

Marina Rios de Araújo

**ESTUDO RETROSPECTIVO E PROSPECTIVO DOS TUMORES
CUTÂNEOS EM CÃES E DIFERENCIAÇÃO DOS TUMORES
CUTÂNEOS DE CÉLULAS REDONDAS PELA
IMUNO-HISTOQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Patologia Animal.

Área de Concentração: Patologia Animal

Orientador: Prof^ª Roselene Ecco

Belo Horizonte
Escola de Veterinária-UFMG
2011

A663e Araújo, Marina Rios de -1985

Estudo retrospectivo e prospectivo dos tumores cutâneos em cães e diferenciação dos tumores cutâneos de células redondas pela imunohistoquímica / Marina Rios de Araújo. – 2011.

102 p. : il.

Orientador: Roselene Ecco

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

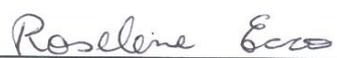
1. Cão – Doenças – Teses. 2. Tumores em animais – Teses. 3. Pele – Tumores – Teses. 4. Imunohistoquímica – Teses. I. Ecco, Roselene.

II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.

III. Título.

CDD – 636.708 969 92

Dissertação defendida e aprovada em 24 de fevereiro de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof^ª. Roselene Ecco
Presidente



Prof. Ênio Ferreira



Dr^ª. Gleidice Eunice Lavalle

*Dedico este trabalho
a minha mãe Gorete, meu pai Helder
meus irmãos, Marcelo, Ludmilla, Frederico,
Helder Júnio e Pedro Ivo
minhas sobrinhas, Cindy e Melissa
e ao Luciano*

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao Divino Espírito Santo por tudo!

A Minha Mãe, meu Porto Seguro! Sou eternamente grata pelo apoio incondicional às minhas escolhas e, sobretudo nos momentos mais difíceis dessa jornada!

Ao Meu Pai, pelo amor e compreensão!

A todos os meus irmãos pelo carinho de sempre!

Ao Luciano pelo carinho, amor, compreensão e amizade!

Às minhas cunhadas, cunhados, concunhadas, concunhados e meus sogros pela convivência harmoniosa e agradável e pelo incentivo.

À Professora Roselene Ecco, orientadora, pelos ensinamentos, dedicação, carinho e paciência.

Ao Professor Geovanni Dantas Cassali, co-orientador, pelo carinho, e por ceder o Laboratório de Patologia Comparada-ICB/UFMG, para realização dos testes imuno-histoquímicos.

À Gleidice pela disponibilidade em ajudar no estudo prospectivo.

Aos professores do Setor de Patologia, pelos ensinamentos durante as disciplinas do curso.

A Ingrid Sales Preis, aluna de Iniciação Científica, pelo auxílio em todas as etapas da realização desse trabalho. Obrigada por tudo!

A Rosi e Mel, técnicas do Laboratório de Patologia Animal-EV/UFMG e também às técnicas do Departamento de Patologia Geral-ICB/UFMG pela ajuda nos cortes dos blocos de parafina.

Às estagiárias Fabiana Raggi, Anna Luiza e Laura Vargas pelo auxílio, nos primeiros meses de mestrado, na coleta de dados do levantamento.

Ao pessoal do Laboratório de Patologia Veterinária: Sílvia França, Ana Patrícia, Taismara, Roberta, Juliana Saes, Juliana Paniago, Jankerle, Saira, Eliana, Auricélio, Júneo, Ana Luiza, Teane, Adriana, Érica, Diego, Valéria e aos que já encerraram o mestrado: Eduardo Coulaud, Raquel e Custódio pela convivência, brincadeiras e companheirismo!

A turma do Laboratório de Patologia Comparada do ICB: Cris, Lili, Karine, Conrado, Cecília, Juninho, Paty, Thamara e Angélica por terem me recebido com tanto carinho!

Ao Ênio, pela ajuda na padronização dos anticorpos para imuno-histoquímica e pelo carinho de sempre!

Aos meus amigos, que sempre torcem pelo meu sucesso!

A todos que direta ou indiretamente participaram da realização deste trabalho.

*Ninguém é suficientemente perfeito,
que não possa aprender com o outro e, ninguém é
totalmente destituído de valores que não possa
ensinar algo ao seu irmão.*

São Francisco de Assis

SUMÁRIO

ABREVIATURAS.....	12
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Mastocitoma	19
2.2 Linfoma cutâneo	22
2.2.1 Linfoma epiteliotrópico	22
2.2.2 Linfoma não-epiteliotrópico	24
2.3 Desordens histiocíticas	25
2.3.1 Histiocitoma cutâneo	25
2.3.2 Sarcoma histiocítico	26
2.3.3 Histiocitose reativa cutânea e sistêmica	27
2.4 Plasmocitoma.....	28
2.5 Tumor Venéreo Transmissível.....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Origem do material	30
3.1.1 Estudo prospectivo (2009-2010)	30
3.2 Dados clínicos e nomenclatura dos tumores	30
3.3 Imuno-histoquímica	32
3.3.1 Avaliação imuno-histoquímica	34
3.4 Análise estatística.....	34
4. RESULTADOS	34
4.1 Dados clínicos.....	34
4.2 Dados referentes à classificação e comportamento biológico das neoplasias.....	35
4.3 Imuno-histoquímica	37
4.3.1 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como mastocitoma.....	38
4.3.2 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como linfoma	42
4.3.3 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como histiocitoma cutâneo, histiocitoma maligno e histiocitose cutânea maligna.....	44
4.3.4 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como plasmocitomas	45
4.3.5 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como tumor venéreo transmissível	46
4.3.6 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como “neoplasia de células redondas”	46
4.3.7 Nova distribuição dos “tumores de células redondas” após o uso da imuno-histoquímica	46

4.3.8	Localização anatômica dos mastocitomas classificados na imuno-histoquímica	47
4.3.9	Localização anatômica das neoplasias classificadas na imuno-histoquímica como linfoma, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível, histiocitoma cutâneo e sarcoma histiocítico localizado	47
4.3.10	Tipos histológicos e animais jovens	48
4.4	Acompanhamento clínico dos animais durante o período de 2009 a 2010.....	48
5.	DISCUSSÃO	65
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
7.	CONCLUSÕES	78
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Lista de anticorpos usados no estudo imuno-histoquímico.....	33
Tabela 2	- Raça, sexo e idade dos cães com tumores cutâneos no período de 1996 a 2010	36
Tabela 3	- Ocorrência dos tumores cutâneos quanto à origem e comportamento biológico no período de 1996 a 2010	36
Tabela 4	- Número total de casos de “tumores de células redondas” diagnosticados na histologia e número de casos submetidos à técnica de imuno-histoquímica e suas respectivas porcentagens	37
Tabela 5	- Resultado do painel de anticorpos e o diagnóstico final das neoplasias	38
Tabela 6	- Número de casos e seus respectivos graus histológicos dos mastocitomas negativos para o CD117	39
Tabela 7	- Casos diagnosticados histologicamente como mastocitomas, negativos para o CD117 e seus respectivos diagnósticos finais	39
Tabela 8	- Grau histológico e padrão de expressão do CD117 nos tumores primários e nas metástases dos 19 cães	41
Tabela 9	- Grau histológico e expressão do CD117 dos 78 cães com diagnóstico de mastocitoma sem metástase.....	42
Tabela 10	- Casos com diagnóstico histológico de linfoma não confirmados pela imuno-histoquímica e seus respectivos diagnósticos finais.....	43
Tabela 11	- Casos de histiocitoma cutâneo não confirmados pela imuno-histoquímica e seus respectivos diagnósticos finais	44
Tabela 12	- Distribuição dos animais jovens antes e após o uso da imuno-histoquímica, idade média e suas respectivas porcentagens	48
Tabela 13	- Incidência dos tumores cutâneos epiteliais, melanocíticos e hematopoéticos no período de 1996 a 2010	50
Tabela 14	- Incidência dos tumores cutâneos mesenquimais no período de 1996 a 2010	51
Tabela 15	- Distribuição dos tumores cutâneos epiteliais, dos tumores melanocíticos e das neoplasias não determinadas quanto à localização anatômica e suas respectivas porcentagens, no período de 1996 a 2010	52

Tabela 16 - Distribuição dos tumores cutâneos mesenquimais e dos tumores hematopoéticos (sem o uso da imuno-histoquímica) quanto à localização anatômica e suas respectivas porcentagens, no período de 1996 a 2010.....	52
Tabela 17 - Distribuição dos mastocitomas (sem metástase) submetidos à imuno-histoquímica em relação ao sítio anatômico, grau histológico e padrão de marcação do CD117 e suas respectivas porcentagens.....	58
Tabela 18 - Dados clínicos, patológicos e imuno-histoquímicos de animais atendidos no hospital veterinário da UFMG no período de 2009-2010	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pele. Cão 134M. Mastócitos residentes infiltrados no tumor marcados pelo CD117. Linfoma T epiteliotrópico. 20X. IHQ.	62
Figura 2. Pele. Cão 9CR. Observa-se marcação positiva intensa para CD3. Linfoma T epiteliotrópico. 60X. IHQ.....	62
Figura 3. Pele. Cão 22L. Linfócitos CD3+ com invasão do epitélio da glândula apócrina (epiteliotropismo). Linfoma T epiteliotrópico. 60X. IHQ.....	62
Figura 4. Pele. Cão 13L. Linfócitos CD3+ infiltrados na epiderme, formando microabscessos de Pautrier (seta). Linfoma T epiteliotrópico. 20X. IHQ.....	62
Figura 5. Pele. Cão 19M. Marcação positiva para CD3. Linfoma não-epiteliotrópico. 20X. IHQ.	63
Figura 6. Pele. Cão 90M. Células redondas com núcleo grande apresentando marcação positiva vimentina. Tumor Venéreo Transmissível. 60X. IHQ.	63
Figura 7. Pele. Cão. Histiocitoma. a) Observa-se células em cordão, perpendicularmente a epiderme e em arranjo difuso na derme profunda. 20X. HE. b) Detalhe das células em cordão, dispostas perpendicularmente a epiderme. 60X. HE.	63
Figura 8. Pele. Cão 41M. a) Marcação positiva para E-caderina na epiderme e nos histiócitos da derme. Na porção profunda do tumor não há marcação. 20X. IHQ. b) Detalhe da marcação positiva da E-caderina na epiderme e histiócitos na derme superficial. 60X. IHQ.....	63
Figura 9. Pele. Cão 55M. Mastócitos neoplásicos com marcação peri-membrana intensa pelo CD117 (Padrão KIT I). Mastocitoma. 60X. IHQ.....	64
Figura 10. Pele. Cão 142M. Mastócitos neoplásicos com marcação citoplasmática focal pelo CD117 (Padrão KIT II). Mastocitoma. 60X. IHQ.....	64
Figura 11. Pele. Cão 12H. Mastócitos neoplásicos com marcação citoplasmática difusa pelo CD117 (Padrão KIT III). Mastocitoma. 60X. IHQ.	64
Figura 12. Pele. Cão 4P. Plasmócitos neoplásicos com marcação citoplasmática para CD79a. Plasmocitoma. 60X. IHQ.....	64

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Correlação entre o padrão KIT do tumor primário e das metástases em 16 animais	42
--	----

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imunohistoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de mastocitoma	85
Apêndice 2 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imunohistoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de linfoma cutâneo	95
Apêndice 3 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imunohistoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de histiocitoma, histiocitoma maligno, histiocitose cutânea maligna, plasmocitoma e tumor venéreo transmissível.....	97
Apêndice 4 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imunohistoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de neoplasia de células redondas.....	101

LISTA DE ANEXO

Anexo 1 - Protocolo 171/09 do Comitê de Ética em Experimentação Animal	102
--	-----

ABREVIATURAS

µm: micrômetro
a: anos
ABD: Abdômen
AgNOR: *Argyrophilic Nucleolar Organizer Region*
AUS: Austrália
CAB: Cabeça
CD117 (c-KIT): *Cluster of differentiation 117*
CD11b: *Cluster of differentiation 11b*
CD11c: *Cluster of differentiation 11c*
CD11d: *Cluster of differentiation 11d*
CD18: *Cluster of differentiation 18*
CD1a: *Cluster of differentiation 1a*
CD1c: *Cluster of differentiation 1c*
CD3: *Cluster of differentiation 3*
CD34: *Cluster of differentiation 34*
CD4: *Cluster of differentiation 4*
CD44: *Cluster of differentiation 44*
CD45: *Cluster of differentiation 45*
CD45RA: *Cluster of differentiation 45RA*
CD49d: *Cluster of differentiation 49d*
CD79a: *Cluster of differentiation 79a*
CD8: *Cluster of differentiation 8*
CD90: *Cluster of differentiation 90*
CETEA: Comitê de Ética em Experimentação Animal
DNA: *Desoxirribonucleic Acid*
DOR: Dorso
ESC: Escroto
F: Fêmea
H2: Receptor de histamina
HE: Hematoxilina e Eosina
ICAM-1: *Intercellular adhesion molecule 1*
IgE: imunoglobulina E
IgG's: imunoglobulinas
IHC: immunohistochemistry
IHQ: imuno-histoquímica
KIT: produto do proto-oncogene c-KIT
M: Macho
m: meses

