	0

Não foi possível avaliar	1/16 (6,2%)	0	0	0
Apresentação				
MANTO	4/16 (25%)	2/2 (100%)	6/8 (75%)	1/1 (100%)
CORDÃO	10/16 (62,5%)	0	2/8 (25%)	0
SEM INFORMAÇÃO	2/16 (12,5%)	0	0	0
Quimioterapia Adjuvante				
CLORAMBUCIL, VIMBLASTINA E/OU LOMUSTINA E/OU ITK	4/15 (26,7%)	2/2 (100%)	2/5 (40%)	0
Eletroquimioterapia				
TRANSOPERATÓRIO	1/15 (6,7%)	0	0	0
PÓS-OPERATÓRIO	3/15 (20%)	0	2/5 (40%)	0
Recorrência tumoral				
LOCAL	0	0	0	0
DISTANTE	4/15 (26,7%)	0	2/5 (40%)	1/1 (100%)
Sobrevida específica				
Óbito relacionado	0	0	0	1/1 (100%)
Óbito não relacionado	5/15 (33,3%)	0	1/5 (20%)	0
Acompanhamento perdido	0	0	0	0
Vivos	10/15 (66,7%)	2/2 (100%)	4/5 (80%)	0



Tabela 9: Características histopatológicas e de tratamento dos cães com mastocitoma cutâneo do grupo combinando o status nodal e graduação HN2 baixo e alto grau e HN3 baixo e alto grau.

VARIÁVEL	HN2 Baixo grau (n= 4 cães/ 4 tumores)	HN2 Alto grau (n=2 cães/ 2 tumores)	HN3 Baixo grau (n= 6 cães/ 8 tumores)	HN3 Alto grau (n = 7 cães 8 tumores)
<b>Classificação Patnaik</b>				
GRAU I	0	0	1/8 (12,5%)	1/8 (12,5%)
GRAU II	4/4 (100%)	1/2 (50%)	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)
GRAU III	0	1/2 (50%)	0	6/8 (75%)
<b>Margem Lateral</b>				
M1	0	1/2 (50%)	2/8 (25%)	0
M2	0	0	1/8 (12,5%)	1/8 (12,5%)
M3 e M4	3/4 (75%)	1/2 (50%)	4/8 (50%)	2/8 (25%)
Não foi possível avaliar	1/4 (25%)	0	1/8 (12,5%)	5/8 (62,5%)
<b>Margem Profunda</b>				
M1	0	1/2 (50%)	2/8 (25%)	2/8 (25%)
M2	1/4 (25%)	0	1/8 (12,5%)	1/8 (12,5%)
M3 e M4	2/4 (50%)	1/2 (50%)	3/8 (37,5%)	1/8 (12,5%)
Não foi possível avaliar	1/4 (25%)	0	2/8 (25%)	4/8 (50%)
<b>Figuras de mitoses / 2,37mm<sup>2</sup></b>				
0 - 2 FIGURAS	4/4 (100%)	2/2 (100%)	6/8 (75%)	3/8 (37,5%)
2 - 5 FIGURAS	0	0	2/8 (25%)	0
5 - 7 FIGURAS	0	0	0	0
>7	0	0	0	5/8 (62,5%)
Não foi possível avaliar	0	0	0	0
<b>Apresentação</b>				

MANTO	2/4 (50%)	2/2 (100%)	3/8 (37,5%)	5/8 (62,5%)
CORDÃO	2/4 (50%)	0	5/8 (62,5%)	3/8 (37,5%)
SEM INFORMAÇÃO	0	0	0	0
Quimioterapia Adjuvante CLORAMBUCIL, VIMBLASTINA E/OU LOMUSTINA E/OU ITK	1/4 (25%)	1/2 (50%)	5/6 (83,3%)	5/7 (71,4%)
Eletroquimioterapia TRANSOPERATÓRIO	0	0	1/6 (16,7%)	0
PÓS-OPERATÓRIO	0	0	1/6 (16,7%)	0
Recorrência tumoral LOCAL	0	0	0	3/7 (42,9%)
DISTANTE	1/4 (25%)	1/2 (50%)	0	2/7 (28,6%)
Sobrevida específica Óbito relacionado	0	0	0	5/7 (71,4%)
Óbito não relacionado	0	0	3/6 (50%)	1/7 (14,3%)
Acompanhamento perdido	2/4 (50%)	0	2/6 (33,3%)	0
Vivos	2/4 (50%)	2/2 (100%)	1/6 (16,7%)	1/7 (14,3%)

Quanto a avaliação de sobrevida específica e intervalo livre de doença de todos os animais do estudo as medianas não foram atingidas. Sendo que apenas 14,3% (6/42) pacientes apresentaram óbito relacionado ao MCT e 7,2% (3/42) apresentaram recidivas locais. Na avaliação de sobrevida específica dos animais classificados como baixo grau 71,4% (30/42) e alto grau 28,6% (12/42) de Kiupel a mediana foi atingida apenas no alto grau com 1292 dias ( $p < 0,0001$ ) (**FIGURA 4**) e na avaliação do intervalo livre de doença a mediana não foi atingida para ambas as classificações (**FIGURA 5**). De acordo com o status nodal, a mediana de sobrevida e intervalo livre de doença não foram atingidas para nenhum dos grupos.

Figura 4: Curva de Kaplan-Meier contendo o tempo de sobrevida dos casos classificados baixo grau (n=30) e alto grau (n=12) com mediana de sobrevida atingida apenas para alto grau com 1292 dias. O tempo de sobrevida foi prolongado em ambos os grupos. Teste de longrank  $p < 0,0001$ .

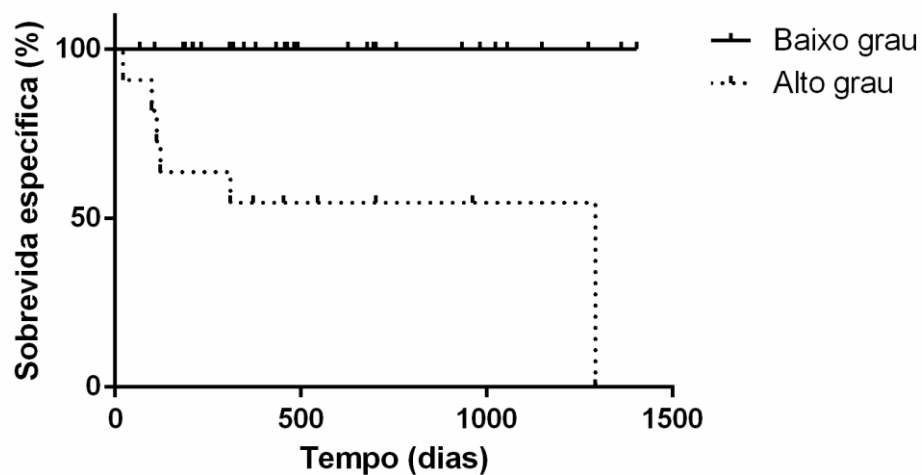
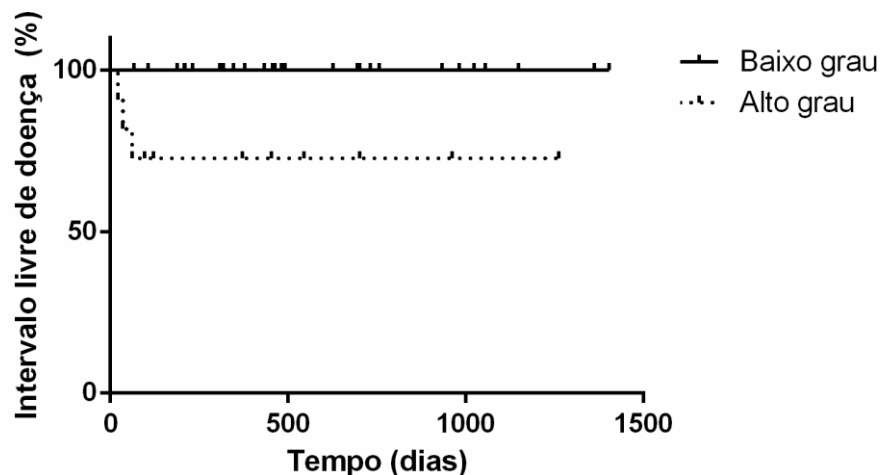


Figura 5: Curva de Kaplan-Meier contendo o intervalo livre de doença dos casos classificados como baixo grau (n=30) e alto grau (n=12) a mediana do intervalo livre de doença não foi atingida em ambos os grupos. O intervalo livre de doença foi prolongado em ambos os grupos.



Nas comparações dos grupos combinando o status nodal e graduação, apenas para grupos com mais de 5 casos, HN0 baixo grau 35,7% (15/42), HN1 baixo grau 11,9% (5/42), HN3 baixo grau 14,3% (6/42) e HN3 alto grau 16,7% (7/42). As medianas de sobrevida específica e intervalo livre de doença foram atingidas somente para o grupo HN3 alto grau com 117 dias ( $p < 0,0001$ ) (**FIGURA 6**) e 61 dias ( $p < 0,0001$ ) (**FIGURA 7**), respectivamente.

Figura 6: Curva de Kaplan-Meier contendo o tempo de sobrevida dos casos combinando status nodal e graduação tumoral, para grupos com 5 ou mais casos, sendo HN0 baixo grau (n=15), HN1 baixo grau (n=5), HN3 baixo grau (n=6) e HN3 alto grau (n=7). A mediana de sobrevida foi atingida somente para o grupo HN3 alto grau com 117 dias e o tempo de sobrevida nos demais grupos foi prolongado. Teste de longrank  $p < 0,0001$ .

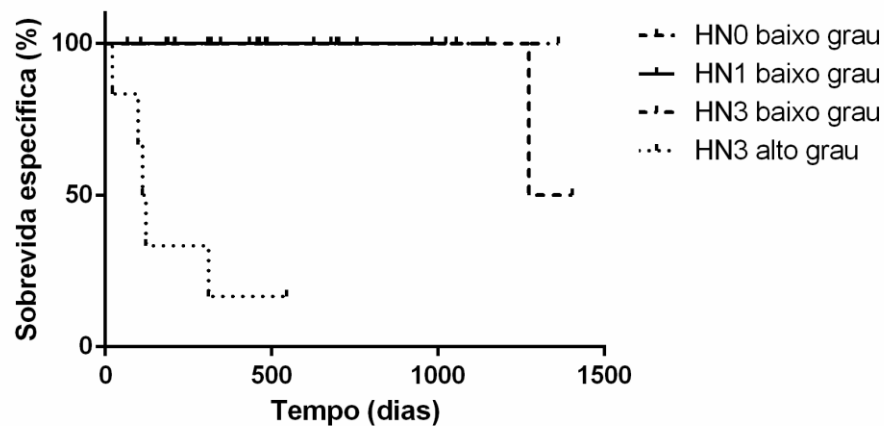
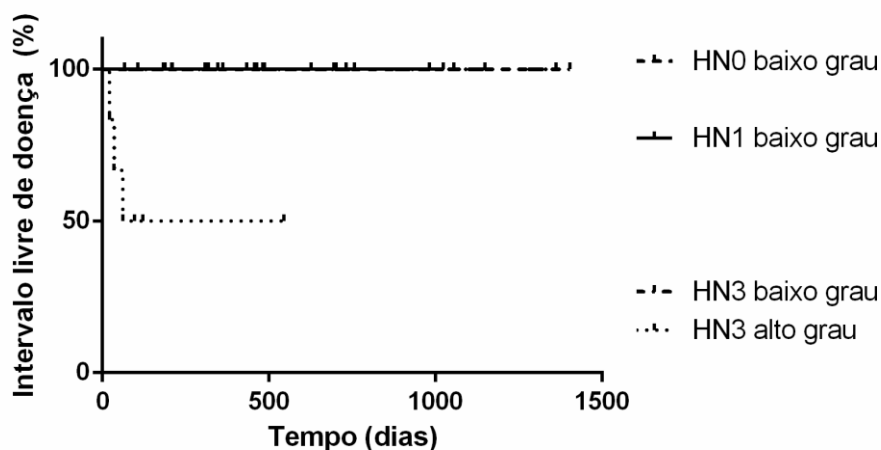


Figura 7: Curva de Kaplan-Meier contendo o intervalo livre de doença dos casos combinando status nodal e graduação tumoral, para grupos com 5 ou mais casos, sendo HN0 baixo grau (n=15), HN1 baixo grau (n=5), HN3 baixo grau (n=6) e HN3 alto grau (n=7). A mediana do intervalo livre de doença foi atingida somente para o grupo HN3 alto grau com 61 dias e o tempo do intervalo livre de doença nos demais grupos foi prolongado. Teste de longrank  $p < 0,0001$ .



Quanto as correlações observadas neste estudo, foram encontrados somente correlações moderadas e positivas, sendo observadas entre a ocorrência de óbito e a idade dos cães ( $p < 0,0001$ ,  $rs = 0,6249$ ), ulceração do tumor ( $p = 0,0117$ ,  $rs = 0,656$ ), ocorrência de mastocitoma prévio quando eram recidivas locais ( $p = 0,0051$ ,  $rs = 0,4444$ ), classificação histopatológica do tumor ( $p = 0,0093$ ,  $rs = 0,4455$ ), classificação histopatológica do LN ( $p = 0,0094$ ,  $rs = 0,4211$ ) e número de figuras de mitose ( $p = 0,0064$ ,  $rs = 0,4711$ ). Também observou correlação entre a ocorrência de recidiva local e a classificação histopatológica do tumor ( $p = 0,0117$ ,  $rs = 0,4101$ ), classificação histopatológica do LN ( $p = 0,0240$ ,  $rs = 0,3519$ ) e número de figuras de mitoses ( $p = 0,0014$ ,  $rs = 0,5098$ ).

Nos aspectos clínicos foram observadas correlações moderadas e positivas entre a presença de ulceração do tumor e a idade do cão ( $p = 0,0370$ ,  $rs = 0,4811$ ), classificação histopatológica do tumor ( $p = 0,0057$ ,  $rs = 0,5940$ ), ocorrência de recidiva local ( $p = 0,0000$ ,  $rs = 0,7934$ ) e número de figuras de mitose ( $p = 0,0177$ ,  $rs = 0,5239$ ). Também entre a ocorrência de MCT prévio e a classificação histopatológica ( $p = 0,0311$ ,  $rs = 0,3548$ ) e ocorrência de recidiva local ( $p = 0,0083$ ,  $rs = 0,4019$ ). A realização de quimioterapia adjuvante se correlacionou ainda com a classificação histopatológica do linfonodo ( $p = 0,0464$ ,  $rs = 0,3295$ ).