MCT: Mast cell tumors
MEM: Membro
MF: *Mycosis fungoides*
MHC-I: *Major histocompatibility complex class I*
MHC-II: *Major histocompatibility complex class II*
MP: Membro posterior
MT: Membro torácico
MUL: Multicêntrico
NEG: Negativo
NI: Não informado
NR: Não realizado
OMS: Organização Mundial de Saúde
PCNA: *Proliferating cell nuclear antigen*
PER: Períneo
PES: Pescoço
POS: Positivo
PR: *Pagetoid reticulosis*
PRE: Prepúcio
RNA: *Ribonucleic acid*
SCFR: *Stem Cell Factor Receptor*
SFC: *Stem Cell Factor*
SRD: Sem Raça Definida
SS: *Sézary syndrome*
TCR: *Receptor cell T*
TÓR: Tórax
TVT: Tumor Venéreo Transmissível
UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais
vol/vol: volume/volume

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram determinar a prevalência em cães dos tumores cutâneos, relacionar o tipo histológico com a localização anatômica e utilizar a imuno-histoquímica (IHQ) para diferenciação dos “tumores de células redondas”. Foi avaliada a expressão do CD117 nos mastocitomas comparando-a com os graus histológicos nos mastocitomas primários e também nas metástases, quando encontradas. Os cães diagnosticados com “neoplasia de células redondas” atendidos no Hospital Veterinário da UFMG durante o período de 2009 a 2010 foram também investigados sobre o tratamento, recidivas e/ou ocorrência de metástases. A avaliação foi realizada pela análise dos protocolos de biópsia de pele e fichas de necropsia que constavam tumores cutâneos do Laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária, durante o período de 1996 a 2010. Os marcadores CD117, CD3, CD79a, CD45, vimentina, E-caderina e citoqueratina AE1/AE3 foram utilizados nesse estudo. Nesse intervalo foram encontradas 1882 neoplasias cutâneas, de um total de 1762 cães. Os tumores mais frequentes nos animais jovens foram o histiocitoma, o mastocitoma e o papiloma. A localização anatômica em ordem decrescente de frequência foi cabeça (18,25%), períneo (10,23%), tórax (8,76%), membro pélvico (7,71%), membro torácico (7,45%), abdômen (6,30%), dorso (5,35%), escroto (3,36%), pescoço (2,94%), prepúcio (2,57%) e cauda (1,57%). Cerca de 8,50% dos animais tinham tumores multicêntricos. As neoplasias malignas foram mais frequentes que as benignas. Cerca de 45,59% dos tumores eram mesenquimais, 42,74% eram epiteliais, 8,91% eram melanocíticos e 1,57% eram hematopoéticos. Após o uso da IHQ, a frequência das “neoplasias de células redondas” foi modificada na contagem total de tumores. Foram diagnosticados 315 mastocitomas, 40 linfomas, 38 histiocitomas cutâneos, 13 tumores venéreos transmissíveis (TVT), 9 plasmocitomas e 6 sarcomas histiocíticos localizados. Os dez tipos tumorais mais prevalentes foram: mastocitoma (16,73%; 315/1882), melanoma (9,03%; 170/1882), lipoma (7,49%; 141/1882), adenoma sebáceo (6,53%; 123/1882), carcinoma de células escamosas (6,42%; 121/1882), adenoma hepatóide (5,89%; 111/1882), hemangiossarcoma (4,94%; 93/1882), hemangioma (3,77%; 71/1882), tricoblastoma (2,39%; 45/1882) e fibrossarcoma (2,12%; 40/1882). Dos 78 mastocitomas sem metástase submetidos à IHQ, 43,59% foram classificados na histologia como grau I; 34,62% como grau II e 21,79% como grau III. Simultaneamente, 53,85% foram classificados na IHQ como padrão KIT I, 30,77% padrão KIT II e 15,38% padrão KIT III. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os graus histológicos em relação aos três padrões KIT nesses 78 mastocitomas avaliados. O padrão KIT de 16 mastocitomas metastáticos também foi avaliado não sendo observadas diferenças estatísticas significantes entre o tumor primário e suas metástases. A correlação entre o padrão KIT do tumor primário e sua respectiva metástase foi de 78%. O período médio livre de recidiva nos 25 animais com mastocitoma acompanhados foi de 325 dias, independente do grau histológico, padrão KIT ou tratamento. O tempo médio de sobrevivência livre da doença nos cinco animais diagnosticados com linfoma T foi de 225 dias.

Palavras chave: cão, pele, neoplasia, tumor de células redondas, imuno-histoquímica

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the prevalence of skin tumors in dogs, to relate the histological type with the anatomical location, and to use the immunohistochemistry (IHC) to differentiate the "round cell tumors". Also, was evaluated the expression of CD117 in mast cell tumors (MCT) and compare it with the histological grades, in primary and metastatic MCT. The dogs diagnosed with "round cell tumors" in the Veterinary Hospital of UFMG during 2009 to 2010 period were also investigated about treatment, recurrence and/or metastases. The evaluation was performed by analysis of the protocols of a skin biopsy and necropsy records of skin tumors archived in the Veterinary Pathology Laboratory of the Veterinary School during 1996 to 2010 period. The markers CD117, CD3, CD79a, CD45, vimentin, E-cadherin and cytokeratin AE1/AE3 were used in this study. A total of 1762 dogs and 1882 skin tumors were found. The most common tumors in young animals were histiocytoma, MCT and papilloma. The anatomical location in descending order of frequency was head (18.25%), perineum (10.23%), thorax (8.76%), pelvic limb (7.71%), forelimb (7.45%), abdomen (6.30%), back (5.35%), scrotum (3.36%), neck (2.94%), prepuce (2.57%) and tail (1.57%). Approximately 8.50% of the animals had multifocal tumors. Malignant neoplasms were more frequent than benign. Approximately 45.59% of the neoplasms were mesenchymal, 42.74% were epithelial, 8.91% were melanocytic and 1.57% were hematopoietic. After IHC tests, the frequency of round cells tumors was modified. Thus, 315 were diagnosed as MCT, 40 as lymphomas, 38 as cutaneous histiocytomas, 13 as transmissible venereal tumors (TVT), 9 as plasm cell tumors and 6 as localized histiocytic sarcomas. The ten most prevalent tumor types were: MCT (16.73%, 315/1882), melanoma (9.03%, 170/1882), lipoma (7.49%, 141/1882), sebaceous adenoma (6.53%, 123/1882), squamous cell carcinoma (6.42%, 121/1882), hepatoid adenoma (5.89%, 111/1882), hemangiosarcoma (4.94%, 93/1882), hemangioma (3.77%, 71/1882), trichoblastoma (2.39%, 45/1882) and fibrosarcoma (2.12%, 40/1882). Of 78 MCT without metastasis identified by the IHC, 43.59% were classified histologically as grade I, 34.62% as grade II and 21.79% as grade III. Simultaneously, 53.85% were classified as standard KIT I, 30.77% as standard KIT II and 15.38% as standard KIT III. In these 78 MCT evaluated, there were no statistical significant differences between the histological grades for the three standards KIT. The standard KIT of 16 metastatic MCT was also evaluated and no statistical significance between the primary tumor and metastases was detected. The correlation between the pattern of KIT and its corresponding primary tumor metastasis was 78%. The average of recurrent free period in 25 animals diagnosed with MCT was 325 days, regardless of grade, standard KIT or treatment. The mean disease-free survival time in the five animals diagnosed with T cell lymphoma was 225 days.

Keywords: dog, skin, neoplasm, round cell tumor, immunohistochemistry

1. INTRODUÇÃO

O cuidado com a saúde dos animais de companhia, especialmente dos cães, tem crescido nos últimos anos (Withrow, 2007b). Para muitos proprietários, o cão passou a ser membro da família e não é considerado um simples animal de estimação. Nesse contexto, os problemas de pele chamam a atenção do proprietário e, acredita-se que hoje, entre 20% e 75% dos atendimentos veterinários realizados em clínicas e hospitais estejam relacionados às alterações dermatológicas (Scott et al., 2001a).

A pele é um dos sítios mais comuns de neoplasias e ocupa entre 9,5% e 51% de todos os tumores em cães (Bronden et al., 2010). Uma ampla variedade de tipos tumorais pode ser encontrada na pele, no subcutâneo e nos anexos sendo que o tratamento preconizado e o prognóstico diferem entre eles (Gross et al., 2006; Yager e Wilcock, 1994; Scott et al., 2001b; Goldschmidt e Hendrick, 2002; Ginn et al., 2007).

Informações sobre a prevalência e a distribuição dos tumores cutâneos nos animais auxiliam os clínicos a diagnosticá-los em tempo hábil permitindo a escolha de uma terapia apropriada e determinação de um prognóstico mais preciso (Pakhrin et al., 2007).

Estudos sobre a prevalência e o sítio de predileção dos tumores cutâneos caninos, bem como informações sobre sexo, raça e idade têm sido relatados previamente em vários países (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Goldschmidt e Shofer, 1992; Yager e Wilcock, 1994; Kaldrymidou et al., 2002; Pakhrin et al., 2007; Bronden et al., 2010). No Brasil há poucos trabalhos que descrevem a ocorrência de tumores cutâneos em cães (Machado et al., 1963; Souza et al., 2006; Bellei et al., 2006; Meirelles et al., 2010; Teixeira et al., 2010).

Três desses estudos foram realizados na região sul do país (Souza et al., 2006; Bellei et al., 2006; Meirelles et al., 2010) e o trabalho de Teixeira et al (2010) abrange somente neoplasias melanocíticas em cães e também em gatos. O estudo realizado por Machado et al (1963) descreve a ocorrência de tumores em várias espécies animais incluindo todos os sistemas orgânicos, com amostras oriundas de diversas regiões do país. Em Minas Gerais os dados publicados a respeito da ocorrência das neoplasias cutâneas caninas são escassos.

A Anatomia Patológica desempenha um papel fundamental na pesquisa de características histológicas que, associadas às informações provenientes de um exame clínico sistemático, poderão fornecer dados essenciais para o estadiamento das neoplasias, o estabelecimento do prognóstico e da terapêutica. As características histológicas (morfologia, grau de diferenciação, invasão tecidual e metastização) e imuno-histoquímicas (confirmação da origem celular) permitem prever o comportamento biológico das neoplasias, constituindo importantes fatores prognósticos, e uma fonte de informação para o clínico que pretende instituir uma terapêutica ao animal.

As neoplasias cutâneas de células redondas podem ter aparência morfológica similar e o diagnóstico baseado apenas na histopatologia de rotina é frequentemente desafiador. Dentre estes tumores estão o linfoma maligno (T ou B), o histiocitoma, o mastocitoma pouco diferenciado, o plasmocitoma, o tumor venéreo transmissível (TVT) e o melanoma amelanótico (Goldschmidt e Hendrick, 2002). O diagnóstico exato é importante para prognóstico e tratamento adicional a cirurgia (quimioterapia e radioterapia). A imuno-histoquímica é uma ferramenta valiosa para essa finalidade (Fernandez et al., 2005, Langohr et al., 2005).

Em Minas Gerais, há poucos dados publicados a respeito da prevalência dos tumores cutâneos em cães e estudos que utilizam a imuno-histoquímica como ferramenta diagnóstica para diferenciação dos tumores de células redondas ainda não foram realizados no Brasil. Dessa forma, este trabalho possibilitará uma compreensão melhor sobre quais os tumores de pele são mais frequentes na região de abrangência do Laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG e demonstrar a importância na busca por diagnósticos mais precisos, informações que serão úteis para os clínicos de pequenos animais, para a escolha do tratamento mais adequado para seus pacientes e para os patologistas que fazem o diagnóstico destes tumores.

Mastocitoma é uma das neoplasias mais frequentes em cães, compreendendo de 7 a 21% de todos os tumores cutâneos (Kiupell et al., 2004). Esses tumores são rotineiramente graduados quanto à malignidade, baseando-se em características histomorfológicas. Esse é um dos principais parâmetros utilizado na rotina, pelos clínicos para a escolha de uma terapia apropriada.

Apesar disso, o comportamento biológico dos mastocitomas caninos é extremamente variável, o que leva a frequentes insucessos no tratamento dos pacientes. Isso ocorre principalmente nos tumores classificados como grau II, com diferenciação intermediária (Patnaik et al., 1984). Esses tumores podem compartilhar características tanto de tumores bem diferenciados como de tumores pouco diferenciados. A discordância entre patologistas na graduação histológica dos mastocitomas é bem conhecida (Northrup et al., 2005) e sistemas de classificação mais objetivos e reprodutíveis tem sido propostos atualmente (Kiupell et al., 2011).

Vários outros métodos têm sido estudados para avaliação do prognóstico dos animais

com mastocitoma e compreendem a avaliação do índice de proliferação celular (AgNOR, Ki67, PCNA) e a expressão imuno-histoquímica do proto-oncogene c-KIT (Kiupell et al., 2004) nesses tumores. A correlação entre a expressão do anticorpo CD117 (c-KIT) em tumores primários e suas respectivas metástases não tem sido estudada e, pode ser um potencial parâmetro para a avaliação do prognóstico.

Nesse contexto, os objetivos desse trabalho foram:

- I) Determinar a prevalência em cães dos tumores cutâneos epiteliais, mesenquimais, melanocíticos e hematopoéticos, relacionando o tipo histológico com a localização anatômica;
- II) Utilizar a imuno-histoquímica como ferramenta para diferenciação dos “tumores de células redondas”;
- III) Avaliar a expressão do CD117 (c-KIT) nos mastocitomas e compará-la com os graus histológicos;
- IV) Comparar a expressão do CD117 (c-KIT) nos tumores primários e nas metástases dos mastocitomas;
- V) Acompanhar clinicamente os animais atendidos no Hospital Veterinário da UFMG durante o período de 2009 a 2010 com suspeita de “neoplasias de células redondas” visando obter informações sobre o tratamento, recidivas e/ou ocorrência de metástases.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Essa revisão contempla o grupo das neoplasias de células redondas sendo que uma descrição detalhada de todos os tumores de pele epiteliais, mesenquimais e melanocíticos foge ao escopo desse trabalho. Alguns aspectos relacionados a essas neoplasias são considerados na discussão.