Acerca dos critérios histopatológicos houve correlação moderada positiva entre a classificação histopatológica do tumor e a idade dos animais ( $p = 0,0479$ ,  $rs = 0,3367$ ), ocorrência alteração clínica do LN ( $p = 0,0001$ ,  $rs = 0,5835$ ) e número de células binucleadas ( $p = 0,0000$ ,  $rs = 0,6805$ ). Houve também correlação entre o número de células binucleadas e número de figuras de mitose ( $p = 0,0002$ ,  $rs = 0,6253$ ), entre a alteração clínica do linfonodo e o estadiamento clínico ( $p = 0,0000$ ,  $rs = 0,6096$ ) e entre a distribuição em cordão ou manto e o estadiamento clínico ( $p = 0,0351$ ,  $rs = 0,3679$ ) (**TABELA 10**).

Tabela 10 - Estatística inferencial (correlação de Spearman) dos 42 cães com MCT cutâneo incluídos no estudo.

VARIÁVEIS CORRELACIONADAS	p	rs
Óbito x Idade	<0,0001	0,6249
Óbito x ulceração	0,0117	0,6561
Óbito x Mastocitoma prévio	0,0051	0,4444
Óbito x Classificação Patinaik/ Kiupel	0,0093	0,4455
Óbito x Metástase do Linfonodo	0,0094	0,4211
Óbito x Figuras de mitose	0,0064	0,4711
Óbito x Recidiva	0,0024	0,4765

Recidiva x Classificação Patinaik/ Kiupel	<i>0,0117</i>	<i>0,4101</i>
Recidiva x Metástase do Linfonodo	<i>0,0240</i>	<i>0,3519</i>
Recidiva x Figuras de mitose	<i>0,0014</i>	<i>0,5098</i>
Ulceração x Idade	<i>0,0370</i>	<i>0,4811</i>
Ulceração x Classificação Patinaik/ Kiupel	<i>0,0057</i>	<i>0,5940</i>
Ulceração x Figuras de mitose	<i>0,0177</i>	<i>0,5239</i>
Ulceração x Recidiva	<i>&lt;0,0001</i>	<i>0,7934</i>
Quimioterapia x Metástase do Linfonodo	<i>0,0464</i>	<i>0,3295</i>
Classificação Patinaik/ Kiupel x Idade	<i>0,0479</i>	<i>0,3367</i>
Classificação Patinaik/ Kiupel x Alteração clínica do linfonodo	<i>0,0001</i>	<i>0,5835</i>
Classificação Patinaik/ Kiupel x Número de células Binucleadas	<i>&lt;0,0001</i>	<i>0,6805</i>
Alteração clínica do linfonodo x Estadiamento clínico	<i>0,0000</i>	<i>0,6096</i>
Figuras de mitoses x Número de células Binucleadas	<i>0,0002</i>	<i>0,6253</i>
Distribuição em cordão ou manto x Estadiamento clínico	<i>0,0351</i>	<i>0,3679</i>

## 7. DISCUSSÃO

A presença de metástase linfonodal em cães com mastocitomas (MCTs) indica tumor biologicamente agressivo com maior risco de progressão de óbito relacionado ao MCT, sendo relatada como um indicador de prognóstico negativo, com impacto na decisão terapêutica (Murphy *et al.*, 2006; Weishaar *et al.*, 2014; Horta *et al.*; 2018). A linfadenectomia eletiva de LNs melhora o resultado apresentando melhor prognóstico (Ferrari *et al.*, 2018; Marconato *et al.*, 2018). O sistema de estadiamento clínico da OMS é baseado na extensão da doença e é utilizado para prever o comportamento e sobrevida. De acordo com esse sistema, o estágio II é caracterizado por tumores primários confinados à derme e envolvimento LN regional, no entanto a caracterização de metástase no linfonodo pode ser um desafio (KRICK *et al.*, 2009; Ferrari *et al.*, 2018). O SLN é o primeiro linfonodo que recebe drenagem linfática direta de um tumor primário. A linfangiogênese induzida pelo tumor aumenta a variabilidade de padrões de drenagem linfática local, dificultando assim a possibilidade de identificação do SLN baseando-se apenas na localização anatômica. O mapeamento linfático por meio de contrastes radiográficos é indicado para melhor identificação do SLN e a identificação trans cirúrgica pode ser facilitada pelo uso dos corantes vitais como o azul patente e azul de metileno (Ferrari, *et al.*, 2020). Aproximadamente 40% dos linfonodos seriam perdidos se apenas o LN anatomicamente mais próximo fosse considerado na linfadenectomia (Worley, 2012). Apesar disso os estudos mais recentes basearam na drenagem anatômica regional (RLN) para linfadenectomia em casos de MCTs apresentando LNs metastáticos e obtiveram benefício terapêutico com maior tempo de sobrevida dos pacientes (Marconato *et al.*, 2018; Mendez *et al.*, 2019; Chalfon *et al.*, 2022). No presente estudo foi realizada a linfadenectomia baseada também na drenagem linfática anatômica, sendo removido o RLN mais próximo do tumor, assim é possível que nem todos os linfonodos sentinelas tenham sido removidos, deixando em alguns animais um reservatório de células neoplásicas, no entanto, isso é pouco provável, pois de uma forma geral observou-se bom controle da doença nos grupos. A avaliação do SLN é uma área em evolução na medicina veterinária por isso estudos adicionais são necessários para elucidar a real vantagem deste procedimento em relação a identificação do linfonodo anatômico (Ferrari, *et al.*, 2018).

Sabe-se que a palpação clínica do LN tem um valor limitado na previsão de metástase regional em MCTs da mesma forma, que a citologia tem sido associada a resultados falsos positivos e negativos (Langenbach, *et al.* 2001; Ku, *et al.*, 2016). Durante a avaliação clínica dos LNs foram identificadas alterações de tamanho e consistência em 23,5% (4/17) do grupo

HN0, 16,7% (1/6) do grupo HN1, 16,7% (1/6) do grupo HN2 e 53,9% (7/13) do grupo HN3. Os MCTs classificados como alto grau e grau III tem maior taxa de metástases, sendo o LN o local primário para a ocorrência, neste estudo 70% (7/10) dos tumores classificados como alto grau e grau III apresentavam LN metastático (HN2 ou HN3). A relevância clínica da incidência de metástase encontrada em LN de aspecto macroscópico normal reforça a importância do planejamento cirúrgico incluindo a remoção do mesmo em cães com MCT. A linfadenectomia regional, nos casos de LN metastático, tem potencial terapêutico, com evidências de redução da recorrência local e desenvolvimento de metástases à distância. A avaliação histopatológica para a identificação de metástase permanece sendo o padrão ouro para o diagnóstico de metástase em LN (Langenbach, *et al.* 2001; Ku, *et al.*, 2016).