2.1 Mastocitoma

Mastócitos derivam de células progenitoras hematopoéticas CD34⁺ onde iniciam sua diferenciação e, por via sanguínea chegam aos tecidos e órgãos, completando sua maturação (Welle et al., 2008). Portanto, são encontrados no tecido conjuntivo e estão presentes na pele, mucosas e também na cavidade peritoneal, seios linfáticos medulares, corticais e subcapsulares de vários linfonodos (Ferreira, 2005). São células caracterizadas pela presença de grânulos intracitoplasmáticos, que contém várias substâncias biologicamente ativas como histamina, heparina e fatores quiomiotáticos (O'Keefe, 1990).

Mastocitoma é uma das neoplasias mais frequentes em cães, compreendendo de 7 a 21% de todos os tumores cutâneos (Kiupel et al., 2004) e de 11 a 27% de todos os neoplasmas cutâneos malignos nesse espécie (Ginn et al., 2000). O comportamento biológico dos mastocitomas caninos é extremamente variável, podendo ocorrer como uma massa tecidual solitária menos agressiva ou na forma de tumores múltiplos evoluindo para a doença metastática fatal (Kiupel et al., 2004). Ocorre principalmente em cães com idade média de 9 anos, podendo variar de 3 semanas até 19 anos de idade (Ginn et al., 2007), não havendo aparente predileção por sexo (Patnaik et al., 1984; O'Keefe, 1990; Welle et al., 2008).

As raças reconhecidamente predispostas a desenvolverem mastocitomas incluem Boxers, Boston Terriers, Bull Terriers; Bullmastiffs, Fox Terriers, English Bulldogs, Labrador Retrievers, Golden Retrievers, Beagles, Schnauzers, Cocker Spaniels, Pit Bulls, Sharpeis, Pugs, Dachshunds e Weimaraners (Gross et al., 2006; Welle et al., 2008). A raça Sharpei frequentemente desenvolve mastocitomas quando jovens (Miller, 1995).

Os mastocitomas são mais comumente encontrados no tronco (50-60%), seguido pelas extremidades (40%), cabeça e pescoço (10%) (Welle et al., 2008). Quando localizados no escroto, períneo, região interdigital (Welle et al., 2008) e junção mucocutânea (Gieger et al., 2003) estão relacionados a um comportamento biológico mais agressivo e pior prognóstico. Apesar disso, outros estudos não observaram diferenças no tempo de sobrevivência de animais com tumores na região inguinal e perineal em relação a outras localizações (Cahalane et al., 2004; Sfiligoi et al., 2005).

A profundidade do tumor parece não interferir no prognóstico (Kiupel et al., 2005). Contudo, Newmann et al (2007) sugere que mastocitomas localizados no subcutâneo tem comportamento biológico mais benigno do que aqueles localizados na derme e estão associados a tempo de sobrevivência mais longos.

A etiologia dos mastocitomas ainda permanece desconhecida, mas parece ser multifatorial (Welle et al., 2008). Apesar disso, estudos recentes têm mostrado que mutações no proto-oncogene c-KIT (CD117), que codifica o receptor KIT, também conhecido como SCFR, do inglês *Stem Cell Factor Receptor* (receptor para fator de crescimento dos mastócitos) estão envolvidas na patogênese dos mastocitomas caninos (London et al., 1999). O KIT é um receptor tirosina-quinase e faz ligação com o fator de crescimento dos mastócitos, também conhecido como SCF, do inglês *Stem Cell Factor* induzindo a proliferação, maturação, migração e degranulação dessas células em condições fisiológicas (Kiupel et al., 2004).

Mutações pontuais, duplicações ou deleções no domínio justamembrana do KIT já foram descritas em animais com mastocitomas (Webster et al., 2006). As mutações induzindo duplicação são mais comuns e causam ativação constitutiva do receptor,

sem a necessidade de ligação com o fator de crescimento (Webster et al., 2006). Recentemente, mutações no éxon 8 e 9 do KIT também foram relatadas em um pequeno número de mastocitomas caninos (Letard et al., 2008). Enquanto o papel das mutações no gene c-KIT nos mastocitomas tem sido bem descrito, pouco se sabe a respeito dos mecanismos responsáveis pelo comportamento biológico agressivo em tumores que não possuem mutações nesse gene (Lin et al., 2009).

Os mastocitomas podem ser solitários ou múltiplos e a aparência macroscópica varia grandemente com o estágio de progressão da doença e com o grau de diferenciação histológica (Ginn et al., 2007). De modo geral, podem ocorrer como massas ou placas eritematosas, alopecicas ou edematosas, de coloração branco-amarelada e consistência variável (Goldschmidt e Hendrick, 2002). Tumores bem diferenciados geralmente são bem delimitados e pequenos e aqueles com diferenciação intermediária e pobremente diferenciados são maiores, pouco delimitados e frequentemente associados a edema, inflamação e necrose (Ginn et al., 2007). Alguns autores observaram que a quantidade de tumores pode influenciar no tempo de sobrevivência, indicando que animais com tumores múltiplos podem ter menor sobrevivência quando comparada com aqueles que possuem tumores únicos (Kiupell et al., 2005). Contudo, outros estudos não confirmaram esses achados (Murph et al., 2006).

Ainda hoje, a graduação histológica dos mastocitomas tem sido um dos principais parâmetros utilizados pelos clínicos na definição do prognóstico e na escolha do tratamento mais apropriado para o paciente. Há dois sistemas de graduação histológica aceitos: o sistema de Patnaik e o sistema de Bostock. O sistema de Patnaik é o mais utilizado pelos patologistas e baseia-se em características microscópicas como invasão, morfologia celular, índice mitótico e reação

estromal. Nos mastocitomas de grau I, as células neoplásicas são bem diferenciadas, confinadas à derme superficial, e podem-se visualizar grânulos intracitoplasmáticos em grande quantidade. As células tumorais estão arranjadas em manto ou cordão e separadas por bandas de colágeno. Figuras mitóticas são raras ou ausentes (Patnaik et al., 1984).

Nos mastocitomas de grau II ou com diferenciação intermediária, as células neoplásicas estão infiltradas na derme profunda e tecido subcutâneo, podendo invadir a musculatura esquelética. O pleomorfismo celular é moderado e raras células multinucleadas podem estar presentes. As células estão dispostas em manto ou cordão e separadas por estroma colagenoso que pode estar espesso ou hialinizado (colagenólise). O índice mitótico varia de 0 a 2 mitoses por campo. Áreas de edema e necrose podem estar presentes (Patnaik et al., 1984). Apesar disso, os mastocitomas grau II podem compartilhar características tanto de tumores bem diferenciados como de tumores pouco diferenciados.

Nos mastocitomas de grau III ou pobremente diferenciados, as células neoplásicas se estendem para o subcutâneo e tecidos adjacentes e o pleomorfismo celular e nuclear é acentuado. Grânulos intracitoplasmáticos são difíceis de serem visualizados sem o auxílio de colorações histoquímicas (Giemsa ou azul de toluidina). Células binucleadas e multinucleadas são comuns e as mitoses são frequentes, variando de 3 a 6 por campo. Edema, hemorragia e necrose são mais acentuadas (Patnaik et al., 1984). Estabelecer o limite entre mastocitomas com diferenciação intermediária e os pobremente diferenciados, muitas vezes é difícil.

Além disso, os mastocitomas pobremente diferenciados podem ter aparência morfológica similar às outras neoplasias de

células redondas como os histiocitomas, melanomas amelanóticos, plasmocitomas e linfomas. Muitas vezes, os grânulos intracitoplasmáticos estão ausentes, não sendo visualizados mesmo com o uso de colorações histoquímicas.

No sistema de Bostock, os mastocitomas pobremente diferenciados são denominados grau I e os de grau III são representados pelos mastocitomas bem diferenciados (Ginn et al., 2007).

A discordância entre patologistas na graduação histológica dos mastocitomas é bem conhecida (Northrup et al., 2005) e, sistemas de classificação mais objetivos e reprodutíveis tem sido propostos atualmente. Nessa nova classificação, os mastocitomas seriam classificados em tumores de baixo grau e alto grau de malignidade. Para os tumores de alto grau a classificação seria baseada em sete ou mais figuras mitóticas por 10 campos de maior aumento, pelo menos três células multinucleadas (três ou mais núcleos) por 10 campos de maior aumento ou pelo menos 10% das células neoplásicas mostrando megalocitose, ou seja, com núcleos duas vezes maiores que o esperado (Kiupell et al., 2011).

Tumores bem diferenciados (grau I) têm potencial metastático de cerca de 10%, enquanto que mastocitomas pobremente diferenciados tem potencial metastático de aproximadamente 55-96% (Ginn et al., 2007). Metástases dos mastocitomas ocorrem primeiramente para os linfonodos regionais e posteriormente para fígado e baço (O'Keefe, 1990). Metástase pulmonar é extremamente incomum (Welle et al., 2008).

Complicações relacionadas à liberação de substâncias bioativas dos grânulos (histamina, heparina, fatores quimiotáticos e enzimas proteolíticas) dos mastócitos tem sido descritas em mais da metade dos cães com mastocitomas (Welle et al., 2008). Retardo na cicatrização de feridas após

exérese cirúrgica pode ocorrer devido à liberação de enzimas proteolíticas e aminas vasoativas pelo tumor (O'Keefe, 1990). Ulceração gastrointestinal também é uma alteração comum nos animais, levando a sinais clínicos de anorexia, vômito, hematoquesia, melena, anemia e dor abdominal (Welle et al., 2008).

O mecanismo pelo qual cães com mastocitomas desenvolvem úlceras gástricas relaciona-se à produção excessiva de ácido clorídrico pela estimulação dos receptores H_2 nas células parietais, dano vascular e hipermotilidade (O'Keefe, 1990). Mastócitos neoplásicos contêm 25 a 50 vezes mais histamina quando comparados a mastócitos normais e, cães com mastocitomas têm níveis significativamente mais altos de histamina no plasma e baixos níveis de gastrina quando comparados com cães saudáveis (Welle et al., 2008). Os baixos níveis de gastrina estão relacionados ao aumento da acidez gástrica. Os níveis de histamina plasmáticos não parecem estar relacionados com o estágio clínico da doença, grau histológico ou tamanho tumoral (Ishiguro et al., 2003). Anormalidades na coagulação também podem ser observadas em cães com mastocitomas e podem ser explicadas pela liberação de heparina pelos mastócitos neoplásicos (Welle et al., 2008).

Vários outros métodos histoquímicos e imuno-histoquímicos têm sido estudados para avaliação do prognóstico dos mastocitomas, em conjunto com a avaliação histológica. AgNOR's são unidades estruturais e funcionais presentes no nucléolo que estão envolvidas na transcrição do RNA ribossomal (Derenzini, 2000). AgNOR's podem ser identificados na histologia como um foco preto discreto nucleolar com método de coloração pela prata, devido a afinidade da prata às proteínas associadas (Ploton et al., 1986). O número de regiões organizadoras nucleolares coradas pela prata, por nucléolo, é

proporcional a taxa de proliferação celular (fração de crescimento) e inversamente proporcional ao tempo de geração (progressão do ciclo celular) (Webster et al., 2007).

Atualmente, tem sido proposto que a combinação da avaliação do índice Ki67 (proteína nuclear expressa em todas as fases do ciclo celular) com o número de AgNOR's, obtendo-se um produto desses valores (Ag67) é um indicador prognóstico mais apropriado, do que quando esses métodos são usados sozinhos (Webster et al., 2007). Um alto escore Ag67 estava associado com diminuição do tempo de sobrevida nos animais com mastocitoma (Webster et al., 2007).

A avaliação imuno-histoquímica do PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular) também tem sido usada para avaliar o índice de proliferação celular nos mastocitomas caninos. O PCNA é uma proteína necessária a síntese de DNA e está associada à polimerase delta (Simoes et al., 1994). Dessa forma, sua expressão máxima é comumente observada na fase de síntese de DNA (fase S do ciclo celular) (Webster et al., 2007). Apesar disso, há poucas evidências de que a avaliação da expressão do PCNA possa fornecer novas informações a respeito do prognóstico além do que possa ser obtido pela graduação histológica ou pela avaliação de outros índices de proliferação celular (Webster et al., 2007).

Outros métodos moleculares têm sido usados na avaliação do prognóstico dos mastocitomas caninos. Nos últimos anos tem-se estudado a expressão imuno-histoquímica do receptor KIT, produto do proto-oncogene c-KIT. Kiupell et al (2004) observaram a existência de três padrões de localização desse marcador nos mastocitomas: Peri-membrana (KIT I), citoplasmática focal (KIT II) e citoplasmática difusa (KIT III). Aparentemente, a maior expressão aberrante

(citoplasmática focal e difusa) do KIT tem pior prognóstico (Kiupell et al., 2004; Webster et al., 2006).

2.2 Linfoma cutâneo

2.2.1 Linfoma epiteliotrópico

Linfoma cutâneo T epiteliotrópico consiste de um grupo de desordens heterogêneas e é caracterizado por uma ampla variedade de apresentações clínicas e de características morfológicas, semelhante ao que é descrito em humanos (Moore et al., 2009).

É uma neoplasia pouco comum de etiologia desconhecida, sendo caracterizada pela infiltração de linfócitos T neoplásicos com tropismo específico pela epiderme e estruturas anexas (Fontaine et al., 2010). Os marcadores imunofenotípicos dos linfócitos neoplásicos incluem CD3⁺ (marcador comum de todos os linfócitos T), CD45⁺, CD45RA[±], CD18⁺ (Gross et al., 2006), TCR⁺ (receptor de células T), CD8⁺/CD4⁻ (linfócitos T citotóxicos em 80% dos casos) e CD8⁻/CD4⁺ (células natural Killer em 20% dos casos) (Fontaine et al., 2009). Recentemente, Ramos-Vara e Miller (2011) observaram expressão imuno-histoquímica da E-caderina em 83% (10/12) linfomas epiteliotrópicos avaliados.

Os animais com linfoma epiteliotrópico geralmente apresentam um histórico de dermatite crônica recente e as junções mucocutâneas e a mucosa oral algumas vezes podem ser acometidas (Fontaine et al., 2010).

Usando critérios descritos em humanos, o linfoma cutâneo epiteliotrópico canino pode ser dividido em três subformas: *Mycosis fungoides* (MF), *Pagetoid reticulosis* (PR) e *Sézary syndrome* (SS) (Fontaine et al., 2009). O linfoma epiteliotrópico deve ser diferenciado do linfoma não epiteliotrópico e do linfoma multicêntrico com lesões secundárias na pele. Scott et al (2001b)

propôs uma subdivisão do linfoma epiteliotrópico associada as diferentes apresentações clínicas: 1) eritroderma exfoliativo 2) localização mucocutânea 3) placas ou nódulos solitários ou múltiplos 4) doença ulcerativa da mucosa oral.

Eritroderma exfoliativo inclui eritema generalizado, descamação, perda de pigmentação e alopecia, geralmente mal diagnosticada como alergia, escabiose ou seborréia. Ao longo do tempo, manchas, placas e nódulos comumente desenvolvem. O tronco e a cabeça são locais mais frequentemente encontrados, mas lesões podem desenvolver em qualquer parte do corpo.

Animais com localização mucocutânea são caracterizados por eritema, despigmentação, infiltração irregular e alopecia e podem ser mal diagnosticados com doença imunomediada (pênfigo vulgaris, pênfigo bolhoso e lúpus eritematoso). As junções mucocutâneas da boca, do plano nasal e das pálpebras são mais frequentemente acometidas. Envolvimento localizado dos lábios é uma característica comum.

A categoria 3 é caracterizada por placas ou nódulos solitários ou múltiplos que geralmente estão associados a eritema, escamação e crostas. Pode-se observar erosão e ulceração em lesões grandes.

Na categoria 4, doença ulcerativa da mucosa oral, pode ser mal diagnosticada como estomatite crônica não neoplásica, a gengiva, palato ou língua geralmente estão envolvidos.

A *Mycosis fungoides* pode ser dividida em forma clássica e forma *d'embleé*. A forma clássica é a mais comum tanto em cães como em humanos (Fontaine et al., 2009). Está associada ao estágio de formação de manchas, placas e nódulos tumorais. A progressão do estágio de formação de manchas e placas para o estágio tumoral é

mais rápido em cães, quando comparado com o linfoma epiteliotrópico humano (Gross et al., 2006). A forma *d'embleé* está associada à formação tumoral sem o aparecimento prévio de manchas e placas. Apesar da existência dessa subclassificação, a forma *d'embleé* não parece ser mais reconhecida pela Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Câncer (Fontaine et al., 2010). Histologicamente há infiltrado de linfócitos neoplásicos na epiderme, nos anexos e na derme. A junção dermo-epidérmica frequentemente está obliterada. No estágio de formação de manchas e placas o infiltrado na derme se restringe a derme superficial, enquanto que no estágio tumoral e na forma *d'embleé* há infiltração de células tumorais na derme profunda e no subcutâneo, apesar de haver envolvimento intraepitelial e de estruturas anexas (Gross et al., 2006).

A forma *Pagetoid reticulosis* é caracterizada por eritroderma exfoliativo com descamação, alopecia, erosões ou ulcerações, mas sem a presença de massas tumorais palpáveis. Essas lesões ocorrem mais frequentemente nas junções mucocutâneas e nos coxins embora possam estar presentes em qualquer localização. Na histologia, o infiltrado linfocítico neoplásico está presente somente na epiderme e nas estruturas anexas. A derme pode conter pequeno número de linfócitos reativos, plasmócitos, histiócitos e neutrófilos. Porém, com a progressão da doença, linfócitos neoplásicos são vistos na derme e, nesse ponto, torna-se indistinguível do estágio de formação tumoral (Gross et al., 2006).

A forma *Sézary syndrome* é rara e é caracterizada por linfoma epiteliotrópico cutâneo, associado à presença simultânea de linfócitos neoplásicos nos linfonodos e no sangue periférico (Gross et al., 2006). Essa forma deve ser diferenciada da leucemia linfocítica com envolvimento secundário da pele (Fontaine et al., 2009). Os sinais clínicos típicos incluem eritema e

descamação, acompanhados por prurido intenso. Essa forma, raramente está associada com formação tumoral (Gross et al., 2006). Histologicamente as lesões são semelhantes a MF, porém linfócitos neoplásicos também estão presentes nos linfonodos e no sangue periférico (Gross et al., 2006).

Linfoma cutâneo epiteliotrópico é uma doença progressiva e o envolvimento de linfonodos e outros órgãos pode ocorrer nos estágios finais. Nesse sentido, a diferenciação entre linfoma cutâneo e linfoma com envolvimento secundário da pele deve ser feita. Nesse último caso, os linfócitos neoplásicos se localizam na derme em um padrão predominantemente perivascular e não mostram epiteliotropismo típico (Fontaine et al., 2009).

2.2.2 Linfoma não-epiteliotrópico

Linfoma não-epiteliotrópico é bem menos comum que o linfoma epiteliotrópico e, na maioria dos casos, constitui-se de proliferação neoplásica de linfócitos T (Gross et al., 2006). Linfoma B não-epiteliotrópico é bem mais raro (Day, 1995). A etiologia do linfoma não-epiteliotrópico canino é desconhecida (Gross et al., 2006).

Além da forma clássica, linfoma não-epiteliotrópico em cães também inclui o linfoma vasotrópico e vasoinvasivo, também referido como granulomatose linfomatóide (Smith et al., 1996), e o linfoma intravascular, também referido como angioendoteliomatose maligna (Vangessel et al., 2000).

Histologicamente, a forma clássica do linfoma não-epiteliotrópico é caracterizada por proliferação celular não encapsulada disposta em cordões e ao redor de vasos sanguíneos localizada na derme profunda e no subcutâneo. Quando há o envolvimento da derme superficial, geralmente observa-se uma área sem infiltração celular neoplásica

(zona de *Grenz*). As estruturas anexas não são invadidas. Contudo, uma pequena quantidade de células neoplásicas intraepidermais pode estar presente (Gross et al., 2006). A morfologia celular do linfoma cutâneo não epiteliotrópico é altamente variável e pode ser subclassificado como célula pequena, célula grande ou tipo imunoblástico. O tipo célula grande é o mais comum e é caracterizado por núcleo grande, vesiculoso e ovalado com citoplasma claro abundante, aparência similar aos histiócitos. Por isso, o tipo célula grande tem sido imprecisamente denominado de linfoma histiocítico. O tipo célula pequena é caracterizado por núcleo redondo, cromatina condensada e citoplasma escasso. O tipo imunoblástico contém núcleo grande e vesiculoso, nucléolo central e citoplasma escasso (Gross et al., 2006)

O linfoma não-epiteliotrópico vasotrópico e vasoinvasivo é caracterizado por nódulos ou placas pretas na derme e subcutâneo, evoluindo para formação de úlceras e crostas. As lesões envolvem a face, pálpebras, junção mucocutânea e tronco (Gross et al., 2006). Geralmente pode haver o envolvimento de outros órgãos como musculatura esquelética e pulmões (Smith et al., 1996). Histologicamente são caracterizados por proliferação celular multinodular angiocêntrica na derme e subcutâneo, que pode coalescer para um infiltrado tumoral difuso. Nas lesões iniciais o infiltrado celular é pleomórfico e pode ter característica de um processo inflamatório granulomatoso angiocêntrico. Com o passar do tempo, observa-se um aumento no número de células redondas, grandes e pleomórficas, no número de mitoses e a invasão vascular é observada (Gross et al., 2006). Invasão vascular pode estar associada com necrose fibrinóide da parede vascular (Smith et al., 1996). As células neoplásicas são grandes e possuem citoplasma fracamente eosinofílico e núcleo vesiculoso, ligeiramente retorcido, similar a histiócitos. Apesar disso, o imunofenótipo dessas

células indica origem de células T (Smith et al., 1996).

Linfoma intravascular (angioendoteliomatose) cutâneo foi descrito em um cão da raça Boxer que tinha placas e nódulos hiperpigmentados, vermelho-escuros e alopecicos na cabeça, pescoço e tronco (Vangessel et al., 2000). Na necropsia, infiltrado tumoral também foi observado no lobo frontal do cérebro. Histologicamente havia proliferação de células neoplásicas na derme e no subcutâneo, caracterizada por proliferação vascular (canais vasculares com parede fina delimitado por células fusiformes volumosas) acompanhada por células redondas pequenas a médias, com citoplasma escasso e núcleo redondo a ovalado com invaginação lateral com um ou dois nucléolos. O imunofenótipo foi compatível com linfócitos T CD8⁺ (Vangessel et al., 2000).

2.3 Desordens histiocíticas

Os histiócitos são um subgrupo de leucócitos presentes nos tecidos e têm um papel fundamental no funcionamento do sistema imunológico. Essas células surgem dos precursores de células tronco CD34⁺ da medula óssea, as quais se diferenciam sob o estímulo de citocinas, em células da linhagem dos monócitos/macrófagos ou na linhagem de células dendríticas (Fulmer e Mauldin, 2007).

Várias desordens histiocíticas reativas e neoplásicas têm sido descritas em cães (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Moore et al., 2006; Fulmer e Mauldin, 2007). Histiocitoma cutâneo, sarcoma histiocítico localizado e sarcoma histiocítico disseminado são classificados como desordens neoplásicas e os termos histiocitose cutânea e histiocitose sistêmica são alterações reativas dos histiócitos (Moore et al., 2006). A terminologia usada para descrever essas alterações não é uniforme e, muitas vezes, alguns autores

utilizam nomenclaturas diferentes para descrever uma mesma alteração.

2.3.1 Histiocitoma cutâneo

Histiocitoma é uma neoplasia benigna derivada das células de Langerhans. As células de Langerhans são células dendríticas apresentadoras de antígenos da pele e estão localizadas entre os queratinócitos (Gross et al., 2006). Sua função está associada ao reconhecimento de antígenos estranhos, processamento e apresentação aos linfócitos T nos linfonodos (Baines et al., 2000). Os marcadores imunofenotípicos das células de Langerhans incluem MHC-I⁺, MHC-II⁺, CD1a⁺, CD1c⁺, CD11b⁺, CD11c⁺, CD18⁺, CD44⁺, CD45⁺, CD45RA⁺, CD49d⁺, ICAM-1⁺ (Ginn et al., 2007) e E-caderina⁺ (Gross et al., 2006; Ginn et al., 2007; Ramos-Vara e Miller, 2011). A maioria desses anticorpos requer o uso de amostras congeladas/tecido fresco e, somente o CD45, CD45RA, CD18 e E-caderina podem ser utilizados em tecidos parafinizados (Affolter e Moore, 2002; Gross et al., 2006).

A frequência desse tumor é variada entre os estudos, correspondendo entre 2% a 14,3% de todas as neoplasias cutâneas (Goldschmidt e Shofer, 1992; Yager e Wilcock, 1994; Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Kaldrymidou et al., 2002; Souza et al., 2006; Pakhrin et al., 2007). Ocorre principalmente em animais jovens, com menos de 4 anos de idade, porém animais de qualquer idade podem ser acometidos (Goldschmidt e Hendrick, 2002).

Histiocitoma cutâneo canino apresenta crescimento rápido e aparece como nódulos ou placas eritematosos, em forma de cúpula (“tumor em botão”) medindo menos de 2,5 cm de diâmetro. Alopecia e ulceração são comuns (Gross et al., 2006). Os sítios de predileção incluem a cabeça, orelha, pescoço

e membros, mas podem ser observados em qualquer parte do corpo (Gross et al., 2006).

Os tumores geralmente são solitários, mas poucos cães podem ter múltiplos histiocitomas que desenvolvem sincronicamente ou em sequência. Isso provavelmente ocorre devido a uma alteração na imunidade do hospedeiro e não reflete qualquer alteração no comportamento benigno do tumor (Goldschmidt e Hendrick, 2002). Na maioria dos casos, os tumores sofrem regressão espontânea que está associada ao aumento de linfócitos T (Kipar et al., 1998). As células neoplásicas no histiocitoma são células de Langerhans e, portanto, são propensas a migrar para os linfonodos de drenagem. A linfadenopatia não é dolorosa e pode ocorrer nos histiocitomas solitários e múltiplos (Gross et al., 2006).