Nos MCTs cutâneos caninos o estadiamento clínico, graduação histopatológica do tumor e o histórico de recorrência são fatores prognósticos importantes (De nardi *et al.*, 2022; Horta *et al.*, 2018). No presente estudo o grupo HN3 baixo grau teve melhor resultado na sobrevida e ILD quando comparado ao grupo HN3 alto grau, ambos submetidos ao tratamento multimodal. Esses grupos classificados no mesmo estágio clínico, mas com graduações histológicas distintas, demonstram a relevância prognóstica da graduação, conforme demonstrado por Guerra, *et al.* (2022) em um estudo retrospectivo com 60 cães, em que 26 possuíam MCT cutâneo de alto grau e 34 tinham MCT cutâneo de baixo grau e com SLN metastático que foram submetidos a excisão cirúrgica do tumor, linfadenectomia e quimioterapia. O ILD foi significativamente menor no grupo de alto grau do que no grupo de baixo grau (214 dias versus não alcançado), bem como a sobrevida específica do tumor (545 dias versus não alcançado) e na análise multivariada, um alto grau histológico manteve o significado prognóstico tanto para a progressão do tumor como para a morte específica do tumor. Entretanto, no presente estudo a avaliação da combinação do status nodal e graduação foi superior em comparação com os outros grupos, e a associação de HN3 com alto grau resultou em pior prognóstico quando comparados as outras classificações, com medianas do intervalo livre de doença e sobrevida baixas, já os tumores classificados como alto grau, mas com linfonodos apresentando baixa classificação como HN0, HN1 e HN2 apresentaram bom prognóstico.

Na análise de sobrevida a mediana foi atingida para o grupo classificado como alto grau e para o grupo combinando HN3 e alto grau, já o intervalo livre de doença a mediana foi atingida somente para o grupo HN3 e alto grau. De forma geral os valores de sobrevida e ILD dos demais grupos foram significativamente prolongados, o que pode ser justificado pela terapia



multimodal com cirurgia e linfadenectomia em 100% dos cães, EQT com bleomicina (IV) em 21,2% (7/33) dos cães, quimioterapia sistêmica em 39,4% (13/33) dos cães. O linfonodo regional metastático pode atuar como reservatório de mastócitos neoplásicos, podendo então, ocorrer a progressão da doença, e a realização da linfadenectomia melhora a sobrevida removendo a carga adicional do tumor (Marconato *et al.*, 2018). O MCT é uma neoplasia maligna com comportamento variável, sendo a cirurgia o tratamento de escolha para controle local da doença, mas também é necessária avaliação de muitos fatores prognósticos para definir a necessidade de terapias adicionais (Jark *et al.* 2013).

No presente estudo 59,5% (25/42) dos cães receberam algum tipo de tratamento adjuvante como quimioterapia, uso de TKI e EQT com bleomicina (IV). Foi também observado correlação positiva moderada entre a presença de metástase no linfonodo com a realização de quimioterapia adjuvante ( $p=0,0464$ ,  $rs=0,3295$ ), já que esse foi um dos critérios para indicação de terapias adjuvantes. O status do LN e o grau histológico do tumor estão entre os indicadores prognósticos mais importantes para cães com MCTs cutâneos, e a presença de metástase no LN ou um alto grau histológico é um fator determinante para a recomendação de tratamento sistêmico adjuvante (Blackwood *et al.*, 2012). Devido ao comportamento variável do MCT, é importante avaliar o grau histológico juntamente com outros fatores clínicos de relevância prognóstica, como tamanho do tumor, localização anatômica, presença de metástases, a presença de múltiplas lesões e ulceração tumoral para melhor decisão terapêutica (Stefanello *et al.*, 2015). Nos grupos classificados como HN0, HN1, HN2 e baixo grau outros fatores prognósticos podem ter influenciado na decisão médica para a realização do tratamento adjuvante, como por exemplo a presença de margens comprometidas e a contagem de figuras de mitose.

No presente estudo foi observado que 33% (10/30) dos cães com o tumor classificado como baixo grau de Kiupel tiveram os LNs classificados como metastáticos HN2 ou HN3. Apesar de 40% (4/10) desses cães não terem realizado tratamento adjuvante a mediana de sobrevida não foi atingida para os grupos de baixo grau, HN2 baixo grau e HN3 baixo grau. Em um estudo semelhante de Marconato, *et al.* (2018) a mediana de sobrevida para cães com MCT e metástase no LN foi de 811 dias, sendo que todos os animais foram submetidos a tratamento quimioterápico adjuvante. Diante disso, reforça-se que uma proporção de cães terá doença metastática, apesar do baixo grau histológico, e a importância da linfadenectomia para melhor determinação prognóstica e abordagem terapêutica (Stefanello *et al.*, 2015). Enquanto a

linfadenectomia de LNs metastáticos, melhora o tempo de sobrevida, o benefício da terapia adjuvante nos casos de baixo grau e LN classificados como HN2 é incerto. No estudo de Cino *et al.*, (2023) 39 cães com MCTs primários classificados como baixo grau e grau 2 com linfonodo HN2 tratados apenas com cirurgia tiveram bom prognóstico, e nenhum dos cães apresentou metástase local, nodal ou à distância. No estudo de Marconato *et al.*, (2020) 73 cães com MCT de baixo grau e LN HN2, foram submetidos a exérese do tumor primário e linfadenectomia, sendo que apenas 43 receberam tratamento adjuvante. Os dois grupos apresentaram benefício da linfadenectomia com mediana de sobrevida não atingida, mas os cães que receberam quimioterapia adjuvante apresentaram maior risco de progressão tumoral com menor intervalo livre de doença, não demonstrando ter benefício o tratamento adjuvante nesses casos. No presente trabalho 4 casos foram classificados como de baixo grau com LN HN2, 3 deles não foram submetidos a tratamento quimioterápico adjuvante e nenhum deles até o presente momento apresentou nova lesão ou óbito relacionado ao MCT, com tempo médio de acompanhamento de 552 dias. O único caso submetido a quimioterapia de baixo grau e LN HN2 apresentou nova lesão em local distante do foco primário com 202 dias, mas seria necessário um maior número de casos com essa classificação para melhor comparação dos dados.

Nos cães avaliados no presente estudo 26,2% (11/42) apresentaram surgimento de novas lesões distantes do foco primário e não foram consideradas recidivas locais e sim “de novo” MCT, termo utilizado por Davies *et al.* (2002). O desenvolvimento de “de novo” MCTs parece ocorrer esporadicamente (11,1%) nos pacientes de risco intermediário, não sendo observado naqueles de baixo risco, entretanto, não se encontra associado a um pior prognóstico (Davies *et al.*, 2002). Múltiplas lesões podem ocorrer, de forma independente ou com a progressão da doença, sendo difícil a diferenciação entre elas (De nardi *et al.*, 2022). No grupo HN3 alto grau 71,4% (5/7) apresentaram novas lesões, sendo 3 delas recidivas locais. Neste estudo a presença de novas lesões teve maior impacto na sobrevida quando elas eram recidivas locais, demonstrando pior prognóstico nesses casos.

Foi observada recidiva local em 3 cães do grupo HN3 alto grau, sendo todos alto grau de Kiupel e grau III de Patnaik. Na revisão histopatológica, não foi possível avaliar o grau de comprometimento das margens cirúrgicas em 2 dos casos e um deles apresentou margens profundas comprometidas (M1). Um dos casos em que não foi possível avaliar a margem cirúrgica, o MCT estava localizado em pina de orelha, região associada a comportamento mais

agressivo, pior prognóstico (Welle *et al.*, 2008; London e Thamm 2013). Os outros dois casos no momento do diagnóstico inicial, já eram casos recidivantes operados anteriormente em outro serviço veterinário e, também os dois casos com menor tempo de sobrevida específica e ILD do estudo, por esse motivo também podem ter influenciado negativamente na avaliação de sobrevida e ILD. No presente estudo houve correlação positiva moderada de recidiva local com as seguintes variáveis: presença de metástase no linfonodo ( $p=0,0240$ ,  $rs=0,3519$ ), classificação histopatológica do tumor ( $p=0,0311$ ,  $rs=0,3548$ ), contagem de figuras de mitoses ( $p=0,0149$ ,  $rs=0,5098$ ) e óbito relacionado ao MCT ( $p=0,0024$ ,  $rs=0,4765$ ). Enquanto é importante distinguir os pacientes com recidivas locais daqueles com “de novo” MCTs, Horta *et al.* (2018) em seu estudo mostrou maior risco de óbito relacionado ao MCT em pacientes com recidivas tumorais confirmadas, no mesmo local ou próximo da cicatriz cirúrgica. Assim, preconiza-se também a avaliação das margens cirúrgicas e emprego de terapias adjuvantes locais nos casos em que não é possível a remoção completa da neoplasia. No presente estudo 16,7% (7/42) dos cães foram submetidos a tratamento local com EQT com bleomicina (IV), um deles recebeu em dois momentos sendo no trans e no pós-operatório, dentre eles 82,7% (6/7) foram submetidos no pós-operatório e todos eles apresentaram margens comprometidas no laudo histopatológico, 28,5 % (2/7) receberam no transoperatório apresentando os tumores com diâmetro próximo a 4cm (3,5cm um e 3,8cm o outro) em região de tronco, o que pode ter sido o motivo da indicação, levando em consideração que deve ser realizado margens cirúrgicas de 2cm laterais e 1 plano profundo, o uso da EQT ajudaria no controle local. No estudo de Donnelly *et al.* (2013) tumores de alto grau tiveram maior probabilidade de recorrência do que tumores de baixo grau (35,9% versus 3,9%), ( $p < 0,0001$ ). Vinte e nove por cento dos tumores de baixo grau tinham margens cirúrgica inferior a 3 cm; nenhum apresentou recidiva local. Tumores de alto grau apresentam risco significativo de recidiva local, independentemente da margem. Observaram também que a recidiva tumoral teve maior frequência em MCTs de alto grau quando comparados aos tumores de baixo grau, mesmo estes últimos com margens exíguas. Assim, podemos considerar a recidiva sendo relacionada ao grau histológico e margem cirúrgica demonstrando maior risco de óbito relacionado ao tumor como analisado no presente estudo.

A ocorrência de óbito relacionado ao MCT foi de 0% (0/30) no grupo classificado como baixo grau e 50% (6/12) no grupo alto grau, no grupo classificado de acordo com o status nodal as taxas de óbito relacionado foram 38,5% (5/13) HN3, 16,7% (1/6) HN1 e nos grupos HN0 e HN2 não houve nenhum óbito relacionado, já quando associado a graduação histopatológica

do tumor com a classificação do status nodal foi observado óbito relacionado ao MCT de 71,4% (5/7) no grupo HN3 alto grau. Houve correlação positiva moderada entre a ocorrência de óbito e a presença de metástase no LN ( $p=0,0094$ ,  $rs= 0,4211$ ) e a graduação histopatológica do tumor ( $p=0,0093$ ,  $rs=0,4455$ ). As maiores taxas de óbito relacionadas ao MCT foram observadas no presente estudo nos grupos que apresentavam metástase no LN e nos tumores de alto grau. Horta *et al.*, (2018) em um estudo com 149 casos de MCTs caninos, observou que o maior risco de óbito (62%) relacionado ao MCT foram as recidivas tumorais e a presença de metástases no LN e risco intermediário de óbito (14%) relacionado ao MCT foi relacionado a outros fatores prognósticos como a graduação histopatológica do tumor, contagem mitótica, alta expressão de Ki 67, KIT padrão 3 e ITD no exon 11 de KIT. Na ausência de qualquer um desses fatores, o risco de morte relacionado ao MCT (4%) foi reduzido.

Dos critérios clínicos gerais observados nos animais do estudo observou-se predomínio de cães sem raça definida, conforme observado em outros estudos, no entanto, outras raças encontradas no presente estudo também são citadas como predispostas como Labrador, Pug, Golden Retriever, Boxer, Buldogues, Schnauzer e Cocker Spaniel e Shar-pei (Welle *et al.*, 2008; London e Thamm, 2013; S´miech, *et al.*, 2018). Em termos de predisposição sexual a literatura não demonstra associação da ocorrência de MCT com o sexo. A idade foi compatível com os dados da literatura de que a ocorrência é mais frequentes em animais adultos a idosos com média descrita de 8 a 9 anos de idade, mas pode ocorrer em qualquer idade (London e Thamm, 2013). No estudo de Selmic *et al.* (2018) na avaliação de correlação entre idade e grau do MCT revelou que nos cães o risco de desenvolvimento de MCT de alto grau aumentou com a idade, atingindo o maior grau no grupo de cães mais velhos, com idades entre 11 e 16 anos. O que também foi observado neste estudo, foi a correlação positiva idade com a classificação histopatológica do tumor ( $p=0,0479$ ,  $rs=0,3367$ ), presença de ulceração ( $p=0,0370$ ,  $rs=0,4811$ ) e ocorrência de óbito ( $p=0,0000$ ,  $rs= 0,6249$ ). A maior média de idade (13,8 anos com variação de 8 a 18 anos) foi observada, ainda, no grupo de maior grau histopatológico e metástase de linfonodo (HN3 alto grau), além disso os animais que vieram a óbito relacionado ao MCT tiveram média de idade de 14 anos (8 a 22 anos), demonstrando o comportamento mais agressivo em idades mais avançadas, o que pode estar relacionado à atraso na busca por assistência veterinária e progressão da doença desde seu aparecimento. A presença de ulceração tumoral é outro fator que foi previamente associado ao pior grau histopatológico, os MCTs de alto grau ou indiferenciados, apresentam tamanho variável, mas crescimento rápido e normalmente, é acompanhado de ulceração (Welle *et al.*, 2008; London e Thamm, 2013). Os 3

casos que apresentaram ulceração tumoral deste estudo, tinham 8, 17 e 22 anos, esses mesmos casos foram classificados como alto grau de Kiupel e dois deles tinham metástase no LN (HN3). Houve correlação positiva moderada entre a presença de ulceração e o óbito relacionado ao mastocitoma ( $p=0,0117$ ,  $rs=0,6561$ ), a maior graduação histopatológica do tumor ( $p=0,0057$ ,  $rs= 0,5940$ ), e ocorrência de recidiva local ( $p=0,0127$ ,  $rs= 0,5461$ ). Os três pacientes que manifestaram ulceração vieram á óbito relacionado ao MCT, foram graduados como alto grau e grau III e em dois deles ocorreram recidivas locais posteriormente ao tratamento cirúrgico. Apesar de um número reduzido, esses achados corroboram com a associação entre o aspecto macroscópico do MCT e sua graduação ou mesmo prognóstico (Welle et al., 2008; London e Thamm, 2013).