Histologicamente os histiocitomas são nódulos circunscritos, mas não encapsulados que infiltram na derme superficial e profunda, podendo estender para o subcutâneo. Esses nódulos são compostos por uma proliferação de células redondas e poligonais arranjas em mantos e cordões que variavelmente destroem estruturas anexas. Na junção derme-epidérmica as células formam fios de cordões soltos dispostos paralelamente a epiderme. Invasão da epiderme, caracterizada por células isoladas ou agregadas (mimetizando os microabscessos de Pautrier do linfoma cutâneo epiteliotrópico) está presente em mais de 80% dos casos, mas é geralmente discreta, e invasão folicular não é uma característica proeminente (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Gross et al., 2006). As células neoplásicas têm limites citoplasmáticos pouco definidos e citoplasma levemente eosinofílico, abundante a moderado. Na derme profunda onde há áreas sólidas de proliferação os limites citoplasmáticos são indistintos. O núcleo é redondo a oval, central, com invaginação lateral e cromatina finamente

dispersa ou marginada. Atividade mitótica é moderada (Gross et al., 2006).

Em lesões regressivas, a epiderme é frequentemente ulcerada e os nódulos tumorais têm múltiplas áreas de necrose. Há um denso infiltrado de linfócitos T que inicialmente predomina na base do tumor e gradualmente infiltra na massa tumoral. Além disso, número variável de histiócitos reativos misturados com as células neoplásicas podem estar presentes nas lesões regressivas (Gross et al., 2006).

2.3.2 Sarcoma histiocítico

Sarcoma histiocítico em cães ocorre como uma proliferação neoplásica de células dendríticas intersticiais e pode encontrado na forma localizada ou disseminada (Affolter e Moore, 2002). Essa doença tem sido reconhecida em uma variedade de raças, mas Rottweillers, Bernese Mountains, Golden Retrievers e Labrador Retrievers parecem ser mais acometidos (Affolter e Moore, 2002).

Sarcoma histiocítico localizado surge de um único sítio e lesões metastáticas são observadas nos linfonodos de drenagem. Os sítios de predileção incluem o subcutâneo, principalmente das extremidades, mas também podem ocorrer no baço, pulmão, cérebro, cavidade nasal e medula óssea (Affolter e Moore, 2002).

Sarcoma histiocítico disseminado é uma doença multisistêmica agressiva caracterizada pela presença de múltiplas massas tumorais em vários órgãos. Os sítios primários incluem o fígado, pulmão e medula óssea. Lesões secundárias são observadas nos linfonodos e no fígado e subsequentemente outros órgãos podem ser acometidos (Affolter e Moore, 2002). Essa doença foi previamente descrita como histiocitose maligna, porém o termo sarcoma histiocítico disseminado é preferido, pois histiocitose maligna implica em

desenvolvimento simultâneo de proliferações histiocíticas neoplásicas em diferentes localizações (Gross et al., 2006). Não há evidências de que haja desenvolvimento simultâneo de massas tumorais de origem histiocítica em cães (Affolter e Moore, 2002).

As características histológicas e o imunofenótipo dessas duas doenças são idênticos (Affolter e Moore, 2002). As células neoplásicas do sarcoma histiocítico são CD45⁺, CD18⁺, CD1⁺, CD11c⁺, CD90[±], MHC-II⁺, ICAM-1⁺ (Affolter e Moore, 2002; Gross et al., 2006). Gross et al (2006) descreve que os sarcomas histiocíticos são negativos para E-caderina, porém, recentemente Ramos-Vara e Miller (2011) observaram reatividade para esse marcador em 100% (5/5) dos sarcomas histiocíticos avaliados. Moore et al (2006) relataram a expressão de CD11d em alguns casos de sarcoma histiocítico disseminado (hemofagocítico), o que indica uma possível origem de macrófagos além da linhagem de células dendríticas. As células do sarcoma histiocítico não mostram reatividade para CD4, molécula expressa nas células dendríticas dermais ativadas/histiocitose reativa (Affolter e Moore, 2000).

Histologicamente, o sarcoma histiocítico caracteriza-se por proliferação neoplásica pobremente delimitada e invasiva composta de população densa de células pleomórficas que altera a arquitetura tecidual normal (Affolter e Moore, 2002). A morfologia e o arranjo das células neoplásicas variam entre os tumores e entre as diferentes áreas de cada tumor. Dois padrões principais são reconhecidos, células redondas e células fusiformes (Gross et al., 2006). Alguns nódulos tumorais são compostos de células redondas grandes e citoplasma anfófilo abundante, ocasionalmente vacuolizado; o núcleo é grande, vesicular, redondo a oval ou com invaginação lateral com um ou vários nucléolos (Affolter e Moore, 2002; Gross et al., 2006). Um segundo padrão é

caracterizado por proliferação densa de células fusiformes volumosas, processos citoplasmáticos longos e núcleo grande, vesicular e ovalado (Affolter e Moore, 2002; Gross et al., 2006). Frequentemente ambos os tipos de células estão presentes dentro de uma lesão (Affolter e Moore, 2002; Fulmer e Mauldin, 2007). Além disso, observam-se células gigantes multinucleadas com características bizarras e, marcada anisocitose e anisocariose (Fulmer e Mauldin, 2007). Fagocitose de eritrócitos, leucócitos ou células tumorais também podem ser observadas, porém não são encontradas em todas as formas da doença e ocorre predominantemente na forma hemofagocítica do sarcoma histiocítico (Moore, 2011).

2.3.3 Histiocitose reativa cutânea e sistêmica

Essas duas doenças constituem alterações reativas e não-neoplásicas dos histiócitos. Elas são contempladas nessa revisão para auxiliar no esclarecimento de todas as desordens histiocíticas caninas.

Histiocitose pode ser definida como uma alteração reativa dos histiócitos, com proliferação da linhagem das células dendríticas apresentadoras de antígenos dermais (Affolter e Moore, 2000).

Histiocitose reativa cutânea é caracterizada por placas ou nódulos não doloridos, solitários ou únicos com proliferação não neoplásica de histiócitos, acompanhada por linfócitos e neutrófilos (Ginn et al., 2007). As lesões ocorrem predominantemente na cabeça, pescoço, extremidades e escroto, e menos frequentemente no tronco e no abdômen (Affolter e Moore, 2000). Não há predileção por raça ou sexo (Ginn et al., 2007).

A histiocitose reativa sistêmica é o termo usado para designar uma condição similar que ocorre não apenas na pele, mas também

em linfonodos e outros órgãos, como pálpebra, esclera, cavidade nasal, pulmões, baço e medula óssea (Affolter e Moore, 2000; Ginn et al., 2007). A histiocitose sistêmica foi primeiramente reconhecida como uma doença de cães Bernese Mountain com predileção para machos (Affolter e Moore, 2000). Contudo, também tem sido observada em outras raças, como Rotweiller, Golden Retriever e Labrador Retriever (Ginn et al., 2007)

A etiologia e a patogênese da histiocitose reativa em cães são desconhecidas (Affolter e Moore, 2000). Apesar disso, regride com o tratamento sistêmico com imunossupressores, como a ciclosporina A e a leflunomida (Affolter e Moore, 2000), indicando que há uma desregulação do sistema imune nesses animais.

As características histológicas e o imunofenótipo dessas duas doenças também são idênticos (Affolter e Moore, 2000). Os histiócitos reativos são CD45⁺, CD18⁺, CD1⁺, CD11c⁺, MHC-II⁺, CD4⁺, CD90⁺, ICAM-1⁺ (Affolter e Moore, 2000; Gross et al., 2006). A molécula CD4 é expressa somente em células dendríticas dermais ativadas, ou seja, na histiocitose reativa (Affolter e Moore, 2000).

Histologicamente, a histiocitose reativa é caracterizada por infiltrado celular multinodular na derme profunda e pânículo adiposo. Esse infiltrado é composto principalmente por histiócitos, pequenos linfócitos e neutrófilos que estão localizados ao redor de vasos sanguíneos formando manguitos perivasculares (Affolter e Moore, 2000). Os histiócitos são grandes, redondos a ovais, núcleo com invaginação lateral e citoplasma abundante, fracamente eosinofílico que ocasionalmente possui pequenos vacúolos (Affolter e Moore, 2000). Em contraste com o histiocitoma cutâneo, na histiocitose cutânea e sistêmica não há envolvimento epitelial (Affolter e Moore, 2000).

2.4 Plasmocitoma

Plasmocitomas extramedulares constituem uma proliferação neoplásica de plasmócitos sem envolvimento da medula óssea. Na pele são chamados de plasmocitomas cutâneos e geralmente são benignos. Contudo, plasmocitomas extramedulares também podem ocorrer no trato gastrointestinal, pulmão, baço, rim, canal vertebral e cérebro, onde comumente exibem comportamento maligno (Jacobs et al., 2002).

Os marcadores imunofenotípicos dos plasmócitos incluem: CD45⁺, CD45RA[±] (Gross et al., 2006), CD79a[±] (expressão em mais de 80% dos plasmocitomas) (Schrenzel et al., 1998), IgG's⁺ (Platz et al., 1999). Recentemente, Ramos-Vara e Miller (2011) observaram expressão imuno-histoquímica da E-caderina em 75% (54/72) dos plasmocitomas avaliados.

Plasmocitoma cutâneo ocorre em cães adultos e idosos e constituem entre 1,5 a 2,3% de todas as neoplasias cutâneas nessa espécie (Goldschmidt e Shofer, 1992; Yager e Wilcock, 1994; Pakhrin et al., 2007). São comumente encontrados na orelha, queixo e dígitos (Schrenzel et al., 1998). Em um estudo, o tronco e os membros foram os sítios mais comuns (Cangul et al., 2002), enquanto que em outro trabalho, os membros posteriores e a mucosa oral foram os locais mais frequentemente acometidos (Platz et al., 1999).

As lesões são geralmente solitárias, mas tumores múltiplos também podem estar presentes (Gross et al., 2006). Ocorrem como nódulos elevados, sésseis e firmes menores que 2 cm de diâmetro, localizados na derme. Ocasionalmente pode haver envolvimento do subcutâneo e extensão para o epitélio, como ocorre nos linfomas epiteliotrópicos e histiocitomas (Gross et al., 2006).

Histologicamente podem ser caracterizados por proliferação neoplásica dérmica não encapsulada, de células redondas a poligonais arranjadas em cordões ou ninhos, separados por fino estroma fibroso. Ocasionalmente há um arranjo pseudoglandular com eritrócitos no centro (Gross et al., 2006). Algumas células retêm características típicas de plasmócitos bem diferenciados: halo perinuclear (zona de Golgi), núcleo periférico e citoplasma basófilico que auxiliam no diagnóstico (Ginn et al., 2007). Porém, há variação na diferenciação das células tumorais, as quais podem apresentar acentuada anisocitose e anisocariose (Gross et al., 2006). Células binucleadas ou multinucleadas e figuras mitóticas são frequentes (Ginn et al., 2007). Platz et al (1999) classificaram os plasmocitomas em cinco tipos, baseados em suas características morfológicas: *hyaline type*, *mature type*, *cleaved type*, *asynchronous type* e *polymorphous-blastic type*. Apesar disso, não há diferenças significantes no comportamento biológico entre os diferentes tipos, embora recidiva local e metástase possam ocorrer no tipo mais pleomórfico (*polymorphous-blastic type*) (Platz et al., 1999).

2.5 Tumor Venéreo Transmissível

Tumor venéreo transmissível ocasionalmente denominado como sarcoma transmissível canino ou sarcoma de Sticker tem sido reconhecido apenas em cães (Park et al., 2006; Schlafer e Miller, 2007). É transmitido pelas células tumorais viáveis disseminadas por machos e fêmeas infectados durante o coito, ou ao lambar ou esfregar (Gross et al., 2006). Sugere-se que a implantação natural na pele ocorra por mordidas ou outras feridas (Schlafer e Miller, 2007).

O cariótipo das células tumorais é composto de 57-59 cromossomos, que difere dos 78 cromossomos encontrados em células somáticas caninas normais (Murchison,

2008). O TVT expressa vimentina e é de origem mesenquimal (Pereira et al., 2000). Sugere-se também que tenha origem histiocítica devido a expressão imunohistoquímica de lizozima e alfa1-tripsina (Mozos et al., 1996) e de CD45 e CD45RA (Gross et al., 2006). Porém a avaliação de amostras congeladas não mostrou a expressão de glicoproteínas (CD11b, CD11c, CD1 e MHC-II) características de histiócitos (Gross et al., 2006).

No TVT, as lesões são principalmente observadas na pele ou na mucosa do sistema genital (Gross et al., 2006). Lesões extragenitais sem envolvimento da genitália também podem ocorrer e, nesses casos, a diferenciação entre o TVT e outros tumores de células redondas é mais difícil (Mozos et al., 1996).

Histologicamente observa-se uma proliferação de células grandes redondas, ovais ou poliédricas, pobremente delimitada na derme e no subcutâneo, com limites citoplasmáticos indistintos e citoplasma claro. A monotonia celular é uma característica importante do TVT. Algumas vezes, pode-se visualizar vacuolização citoplasmática, que é mais facilmente observada em aspirados e “*imprints*” desse tumor. O núcleo grande contém numerosos grânulos de cromatina e o nucléolo é proeminente e único. O índice mitótico é elevado e até 6-8 mitoses por campo de maior aumento (40X) podem ser encontradas. (Gross et al., 2006). Dificilmente observam-se células tumorais próximas a epiderme, característica que auxilia na diferenciação entre histiocitoma cutâneo que frequentemente mostra epiteliotropismo (Schlafer e Miller, 2007). Grande quantidade de linfócitos não neoplásicos pode infiltrar na fase regressiva do tumor (Murchison, 2008).