A literatura também descreve os locais de maior ocorrência sendo os relatados no estudo como tronco, membros, cabeça e pescoço e com menor frequência na bolsa escrotal, no períneo e cauda (Sfiligoi *et al.*, 2005; Welle *et al.*, 2008). Os MCTs que se desenvolvem na cavidade oral, junções mucocutâneas, pina de orelhas, região prepucial, escrotal, inguinal, perineal e subungueal tendem a se comportar de maneira mais agressiva, independentemente do grau histológico e maior chance de metástases (Dobson e Scase, 2007). Quando os MCTs ocorrem na região escrotal e nasal são mais propensos a exibirem comportamento mais agressivo e metástases mais precoces (Horta *et al.*, 2018; Smiech *et al.*, 2018). No presente estudo 3 casos tiveram a localização do tumor em locais considerados de pior comportamento biológico, sendo um deles em região de pina de orelha que foi classificado como alto grau e LN HN3 este mesmo apresentou recidiva local e óbito relacionado ao MCT, outro caso apresentou em região de prepúcio sendo classificado como alto grau com linfonodo HN1 e também apresentou óbito relacionado ao MCT e o último caso apresentou em região de bolsa escrotal classificado como baixo grau e linfonodo HN3, mas apresentou óbito não relacionado ao MCT, apresentando nesses casos pior comportamento e maior potencial metastático.

Segundo Souza *et al.* (2018) em um estudo retrospectivo entre 2005 e 2015 com 105 animais, os MCTs cutâneos foram classificados como grau I em 11,8%, grau II em 73,7% e grau III em 14,5% na graduação Patnaik. Pela graduação Kiupel foram considerados baixo grau 64,8% e alto grau 35,2%, com valores semelhantes ao presente estudo com maior incidência dos tumores de baixo grau e grau II. A literatura cita que os MCTs de alto grau e indiferenciados, podem apresentar tamanho variável, crescimento rápido, ulceração, dor, inflamação local e presença de nódulos satélites (Welle *et al.*, 2008). No presente estudo foi relatado presença de ulceração

em 6% (3/49) dos tumores, em 46,9% (23/49) dos tumores não apresentaram ulceração e em 46,9% (23/49) dos casos não tinham informações sobre o prontuário médico.

Espera-se que os graus I e II de Patnaik ou baixo grau de Kiupel apresentem um baixo potencial para comportamento biológico agressivo (Warland *et al.*, 2012). Entretanto MCTs de baixo grau com metástases no LN ou distante no momento do diagnóstico, foram ocasionalmente relatados apresentando comportamento biológico de tumores de alto grau (Baginski *et al.*, 2014; Weishaar *et al.*, 2014; Bae *et al.*, 2020). No presente estudo os tumores classificados como de baixo grau apresentaram taxa de metástase em RLN (HN2/HN3) de 33,3% (10/30) e em nenhum desses casos apresentou óbito relacionado ao MCT e metástase à distância. Em um estudo conduzido por Bae *et al.*, (2020) uma metanálise, um total de 8 estudos foram selecionados e dados sobre 121 cães com MCT de baixo grau, apresentando metástase no linfonodo regional e/ou metástases à distância foram incluídos, 69% dos casos foram submetidos a tratamento com cirurgia e quimioterapia adjuvante, 14% com cirurgia combinada com radioterapia e quimioterapia, 10% receberam quimioterapia de forma isolada e 6% foram submetidos somente a cirurgia como tratamento. Observou-se pior prognóstico com menor tempo de sobrevida nos casos com metástase à distância quando comparado aos que tiveram metástase no linfonodo regional. O maior risco de óbito também foi associado a não realização de cirurgia como parte do tratamento, demonstrando que a remoção cirúrgica do tumor mostrou papel no prolongamento da sobrevida dos MCTs de baixo grau, mesmo que se mostrassem biologicamente agressivos, e sugeriu que a linfadenectomia possa melhorar ainda mais a sobrevida nesses casos, o que já foi confirmado em outros estudos (Marconato *et al.*, 2018).

A respeito dos critérios histopatológicos avaliados, na contagem de células binucleadas e multinucleadas os valores acima de 2 células em 10 campos de maior aumento, foram observados somente nos grupos classificados como alto grau. Sendo no grupo alto grau 46,2% (6/13) dos tumores apresentaram contagem acima de duas células para células binucleadas e 23% (3/13) para células multinucleadas e no grupo HN3 alto grau 50% (4/8) dos tumores apresentaram contagem maior que duas para as células binucleadas e 12,5% (1/8) dos tumores apresentaram contagem maior que duas para células multinucleadas. Houve correlação positiva moderada entre o número de células binucleadas com a contagem de figuras de mitose ( $p=0,0002$ ,  $rs= 0,6253$ ), e correlação entre o número de células binucleadas com a graduação histopatológica do tumor ( $p=0,0000$ ,  $rs=0,6805$ ) em que a maioria dos casos com contagem maior que 2 células binucleadas, são também os casos com maior índice mitótico e de alto grau.

Tumores indiferenciados apresentam maior quantidade de células binucleadas e maior contagem das figuras de mitoses (Duncan & Prasse, 1979). Na classificação histopatológica de Kiupel *et al.* (2011) a contagem de células multinucleadas classifica como alto grau os casos com mais de 2 células multinucleadas/10 campos de maior aumento, sendo relacionada ao comportamento mais agressivo do mastocitoma.

Sobre índice mitótico, neste estudo a média da contagem do grupo baixo grau foi 0 figuras de mitose/ 10 campos, no grupo alto grau a média foi de 9 figuras de mitoses/ 10 campos já no grupo HN3 alto grau a média foi de 15 figuras de mitose/10 campos, sendo esse também o grupo com menor tempo de sobrevida específica. Houve correlação positiva moderada entre a contagem de mitoses e a presença de ulceração do tumor ( $p=0,0177$ ,  $rs=0,5239$ ) e a ocorrência de óbito ( $p=0,0064$ ,  $rs=0,4711$ ), em que 66,7% (2/3) dos tumores que apresentaram ulceração, tinham índice mitótico de 7 e 72 figuras/ 10 campos de maior aumento respectivamente e além disso, dos cães que vieram á óbito relacionado ao MCT, 71,4% (5/7) foram também os casos que apresentaram maior contagem de mitoses (>5). O IM identifica as células que estão passando pela fase M do ciclo celular representando apenas um indicador desta fase. Estudos demonstraram que pelo menos 20% dos MTCs de alto grau tem um baixo IM (Thompson *et al.*, 2011). Embora um IM acima de 5 em 10 campos de maior aumento estão associadas a menor sobrevida, indicando comportamento biológico mais agressivo, um IM baixo não indica necessariamente um comportamento benigno (Romansik *et al.*, 2007; Kiupel & Camus, 2019).

Dentre as limitações deste estudo destaca-se que o status nodal baseou-se na avaliação do RLN, que pode não corresponder, de fato, ao SLN. É possível que, com técnicas de identificação pré-operatória do SLN, em alguns pacientes o SLN não tenha correspondido ao RLN, havendo, ainda, a possibilidade da atuação de mais de um SLN, entretanto, técnicas de identificação pré-operatória do SLN não se encontram bem estabelecidas ou padronizadas na Medicina Veterinária. Ainda que 80% dos casos receberam revisão histopatológica por um único patologista, 20% das amostras não puderam ser revistas, mas provavelmente não influenciou nos resultados encontrados. outros linfonodos fossem identificados. O reduzido número de casos em cada grupo, impossibilitou uma análise univariada entre alguns grupos e uma análise multivariada. Destaca-se ainda a heterogeneidade dos casos e dos tratamentos instituídos, entretanto essas são questões frequentes em estudos com o MCT canino considerando a ampla variação em seu comportamento biológico.