O TVT apresenta uma fase de crescimento tumoral (progressiva) seguida por uma fase de estabilidade e, por último, pela fase

regressiva. Alternativamente, ao invés de regredir, cerca de 1 até 20% dos tumores podem entrar numa segunda fase de progressão que evolui para metástases (Murchison, 2008). Em fêmeas ocorrem geralmente para o útero e tubas uterinas e, em ambos os sexos, ocorre para linfonodos inguinais e na pele. As metástases ocorrem geralmente em animais jovens, imunossuprimidos ou mal nutridos e o envolvimento de vísceras internas raramente é vista (Park et al., 2006). Porém esse autor relata TVT em um cão de dois anos, sem histórico de imunossupressão ou mal nutrição, com envolvimento da pele e genitália e metástases para pulmão, fígado, rins, baço e linfonodos internos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados sob as orientações e com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG), protocolo 171/2009.

3.1 Origem do material

Foram revisados todos os protocolos de biópsia de pele e fichas de necropsia que constavam tumores cutâneos, arquivados no Setor de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG no período de 1996 a 2008, referentes aos cães da região metropolitana de Belo Horizonte.

Cães com tumores cutâneos atendidos no Hospital Veterinário e os animais com tumores cutâneos necropsiados no Setor de Patologia da UFMG, no período de janeiro de 2009 a setembro de 2010 também foram considerados nesse estudo.

3.1.1 Estudo prospectivo (2009-2010)

O procedimento cirúrgico dos cães com suspeita de “tumor de células redondas” foi acompanhado e o registro fotográfico de alguns desses animais foi realizado. Os tumores extirpados cirurgicamente foram

identificados e fixados por, no máximo 48 horas, em formalina tamponada a 10%. Em seguida os fragmentos foram clivados e processados pela técnica de desidratação em álcool, diafanização, inclusão em parafina, seccionados em 5 micras e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e avaliados em microscópio de luz comum. Os animais com diagnóstico histológico de mastocitoma, linfoma e histiocitoma foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica para confirmação da origem celular. Em alguns desses animais, os dados clínicos relacionados ao tempo de aparecimento do tumor, informações a respeito de metástases e recidivas além do tratamento preconizado também foram obtidos. Essas informações foram fornecidas pelo médico veterinário responsável pelos animais, por meio da análise das fichas clínicas disponíveis no hospital veterinário e através do contato telefônico com os proprietários.

3.2 Dados clínicos e nomenclatura dos tumores

Dos protocolos de biópsia e fichas de necropsia foram retirados dados referentes à idade, o sexo e a raça dos animais além de informações relacionadas aos tumores como a localização anatômica e o diagnóstico histopatológico (morfológico). Foram considerados tumores cutâneos somente os processos neoplásicos, não sendo incluídos neste estudo os processos não neoplásicos como hiperplasias nodulares, hamartomas ou cistos.

Em relação às raças foram observadas algumas denominações como “Pointer”, “Pastor”, “Setter”, “Dogue” e “Fox” que foram categorizadas separadamente. Há várias raças de pastor, setter, dogue e fox e, por isso, não foram incluídas dentro de alguma raça específica.

As faixas etárias dos cães foram consideradas como segue: filhotes (até um ano de idade), adultos (até oito anos de

idade) e idosos (acima de oito anos de idade).

Quanto ao sexo, os cães foram classificados apenas como macho ou fêmea, independentemente de serem castrados ou inteiros.

Os sítios anatômicos foram categorizados em: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membro torácico, membro pélvico, períneo, prepúcio, cauda e escroto. Muitas fichas não especificavam o membro (pélvico ou torácico) que continha o tumor e, por isso, foram classificadas separadamente. Os protocolos em que não constavam informações sobre o sítio anatômico ou quando os dados fornecidos eram imprecisos foram considerados como não informados. Expressões como “região lateral”, “região ventral”, “região próximo às mamas” presentes nas fichas clínicas foram consideradas como localização anatômica não informada. Quando mais de um tumor de mesma classificação histológica ocorreu em sítios anatômicos diferentes de um mesmo cão, ele foi considerado como multicêntrico.

A nomenclatura dos tumores foi padronizada de acordo com a literatura mais recente (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Gross et al., 2006) ou para facilitar o levantamento.

Foi calculada a prevalência de cada tipo tumoral em relação ao total de tumores diagnosticados e a localização anatômica.

Os tumores também foram classificados em quatro grupos quanto a sua origem: tumores epiteliais, mesenquimais, melanocíticos e hematopoéticos. Dessa forma, a prevalência de cada grupo e de cada tipo histológico dentro de sua respectiva categoria também foi estipulada.

Os animais diagnosticados com tumores histologicamente diferentes, ou seja, tumores múltiplos foram registrados como tumores separados, dentro de cada entidade

específica. Dessa forma, há um maior número de tumores do que de cães.

As denominações papiloma e papilomatose foram incluídas como papilomas e papiloma invertido foi incluído separadamente.

Sob a denominação de acantoma infundibular queratinizante foram incluídos os tumores denominados como queratoacantoma. Essa denominação foi preferida em concordância com alguns autores (Gross et al., 2006) que consideraram inadequado empregar o epônimo humano queratoacantoma aos tumores de animais.

As denominações pilomatrixoma benigno e pilomatrixoma cístico foram incluídas como pilomatrixoma. Os tumores diagnosticados como tricoepiteliomas císticos foram classificados como tricoepiteliomas.

Tumores referidos como adenoma/epitelioma e carcinoma de glândulas de Meibomian foram incluídos como adenoma/epitelioma e carcinoma de glândulas társicas. Essa denominação foi preferida pela tendência atual de substituição de nomes próprios ou epônimos na nomenclatura científica.

Sob as denominações adenoma/epitelioma e carcinoma de glândula hepatóide foram incluídos todos os diagnósticos morfológicos de tumores epiteliais benignos e malignos, que faziam menção às expressões: glândulas perianais, glândulas ad-anais, glândulas circum-anais ou glândulas hepatóides. A denominação adenocarcinoma de glândula hepatóide foi incluída como carcinoma de glândula hepatóide.

Em diversos protocolos o diagnóstico morfológico dos tumores epiteliais não era preciso, sendo encontradas diversas expressões como “adenoma”, “adenocarcinoma”, “carcinoma indiferenciado” e “neoplasia epitelial não determinada”. Esses tumores foram

incluídos no levantamento e categorizados como tumores epiteliais não classificados. Em outros laudos o diagnóstico morfológico não foi conclusivo e esses tumores foram categorizados como neoplasia não determinada.

As denominações “fibroleiomioma” e “fibrolipoma” foram encontradas em algumas fichas e os tumores foram categorizados como entidades separadas.

A nomenclatura “hemangiopericitoma maligno” foi observada em um dos protocolos e o tumor foi categorizado separadamente. De acordo com Goldschmidt e Hendrick (2002), os hemangiopericitomas embora apresentem características malignas marcantes como atipia celular, alto índice mitótico e células multinucleadas em tumores recorrentes, a denominação hemangiopericitoma maligno geralmente não é usada, sendo preferível utilizar o termo hemangiopericitoma.

Em inúmeras fichas de animais com mastocitoma, o grau histológico não foi conclusivo. As denominações “mastocitoma”, “mastocitoma grau I a II” e “mastocitoma grau II a III” foram categorizadas somente como mastocitoma. Os cães com mastocitoma que apresentaram mais de um grau histológico foram considerados no levantamento somente o tumor de pior grau, sendo categorizados como multicêntrico quando localizados em sítios anatômicos diferentes.

A denominação “histiocitoma maligno” foi observada em alguns protocolos e esses tumores foram categorizados separadamente.

Em diversos laudos o diagnóstico morfológico dos tumores de origem mesenquimal não era preciso, sendo encontradas diversas designações como “sarcoma indiferenciado”, “neoplasia

mesenquimal não determinada” e “neoplasia de células redondas”. Esses tumores foram incluídos no levantamento e categorizados como tumores mesenquimais não classificados.

Os protocolos com diagnóstico morfológico de linfoma sem classificação (epiteliotrópico ou não epiteliotrópico) foram categorizados separadamente como linfoma cutâneo.

3.3 Imuno-histoquímica

Os tumores de células redondas foram selecionados para a análise imuno-histoquímica. Desta forma, foram separados os blocos de parafina que constavam no laudo histopatológico o diagnóstico de: mastocitoma, histiocitoma, histiocitose cutânea maligna, histiocitoma maligno, linfoma cutâneo, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível e neoplasia de células redondas. Nos casos de mastocitomas metastáticos, tanto o tumor primário como as metástases foram selecionados para análise imuno-histoquímica.

Esses tumores foram numerados e identificados com as letras M, L, H, P, T e CR, quando previamente diagnosticados na histologia como mastocitoma, linfoma, neoplasias de origem histiocítica, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível e neoplasia de células redondas, respectivamente.

As secções foram coradas utilizando-se anticorpo policlonal de coelho: CD117 (marcador específico de mastócitos), anticorpo monoclonal de humano, CD3 (marcador específico de linfócito T), anticorpo monoclonal de camundongo: CD79a (marcador específico de linfócito B), CD45 (marcador de leucócitos), citoqueratina AE1/AE3 (marcador de células epiteliais), E-caderina e vimentina (marcador de células mesenquimais) detalhados na tabela 1.

Tabela 1 - Lista de anticorpos usados no estudo imuno-histoquímico.

Anticorpo	Clone	Tipo	Diluição	Fabricante
CD117 (c-KIT)	---	Policlonal (coelho), anti-humano	1:800	Dako
CD79a	HM47/A9	Monoclonal (camundongo), anti-humano	1:500	DBS
CD45	CA1210C12	Monoclonal (camundongo), anti-canino	1:200	UC-Davis
CD3	CD3-12	Monoclonal, humano	1:500	UC-Davis
Citoqueratina AE1/AE3	AE1/AE3	Monoclonal (camundongo), anti-humano	1:100	Dako
E-caderina	4A2C7	Monoclonal (camundongo)	1:60	Invitrogen
Vimentina	V9	Monoclonal (camundongo)	1:50	Dako

Os cortes histológicos de três micrômetros (3 µm) em lâminas preparadas com organossilane¹ foram desparafinados em estufa a 56°C por 15 minutos, seguidos por 2 banhos de xilol, 15 minutos em cada. Reidratação foi realizada com 2 banhos em álcool absoluto, 1 banho em álcool 90% e em álcool 80%, 5 minutos em cada; e, finalmente em água corrente por 10 minutos.

A recuperação antigênica foi feita por calor úmido usando uma solução de recuperação antigênica² a 10%, pH 6,0, em banho-maria a 98°C por 20 minutos para todos os anticorpos, exceto para E-caderina, em que foi usada a Pascal³ a 125°C por 2 minutos. Em seguida, as lâminas foram resfriadas a temperatura ambiente por 20 minutos na mesma solução de recuperação antigênica.

Os cortes foram incubados à temperatura ambiente em 3% (vol/vol) H₂O₂/metanol e em câmara úmida à temperatura ambiente no soro normal⁴ por 15 minutos em cada; por 16 horas (“overnight”) à 4°C com os

anticorpos primários (CD117⁵, CD79a⁶, CD45⁷, CD3⁸) e por 1 hora à temperatura ambiente com o anticorpo primário (citoqueratina AE1/AE3⁹, E-caderina¹⁰, vimentina¹¹); à temperatura ambiente com o anticorpo secundário¹² e com o reagente polímero¹³ por 30 minutos em cada. Após as incubações com a solução de peróxido de hidrogênio e com o anticorpo primário as lâminas foram lavadas por 3 x 5 minutos e entre as demais incubações por 2 x 5 minutos, ambos em tampão fosfato salina a 10%.

A imunorreatividade foi revelada após a incubação das lâminas em

¹ Silano 3 Aminopropiltriétoxissilano, Alkimia, Campinas-SP, Brasil

² Target retrieval solution concentrated 10X, S1699-1, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

³ Microprocessor-controlled pressure chamber, S2800, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

⁴ Ultra V block, TA-060-UB, Labvision, Fremont-CA, Estados Unidos

⁵ c-KIT, A4502, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

⁶ Clone HM47/A9, Mob 242, DBS, Pleasanton-CA, Estados Unidos

⁷ Clone CA1210C12, University of California, Davis-CA, Estados Unidos

⁸ Clone CD3-12, University of California, Davis-CA, Estados Unidos

⁹ Clone AE1/AE3, M3515, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

¹⁰ Clone 4A2C7, Invitrogen, Camarillo-CA, Estados Unidos

¹¹ Clone V9, M0725, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

¹² Advance HRP link, K4068, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

¹³ Advance HRP enzyme, K4068, Dako, Carpinteria-CA, Estados Unidos

diaminobenzidina¹⁴ por 10 minutos (CD117, CD45 e E-caderina), por 5 minutos (CD3 e CD79a), por 3 minutos (citoqueratina AE1/AE3) e por 5 segundos (vimentina) seguida da lavagem em água corrente. As lâminas foram contracoradas com hematoxilina de Harris, seguidas da lavagem em água corrente, desidratação (1 banho em álcool 80% e 90%, 5 minutos em cada e 2 banhos em álcool absoluto, 10 minutos em cada), diafanização (2 banhos de xilol, 5 minutos em cada) e montagem em Entellan¹⁵ e lamínula.