## **8. CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos, concluímos que é fundamental realizar avaliação histopatológica do linfonodo regional, nos casos de MCT cutâneo. A avaliação do status nodal juntamente com a graduação histopatológica do tumor é importante para a determinação prognóstica, melhor decisão terapêutica e para melhor controle da doença. No presente estudo os animais classificados como HN3 e alto grau tiveram pior prognóstico quando comparado às outras classificações, com tempos de sobrevida e intervalo livre de doença significativamente menores, mostrando que essa associação de status nodal e graduação apresenta prognóstico desfavorável.



## 9. REFERÊNCIAS

- BAE, S. *et al.*, Histologically low-grade, yet biologically high-grade, canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and metaanalysis of individual participant data. *Veterinary and Comparative Oncology*. v.18, p.580–589, 2020.
- BAGINSKI, H.; DAVIS, G.; BASTIAN, R.P. The prognostic value of lymph node metastasis with grade 2 MCTs in dogs: 55 cases (2001-2010). *J Am Anim Hosp Assoc*. v.4; n.50(2), p.89-95, 2014.
- BLACKWOOD, L. *et al.* European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*. v.10, p.1–29, 2012.
- BOOKBINDER, P.F.; BUTT, M.T.; HARVEY, H.J. Determination of the number of mast cells in lymph node, bone marrow, and buffy coat cytologic specimens from dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 200, n. 11, p. 1648-1650, 1992.
- CAMUS, M.S.; *et al.* Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary Pathology*, Vol. 53(6) 1117-1123, 2016.
- CHALFON, C.; *et al.* Lymphadenectomy improves outcome in dogs with resected Kiupel high-grade cutaneous mast cell tumours and overtly metastatic regional lymph nodes. *Journal of Small Animal Practice*, p.1-9, 2022.
- CINO, M. *et al.* Ki67 Index in Patnaik Grade 2/Kiupel Low-Grade Canine Cutaneous Mast Cell Tumors with Early Lymph Node Metastasis: A Descriptive Study. *Vet. Sci*. v. 10, n. 436, 2023.
- COUTO, C.G. Neoplasias específicas em cães e gatos. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. *Medicina Interna de Pequenos Animais*, 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 82, p. 1201-1205.
- DALECK, C.R.; ROCHA, N.S.; FERREIRA, M.G.P.A. Mastocitoma. In: *Oncologia em cães e gatos*, Roca: Rio de Janeiro, Brasil, 2017; Volume 2, p. 649-659.
- DAVIES, D.R.; *et al.* Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 40, n. 2, p. 124-130, 2002.
- DE NARDI, A.B.; *et al.* Brazilian Consensus For The Diagnosis, Treatment And Prognosis Of Cutaneous Mast Cell Tumors. *Dogs Investigaçãõ*. São Paulo, v. 17, n. 1, p. 01-15, 2018.
- DE NARDI, A.B.; *et al.* Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells*, v. 11, n. 618, 2022.
- DOBSON, J.; COHEN, S.; GOULD, S. Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Vet. Comp. Oncol*. v. 2, p. 132–141, 2004.

- DOBSON, J.M.; SCASE, T.J. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *J Small Anim Pract*, v.48: p.424–431, 2007.
- DONNELLY, L.; et al. Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumour. *Veterinary and Comparative Oncology*. v.13, p.70-76, 2013.
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. Cytology of canine cutaneous round cell tumors. *Vet. Pathol.*, v.16, p.673-679, 1979.
- EAST, J.; et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer using methylene blue dye manifests a short learning curve among experienced surgeons: a prospective tabular cumulative sum (CUSUM) analysis. *BMC Surgery*. v.9, p.2, 2009.
- ELSTON, L.B.; et al. Letter to the Editor: The Importance of the Mitotic Index as a Prognostic Factor for Survival of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Validation Study. *Vet. Pathol.* v. 46, p. 362–364, 2009.
- FEJOS, C.; et al. Extensive staging has no prognostic value in dogs with low-risk mast cell tumours. *Vet Comp Oncol*. n. 20, p. 265–275, 2022.
- FERNANDEZ, N.J.; et al. Immunohistochemical and histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. *Veterinary Pathology*, v. 42, n. 4, p. 437-445, 2005.
- 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. *Vet. Comp. Oncol.* p.1-6, 2018.
- FERRARI, R.; et al. Biopsy of sentinel lymph nodes after injection of methylene blue and lymphoscintigraphic guidance in 30 dogs with mast cell tumors. *Veterinary Surgery*. p.1–10, 2020.
- FOURNIER, Q.; et al. Contrast-enhanced ultrasound for sentinel lymph node mapping in the routine staging of canine mast cell tumours: A feasibility study. *Vet Comp Oncol*. p.1–12. 2020.
- FRIEDRICHS, K.R.; YOUNG, K.M. Diagnostic cytopathology in clinical oncology. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5.ed. Philadelphia: Saunders, 2013. Cap. 7, p.111-130.
- FULCHER, R.P.; et al. Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. v. 228, p.210–215, 2006.
- GERVASONI, J.J.E.; et al. Biologic and clinical significance of lymphadenectomy. *The Surgical Clinics of North America*. v. 80 (6), p.1631–1673, 2000.

- GROSS, T.L.; *et al.* Mast cell tumors. In: *Skin Diseases of the Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis*. 2nd ed.; Blackwell Science: Oxford, UK, 2005; pp. 853–865.
- GUERRA, D.; *et al.* Histologic grade has a higher-weighted value than nodal status as predictor of outcome in dogs with cutaneous mast cell tumours and overtly metastatic sentinel lymph nodes. *Veterinary and Comparative Oncology*. v.20, p.551-558, 2022.
- HILLMAN, L.A.; *et al.* Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v.237, p.936-942, 2010.
- HORTA, R.S., *et al.* Outcome of adjuvant chemotherapy with lomustine, vinblastine and chlorambucil on management of canine mast cell tumour of high to intermediate risk. *Arq Bras Med Vet Zoo*, v.69, p.1426-1436, 2017.
- HORTA, R.S.; *et al.* Clinical, histological, immunohistochemical and genetic factors associated with measurable response of high-risk canine mast cell tumours to tyrosine kinase inhibitors. *Oncology Letters*. v.15, p. 129-136, 2018.
- HUME, C.; *et al.* Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997 e 2007). *Journal of the American Animal Hospital Association*. v.47, p.37-44, 2011.
- JARK, P.C.; *et al.* Quimioterapia neoadjuvante com vimblastina e lomustina no tratamento de um caso de mastocitoma cutâneo canino com múltiplos fatores prognósticos negativos e sobrevida superior a dois anos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. v.108, p.147-150, 2013.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, v. 53, n. 282, p. 457–481, jun. 1958.
- KIUPEL, M.; *et al.* Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Vet. Pathol.* v. 48, p.147–155, 2010.
- KIUPEL, M. & CAMUS, M. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 49 (5), p. 819–836, 2019.
- KODRE, V.; *et al.* Electrochemotherapy Compared to Surgery for Treatment of Canine Mast Cell Tumours. *Vivo*. v. 23, p.55–62, 2009.
- KRICK, E.L.; *et al.* Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Vet Comp Oncol*. v.7:p.130-138, 2009.
- KU, C.; KASS, P.H.; CHRISTOPHER, M.M. Cytologic-histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: A retrospective study of 367 cases. *Vet. Comp. Oncol*. v.15, p.1206–1217, 2016.