Controles positivos e negativos foram incluídos em cada bateria. Tecidos de cães foram usados como controles positivos: pulmão (CD45), linfonodo (CD79a), timo (CD3) e para o CD117, citoqueratina AE1/AE3, E-caderina e vimentina, o próprio tecido foi usado como controle interno. Os controles negativos foram avaliados através da utilização de soro normal em substituição ao anticorpo primário.

3.3.1 Avaliação imuno-histoquímica

Os anticorpos CD79a, CD45, CD3, citoqueratina AE1/AE3, E-caderina e vimentina foram avaliados qualitativamente em positivo ou negativo.

Os mastocitomas e suas metástases foram classificados de acordo com o padrão de expressão do anticorpo CD117. Dessa forma, os mastocitomas foram classificados em KIT I (marcação peri-membrana), KIT II (marcação citoplasmática focal) e KIT III (marcação citoplasmática difusa). Cada mastocitoma foi classificado de acordo com o padrão mais alto (mais maligno), presente em pelo menos 10% das células neoplásicas (Kiupell et al., 2004).

¹⁴ Liquid DAB substrate chromogen system, K3468, Carpenteria-CA, Estados Unidos

¹⁵ Entellan, Merk, Darmstadt, Alemanha

Quando um animal apresentou mais de um mastocitoma com padrão de marcação do CD117 distintos entre eles foi considerado o padrão mais maligno, para a compilação do número total dos tumores.

3.4 Análise estatística

Os resultados dos padrões do KIT foram comparados com os graus histológicos através do teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunn.

Para a comparação entre as expressões do CD117 nos tumores primários e nas metástases foi usado o teste Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunn e para a correlação existente entre elas foi usado o coeficiente de Spermann.

Estes testes foram conduzidos com o auxílio do *software* GraphPad InStat®.

4. RESULTADOS

4.1 Dados clínicos

Durante o período de estudo (1996 a 2010) foram encontrados 1762 protocolos de biópsia e fichas de necropsia de cães com tumores cutâneos. Desse total, as raças mais prevalentes foram os animais sem raça definida (422/23,95%), Poodle (233/13,22%), Cocker Spaniel (150/8,51%), Boxer (108/6,13%), Pastor Alemão (75/4,26%) e Dachshund (61/3,46%). Foram encontradas 53 raças diferentes, incluindo os animais sem raça definida. Cerca de 80 (4,54%) animais não tiveram sua raça informada. Do total de 1762 animais, 48 (2,72%) não foi informado o sexo. Dos 1714 cães que tinham o sexo descrito nos protocolos, 894 (52,16%) eram machos e 820 (47,84%) eram fêmeas, ou seja, uma relação macho:fêmea de 1,09. Do total de 1762 cães, 216 (12,26%) não tiveram a idade anotada nas fichas. Dentre os 1546 animais que tiveram a idade informada, 50

(3,23%) eram filhotes, 719 (46,51%) eram adultos e 777 (50,26%) eram idosos. Informações adicionais referentes às raças, idade e sexo dos animais estão detalhadas na tabela 2.

Dos 1762 protocolos encontrados, 1635 (92,79%) tinham apenas um tipo histológico de tumor e 101 (5,73%) animais tinham dois tipos histológicos diferentes. Vinte e cinco cães (1,42%) apresentaram três tipos histologicamente distintos, enquanto que apenas um (0,06%) animal continha quatro tumores histologicamente diferentes, o que totalizaram 1907 tumores.

Apenas 1644 (86,21%) dos 1907 tumores encontrados tiveram sua localização anatômica informada, na seguinte ordem decrescente de frequência: cabeça (348/18,25%), períneo (195/10,23%), tórax (167/8,76%), membro pélvico (147/7,71%), membro torácico (142/7,45%), abdômen (120/6,30%), dorso (102/5,35%), escroto (64/3,36%), pescoço (56/2,94%), prepúcio (49/2,57%) e cauda (30/1,57%). Sessenta e dois protocolos (3,25%) não especificavam em qual membro (pélvico ou torácico) estava localizado o tumor e 162 (8,50%) animais tinham tumores multicêntricos.

4.2 Dados referentes à classificação e comportamento biológico das neoplasias

Do total de 1907 tumores, 869 (45,59%) eram mesenquimais, 815 (42,74%) eram

epiteliais, 170 (8,91%) eram melanocíticos e 30 (1,57%) eram hematopoéticos. Dos 866 tumores mesenquimais, 315 (36,37%) eram benignos e 551 (63,63%) eram malignos. Dos 814 tumores epiteliais, 492 (60,44%) eram benignos e 322 (39,56%) eram malignos. Dos 170 tumores melanocíticos, 28 (16,47%) eram benignos e 142 (83,53%) eram malignos. Dos 30 tumores hematopoéticos, 5 (16,67%) eram benignos e 25 (83,33%) eram malignos. Não foi possível prever o comportamento biológico de 27 tumores. Dessa forma dos 1880 tumores considerados, 840 (44,68%) eram proliferações benignas e 1040 (55,32%) correspondiam a neoplasias malignas (Tabela 3).

Os dez tipos de tumores mais frequentes em relação ao total de 1907 tumores foram: mastocitoma (351/18,41%), melanoma (142/7,45%), lipoma (141/7,40%), adenoma sebáceo (123/6,45%), carcinoma de células escamosas (121/6,35%), adenoma hepatóide (111/5,82%), hemangiossarcoma (93/4,88%), hemangioma (71/3,73%), histiocitoma cutâneo (45/2,36%), tricoblastoma (45/2,36%) e fibrossarcoma (40/2,10%). O número absoluto de cada neoplasia e a porcentagem em relação ao total de tumores e dentro de cada grupo específico estão detalhados nas tabelas 13 e 14.

Tabela 2 - Raça, sexo e idade dos cães com tumores cutâneos no período de 1996 a 2010.

Cães (%) n=1762				
Raças	Sem Raça Definida (SRD)	422(23,95)	Maltês	6(0,34)
	Poodle	233(13,22)	Pug	6(0,34)
	Cocker Spaniel	150(8,51)	Sharpei	6(0,34)
	Boxer	108(6,13)	Bull Terrier	4(0,23)
	Pastor Alemão	75(4,26)	Bulldog	4(0,23)
	Dachshund	61(3,46)	Fox	4(0,23)
	Pinsher	55(3,12)	Shih-tzu	4(0,23)
	Fila Brasileiro	53(3,01)	Whippet	4(0,23)
	Rottweiler	53(3,01)	Afgan Hound	2(0,11)
	Labrador	43(2,44)	Bulldog Francês	2(0,11)
	Schnauzer	39(2,21)	Greyhound	2(0,11)
	Dobermann	36(2,04)	São Bernardo	2(0,11)
	Beagle	35(1,99)	Setter Inglês	2(0,11)
	Husky Siberiano	28(1,59)	Sheepdog	2(0,11)
	Dogue Alemão	24(1,36)	Bernese	1(0,06)
	Basset Hound	26(1,48)	Chihuahua	1(0,06)
	Pitbull	23(1,31)	Chow Chow	1(0,06)
	Pastor Belga	18(1,02)	Collie	1(0,06)
	Yorkshire	15(0,85)	Dogue	1(0,06)
	Pointer	14(0,79)	Dogue Argentino	1(0,06)
	Akita	12(0,68)	Dogue de Bordeaux	1(0,06)
	Dálmata	12(0,68)	Mastin Napolitano	1(0,06)
	Pastor	12(0,68)	Pastor Canadense	1(0,06)
	Weimaraner	11(0,62)	Pointer Inglês	1(0,06)
	Lhasa Apso	10(0,57)	Samoieda	1(0,06)
	Fox Paulistina	9(0,51)	Shiba	1(0,06)
	Golden Retriever	9(0,51)	Springer Spaniel	1(0,06)
	Pequenês	9(0,51)	West Terrier	1(0,06)
	Setter	9(0,51)	Não informado	80(4,54)
	Bichón Frisé	8(0,45)		
	Fox Terrier	6(0,34)		
	Sexo	Macho	894(50,74)	Não informado
Fêmea		820(46,54)		
Idade	Filhotes (até 1 ano)	50(2,84)	Idosos (acima de 8 anos)	777(44,10)
	Adultos (até 8 anos)	719(40,81)	Não informado	216(12,26)

Tabela 3 - Ocorrência dos tumores cutâneos quanto à origem e comportamento biológico no período de 1996 a 2010.

	Benignos	%	Malignos	%	Total*	%
Tumores epiteliais	492	60,44%	322	39,56%	814	43,30%
Tumores mesenquimais	315	36,37%	551	63,63%	866	46,06%
Tumores melanocíticos	28	16,47%	142	83,53%	170	9,04%
Tumores hematopoéticos	5	16,67%	25	83,33%	30	1,60%
Total	840	44,68%	1040	55,32%	1880	100,00%

* não foram considerados nessa contagem os casos de neoplasia epitelial não determinada, neoplasia mesenquimal não determinada e neoplasia não determinada.

Quanto à localização, os tumores mais prevalentes na cabeça foram o melanoma, o mastocitoma e o adenoma sebáceo. No pescoço e no tórax os tumores mais frequentes foram o lipoma e o mastocitoma. No abdômen, mastocitoma, lipoma, hemangiossarcoma e carcinoma de células escamosas foram os tumores mais diagnosticados. No dorso houve maior predisposição para o mastocitoma, carcinoma de células escamosas, tricopeptelioma, pilomatricoma e melanoma.

Os tumores mais comumente encontrados no membro torácico foram o mastocitoma, melanoma, carcinoma de células escamosas e lipoma. No membro pélvico, o mastocitoma, adenoma sebáceo e lipoma foram os tumores mais comuns. No períneo, o adenoma e o carcinoma hepatóide foram os mais observados e, no prepúcio o hemangiossarcoma ocorreu com maior frequência. O adenoma hepatóide foi o tumor mais prevalente na cauda e o mastocitoma foi o tumor mais encontrado no

escroto e na forma multicêntrica. A distribuição quanto à localização anatômica de cada um dos tumores consta nas tabelas 15 e 16.

4.3 Imuno-histoquímica

Do total de 1907 neoplasias, 449 (23,54%) corresponderam aos “tumores de células redondas”, incluindo nessa contagem os tumores cujos diagnósticos histopatológicos foram: mastocitoma, histiocitoma cutâneo, histiocitoma maligno, histiocitose cutânea maligna, linfoma, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível e neoplasia de células redondas. Esses tumores são assim denominados devido à aparência morfológica semelhante entre eles.

Duzentos e dezesseis (48,11%) desses tumores foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica para a confirmação da origem celular (Tabela 4). O resultado do painel de anticorpos e o diagnóstico final dos tumores pode ser visto na tabela 5.

Tabela 4 - Número total de casos de “tumores de células redondas” diagnosticados na histologia e número de casos submetidos à técnica de imuno-histoquímica e suas respectivas porcentagens:

Tipo Tumores	Casos totais	Casos IHQ	%
Mastocitoma^a	351	142	40,46
Histiocitoma cutâneo	45	32	71,11
Histiocitoma maligno	4	3	75,00
Histiocitose cutânea maligna	3	2	66,67
Linfoma cutâneo^b	25	22	88,00
Plasmocitoma	5	5	100,00
TVT	7	1	14,29
Neoplasia de células redondas	9	9	100,00
Total	449	216	48,11

a Estão incluídos todos os graus histológicos

b Estão incluídos todos os linfomas

Tabela 5 - Resultado do painel de anticorpos e o diagnóstico final das neoplasias

Diagnóstico final	CD117	CD3	CD79a	CD45	Citoqueratina AE1/AE3	E-caderina	Vimentina
Mastocitoma	+	-	-	-	NR	NR	NR
Histiocitoma	-	-	-	±	-	±	NR
Plasmocitoma	-	-	±	-	NR	NR	NR
Linfoma T	-	+	-	±	NR	NR	NR
Linfoma B	-	-	+	-	NR	NR	NR
TVT	-	-	-	±	-	NR	+
Sarcoma histiocítico localizado	-	-	-	±	NR	*	NR

+ positivo, - negativo, ± marcação variável, NR não realizado * realizado somente no caso 18H

4.3.1 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como mastocitoma

Os dados clínicos referentes à idade, a raça e ao sexo além das informações a respeito do grau histológico e dos resultados da imuno-histoquímica de todos os animais com diagnóstico histológico de mastocitoma podem ser vistos no apêndice 1.

Dos 142 (40,46%) casos com diagnóstico histológico de mastocitoma, 96 (67,61%) foram confirmados pela imuno-histoquímica e, o restante (46/32,39%) negativos para o CD117 (c-KIT). A maioria dos casos negativos foi histologicamente definida como mastocitomas pobremente diferenciados ou mastocitomas grau III (Tabela 6). Dessa forma, foi realizada imuno-histoquímica para os marcadores CD45, CD3 e CD79a, na tentativa de se conhecer a origem desses tumores. Nos casos 7M, 11M, 15M, 20M, 41M, 44M e 85M também foi utilizada a (pan) citoqueratina AE1/AE3 para descartar uma possível origem epitelial, por exemplo, células basais. O diagnóstico final desses tumores foi de linfoma T, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível, sarcoma histiocítico localizado e histiocitoma cutâneo. Dezesete casos não se tratavam de

proliferação neoplásica e sim de um processo inflamatório crônico, composto delinfócitos, histiócitos e polimorfonucleares (Tabela 7).