- LANGENBACH, A.; *et al.* Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumours. *J Am Vet Med Assoc.* 218: p.1424-1428, 2001.
- LEMARIE, R.J.; LEMARIE, S.L. ; HEDLUND, C.S. Mast Cell tumours: Clinical management. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 17, p. 1085-1099, 1995.
- LONDON, C.A.; THAMM, D.H.; VAIL, D.M. Mast cell tumors In: WITHROW, S.J., MACEWEN, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, p.335 – 355, 2013.
- LONDON, C.A. & SEGUIN, B. Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.33, p. 473-489, 2003.
- LURIE, D.M.; *et al.* Contrast-assisted ultrasound for sentinel lymph node detection in spontaneously arising canine head and neck tumors. *Invest Radiol.* v.41, p.415-421, 2006.
- MANFREDI, M.; *et al.* Preoperative planar lymphoscintigraphy allows for sentinel lymph node detection in 51 dogs improving staging accuracy: Feasibility and pitfalls. *Vet Radiol Ultrasound.* v. 62, p. 602–609, 2021.
- MARCONATO, L.; *et al.* Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.* p.1–10. 2018.
- MARCONATO, L.; *et al.* Adjuvant medical therapy offers no therapeutic benefit in the treatment of dogs with low-grade mast cell tumors and early nodal metastases undergoing surgery. *Vet Comp Oncol.* p.1-7. 2020.
- MEUTEN, D. J.; *et al.* International Guidelines for Veterinary Tumor Pathology: A Call to Action. *Veterinary Pathology*, v. 58, n. 5, p. 766–794, 20 set. 2021.
- MENDEZ, S. E.; *et al.* Treating the locoregional lymph nodes with radiation and/or surgery significantly improves outcome in dogs with high-grade mast cell tumors. *Veterinary and Comparative Oncology*, v.18(2), p. 239-246, 2019.
- MURPHY, S.; *et al.* Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet. Rec.* v.158, p.287–291, 2006.
- PAES, P.R.O. ; *et al.* Inclusion of fibroblasts and collagen fibrils in the cytologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Clinical Pathology.* v. 51, p. 339-348, 2022.
- PATNAIK, A.K.; EHLER, W.J.; MACEWEN, E.G. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Vet. Pathol.* v.21, p. 469–474, 1984.
- PATSIKAS, M.N.; *et al.* Computed tomography and radiographic indirect lymphography for visualization of mammary lymphatic vessels and the sentinel lymph node in normal cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v.51, p.299–304, 2010.

- PAZ, W.A.; et al. Biópsia do linfonodo sentinela – experiência clínica. *Revista Brasileira Cancerol.* v. 47, p. 309–315, 2001.
- RAN, S; et al. Lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in breast cancer. *Pathophysiology.* v.17, p. 229-251, 2010.
- RASSNICK, K.M.; et al. A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* v.8, p.138–152, 2010.
- RIGAS, K.; et al. Mast cell tumours in dogs less than 12 months of age: a multi-institutional retrospective study. *Journal of Small Animal Practice.* 61(7), p.449–57, 2020.
- ROMANSIK, E.M.; et al. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* v.44, p.335-341, 2007.
- SELMIC, L.E. & RUPLE, A. A systematic review of surgical margins utilized for removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Veterinary Research.* v.16, n.5, 2020.
- 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). *J Am Vet Med Assoc.* 226: p.1368–74, 2005.
- SIMOES, J.P.C. & SCHONING, P. Canine Mast Cell Tumors: A Comparison of Staining Techniques. *J. Vet. Diagn. Investig.* v.6, p.458–465, 1994.
- SMIECH, A.; et al. Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. *Acta Vet. Scand.* 60, p. 1–9, 2018.
- SOUZA, A.C.F., et al. Mastocitoma cutâneo canino: estudo retrospectivo dos casos atendidos pelo Serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da FCAV-Unesp, Campus Jaboticabal, de 2005 a 2015. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 38, p.1808-1817, 2018.
- SPUGNINI, E.P; BALDI, A. Eletroquimioterapia em Oncologia Veterinária. *Veterinary Clinics Small Animal.* n.49, p.967–979, 2019.
- STEFANELLO, D.; et al. Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumours: 368 cases (2009-2014). *Journal of the American Veterinary Medical Association.* n. 246, p. 765-769, 2015.
- TAKEUCHI, Y.; et al. Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: a retrospective cohort study. *Vet J.* n. 196, v. 3, p. 492-498, 2013.
- TAYLOR, F.; et al. Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. *J. Small Anim. Pr.* v.50, p.284–289, 2009.

- THAMM, D.; TUREK, M.; VAIL, D. Outcome and Prognostic Factors Following Adjuvant Prednisone/Vinblastine Chemotherapy for High-Risk Canine Mast Cell Tumour: 61 Cases. *Journal of Veterinary Science*, v. 68, p. 581–587, 2006.
- THOMPSON, J. J.; *et al.* Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Vet Pathol.* v. 48(1), p. 156–68, 2011.
- TOMITA, M.; *et al.* Distribution of mast cells in mediastinal lymph nodes from lung cancer patients. *World Journal of Surgical Oncology*, v. 1, n. 25, p. 1-4, 2003.
- VILLAMIL, J.A.; *et al.* Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasm. *JAVMA*, v.239, n.7, p.960-965, 2011.
- WARLAND, J.; *et al.* The utility of staging in canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology.* v.12, p.287-298, 2012.
- WARLAND, J.; *et al.* Canine mast cell tumours: decision-making and treatment. *In Practice.* v.37, p.315-332, 2015.
- 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, 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.* 151:329-338, 2014.
- WELLE, M.M.; *et al.* Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet Dermatol.* v.19(6), p.321-323, 2008.
- WORLEY, D. R. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 12(3), p. 215–226, 2012.

## ANEXOS

## Anexo 1- Documento Protocolo Comissão de ética no Uso Animal (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Quimioterapia adjuvante em cães com mastocitoma estágio II segundo a classificação histopatológica do tumor primário e linfonodos.", protocolo do CEUA: 171/2023 sob a responsabilidade de Rodrigo dos Santos Horta que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 8.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 23/10/2023.

Vigência da Autorização	23/10/2023 a 22/10/2028
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Banco de dados / Variável
Nº de animais	15
Peso/Idade	16kg / 9(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Cães de tutores
*Espécie/linhagem	Banco de dados / Variável
Nº de animais	15
Peso/Idade	17kg / 9(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Cães de tutores
*Espécie/linhagem	Banco de dados / Variável
Nº de animais	15
Peso/Idade	17kg / 9(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Cães de tutores
*Espécie/linhagem	Banco de dados / Variável
Nº de animais	15
Peso/Idade	17kg / 9(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Cães de tutores

<b>Dados dos animais agrupados (uso do biotério)</b>	
*Espécie/linhagem	Banco de dados / Variável
Nº de animais	60
Idade	9(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Cães de tutores

1 / 2

## Considerações posteriores:

23/10/2023	Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 23/10/2023. Validade: 23/10/2023 à 22/10/2028.
------------	---

Belo Horizonte, 29/02/2024.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG  
[https://aplicativos.ufmg.br/solicite\\_ceu/](https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceu/)

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Telefone: (31) 3409-4518  
[www.ufmg.br/bioetica/ceua](http://www.ufmg.br/bioetica/ceua) - [ceua@pq.ufmg.br](mailto:ceua@pq.ufmg.br)