Na maioria dos casos em que não foi confirmado mastocitoma pela imuno-histoquímica observou-se a presença de mastócitos residentes CD117⁺ infiltrados no tumor (Figura 1).

Em todos os casos de linfoma T, sinal positivo do marcador CD3 foi marcante o que definiu o diagnóstico (Figura 2). Os animais 111M e 134M também apresentaram sinal positivo multifocal do marcador CD79a, interpretada como componente inflamatório do tumor. Somente nos cães 42M, 43M, 111M, 134M foi observado sinal positivo do marcador CD45. Os cães 39M, 42M, 52M e 134M tiveram seus diagnósticos definidos como linfoma T epiteliotrópico, devido à infiltração das células tumorais na epiderme.

Nesses casos podem-se observar células tumorais dispostas difusamente na epiderme ou em pequenos grupos (“clusters”) e/ou no epitélio de folículos pilosos, glândulas apócrinas e glândulas sebáceas (Figura 3 e 4). Linfoma T não-epiteliotrópico CD3⁺ ocorreu nos animais 3M, 13M, 19M, 22M, 26M, 30M, 33M e 111M (Figura 5). Na

maioria desses casos as células neoplásicas se localizavam próximas à epiderme, na derme superficial, mas sem haver contato íntimo entre elas ou na derme profunda. O cão 13M apresentou um tumor profundo infiltrado no subcutâneo e na musculatura. A epiderme ulcerada do animal 43M impossibilitou a classificação do linfoma T em epiteliotrópico ou não-epiteliotrópico.

Tabela 6 - Número de casos e seus respectivos graus histológicos dos mastocitomas negativos para o CD117.

Diagnóstico histológico	Número Casos
Mastocitomas grau III	31
Mastocitoma grau II	5
Mastocitoma grau I	3
Mastocitoma	1
Mastocitoma grau II a III	6
Total	46

Tabela 7 - Casos diagnosticados histologicamente como mastocitomas, negativos para o CD117 e seus respectivos diagnósticos finais.

Diagnóstico Final	Cães													
Linfoma T	3M	13M	19M	22M	26M	30M	33M	39M	42M	43M	52M	111M	134M	
Plasmocitoma	14M	40M	65M	69M										
TVT	16M	51M	90M											
Sarcoma histiocítico localizado	37M	38M												
Histiocitoma	7M	11M	15M	20M	41M	44M	85M							
Dermatite*	8M	12M	18M	24M	25M	28M	35M	36M	45M	54M	75M	81M	82M	
	95M	103M	133M	136M										

*não está considerado o caso 58M

Na maioria dos casos diagnosticados histologicamente como mastocitomas e definidos como plasmocitomas, as células foram positivas para CD79a. No cão 40M e 65M foi observada marcação citoplasmática positiva intensa, enquanto que no cão 69M a marcação foi multifocal. Não foi observado sinal positivo desse marcador no animal 14M, porém o diagnóstico de plasmocitoma foi possível pela associação entre os resultados da imuno-histoquímica (negatividade para todos os outros marcadores) e pela morfologia das células, que apresentavam núcleo periférico, típicos de plasmócitos. No cão 14M marcação para CD3 foi observada de forma multifocal, em um padrão típico de células inflamatórias. Em todos os casos não houve marcação para

CD45 e o resultado da imuno-histoquímica para citoqueratina AE1/AE3 feita no caso 14M foi negativo.

As neoplasias dos cães 16M, 51M e 90M diagnosticadas previamente como mastocitoma grau III foram reclassificadas como tumor venéreo transmissível. Todos os casos foram negativos para o CD117, CD3 e CD79a e somente no caso 90M foi observado sinal positivo intenso e multifocal para CD45. O caso 16M também não mostrou sinal positivo para citoqueratina AE1/AE3. Esse foi o único tumor que apresentava células próximas a epiderme e por isso foi feita citoqueratina. Todos esses casos foram positivos para vimentina (Figura 6). Nos casos 51M e 90M, as células

tumorais estavam localizadas profundamente, ou seja, distantes da epiderme, auxiliando na interpretação da marcação pelo anticorpo CD45.

Os tumores dos cães 37M e 38M com sarcoma histiocítico localizado foram previamente diagnosticados na histologia como mastocitoma grau III. Estes tumores foram negativos para CD117, CD3 e CD79a. O cão 37M teve sinal positivo intenso para CD45 e foram observadas características de malignidade como megalocitose e células multinucleadas. Esses resultados auxiliaram no diagnóstico de sarcoma histiocítico e não de histiocitoma cutâneo. O cão 38M não mostrou sinal positivo para CD45 e pelo fato de apresentar células em cordão, partindo da epiderme, as possibilidades de histiocitoma cutâneo, sarcoma histiocítico localizado, tumor de células basais, carcinoma de células basais e melanoma foram questionadas. A negatividade para citoqueratina AE1/AE3 afastou a origem epitelial. Nenhum marcador de melanócitos foi utilizado nesse estudo e células com pigmento preto (melanina) no citoplasma não foram observadas. Esse tumor, assim como o caso 37M também apresentava características malignas e, por isso foi definido como um sarcoma histiocítico localizado e não como histiocitoma, apesar da falta de marcação pelo CD45.

Os cães 7M, 11M, 15M, 20M, 41M, 44M, 85M não mostraram sinal positivo para nenhum dos marcadores utilizados. Na histologia, a maioria deles foi diagnosticada como mastocitoma grau III e no animal 7M o grau histológico não foi definido com exatidão (mastocitoma grau II a III). Todos esses casos tinham um padrão morfológico em comum com células em cordão, partindo da epiderme (Figura 7). Assim como no cão 38M, as células que poderiam sofrer transformação neoplásica nesse local seriam as células de Langerhans, as células da camada basal da epiderme ou os melanócitos. A negatividade para

citoqueratina AE1/AE3 afastou a possibilidade de o tumor ser de origem epitelial. Em todos os casos, exceto o cão 15M mostraram reatividade para E-caderina nas células tumorais próximas à epiderme (Figura 8). Apesar da falta de sinal positivo para o marcador CD45, esses tumores foram definidos como histiocitomas cutâneos devido à reatividade para E-caderina e a negatividade para os demais marcadores que afastaram as possibilidades de mastocitoma, linfoma T, linfoma B e plasmocitoma. Apesar da falta de reatividade para E-caderina, o diagnóstico de histiocitoma também foi feito no cão 15M devido a negatividade para CD3, CD79a, CD117 e citoqueratina AE1/AE3 em associação com a morfologia do tumor (células em cordão, localizadas perpendicularmente a epiderme e células com núcleos com invaginação lateral, citoplasma abundante).

Resultado interessante ocorreu com o cão 58M. Ele foi diagnosticado previamente com mastocitoma grau I, no lábio (cabeça) e mastocitoma grau III no dorso. Dessa forma, ele tinha sido classificado como tendo um mastocitoma grau III multicêntrico. Na imuno-histoquímica ele apresentou o padrão KIT I, no lábio e, no dorso, não observou-se proliferação neoplásica e sim um processo inflamatório, classificado como dermatite histiocitária e linfocitária.

Dezenove cães (13,38%) dos 142 casos de mastocitomas foram definidos histologicamente como mastocitomas com metástase para linfonodos regionais. Imuno-histoquímica do tumor primário e das metástases foi realizada. Um desses cães (136M) apresentou dermatite com mastocitose linfática e não um mastocitoma metastático. Ele tinha sido diagnosticado com mastocitoma grau II com metástase para linfonodos inguinais. O “tumor primário” que não teve sua localização informada era composto de poucas células e uma população mista de histiócitos, polimorfonucleares, fibroblastos e

mastócitos. A imuno-histoquímica do linfonodo revelou a presença de pequena quantidade de mastócitos não-neoplásicos no seio linfático. Os dados referentes ao grau histológico e a marcação pelo CD117 nos tumores primários e nas metástases podem ser vistos na tabela 8. Dos 18 cães com metástase de mastocitoma confirmadas pela imuno-histoquímica, 6 (33,33%) tiveram aumento da marcação citoplasmática, ou seja, marcação aberrante do CD117 nas metástases. Porém, não foram observadas diferenças estatísticas entre o padrão KIT no tumor primário e nas metástases ($p>0,05$), sendo que correlação positiva de 78% foi encontrada ($p<0,05$) (Gráfico 1). Para análise estatística não foram considerados os casos 17M e 57M, pois a avaliação do padrão KIT não foi feito no tumor primário e na metástase.

Dos 96 casos de mastocitomas confirmados pela imuno-histoquímica, 78 (81,25%) consistiam de mastocitomas sem metástase.

Cerca de 70,59% dos mastocitomas grau I mostraram marcação peri-membrana (KIT I) (Figura 9) e, o restante, apresentou o padrão KIT II (Figura 10), ou seja, marcação citoplasmática focal. Os mastocitomas grau II tiveram o padrão KIT I em 59,26% dos casos e em 25,93% foram observados marcação citoplasmática focal (padrão KIT II). 14,81% dos mastocitomas grau II foram classificados com o padrão KIT III (Figura 11). Cerca de 47,06% dos mastocitomas pobremente diferenciados (grau III) foram classificados com o padrão KIT III, 41,18% com o padrão KIT II e 11,76% com o padrão KIT I. Os dados referentes ao grau histológico e ao padrão de marcação do CD117 nesses tumores estão incluídos na tabela 9. Através do teste de análise de variância Kruskal-Wallis seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunn, não foram observadas diferenças estatísticas entre os três padrões do KIT em relação aos graus histológicos ($p>0,05$).

Tabela 8 - Grau histológico e padrão de expressão do CD117 nos tumores primários e nas metástases dos 19 cães.

Cão	Grau I	Grau II	Grau III	KIT tumor primário	KIT Metástase
4M			X	II	III
5M	X			II	III
10M	X			I	I
17M			X	NR ^a	III
34M			X	I	III
53M			X	I	I
57M			X	III	NR
66M		X		I	I
67M	X			II	II
74M		X		II	III
76M			X	III	III
87M			X	II	III
89M			X	III	III
92M		X		I	II
116M			X	I	I
125M		X		III	III
128M	X			I	I
136M		X		NEG ^b	NEG
140M		X		I	I

a NR: não realizado b NEG: negativo

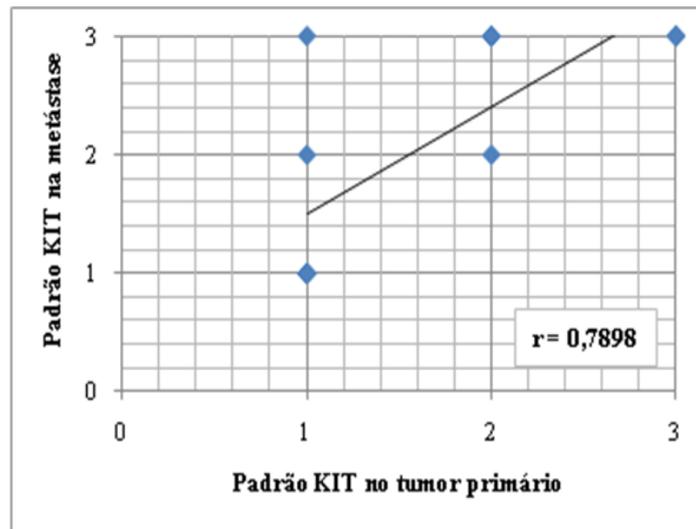


Gráfico 1 - Correlação entre o padrão KIT do tumor primário e das metástases em 16 animais.

Tabela 9 - Grau histológico e expressão do CD117 dos 78 cães com diagnóstico de mastocitoma sem metástase.

Diagnóstico histológico	KIT I	KIT II	KIT III	Total
Mastocitoma grau I	24(70,59%)	10(29,41%)	---	34(43,59%)
Mastocitoma grau II	16(59,26%)	7(25,93%)	4(14,81%)	27(34,62%)
Mastocitoma grau III	2(11,76%)	7(41,18%)	8(47,06%)	17(21,79%)
Total	42(53,85%)	24(30,77%)	12(15,38%)	78(100,00%)

A distribuição quanto à localização anatômica em relação ao grau histológico e ao padrão de expressão do CD117 dos 78 cães pode ser visualizada na tabela 17. Independente do padrão de expressão do CD117, a forma multicêntrica foi o sítio anatômico mais observado nos mastocitomas grau I. O mastocitoma grau II foi mais encontrado no tórax e na forma multicêntrica enquanto que o mastocitoma grau III teve sua maior localização no escroto e no membro posterior.

Independente do grau histológico os mastocitomas classificados como KIT I e KIT II tiveram a forma multicêntrica como sítio mais frequente. O abdômen foi o local mais encontrado nos mastocitomas padrão KIT III.

Nos animais com mastocitoma metastático o escroto foi o sítio anatômico mais frequente. Somente um cão (53M) com mastocitoma com metástase para linfonodos tinha a forma multicêntrica e, nesse caso, o escroto e o abdômen foram os locais presentes. A cabeça (orelha e lábio), tórax, abdômen, membro posterior e prepúcio foram os sítios anatômicos presentes no restante dos animais com metástase de mastocitoma.

4.3.2 Resultados da imunohistoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como linfoma

Cerca de 88% (22/25) dos tumores diagnosticados histologicamente como

linfoma cutâneo foram submetidos à imuno-histoquímica. Os dados clínicos referentes à idade, a raça e ao sexo e os resultados da imuno-histoquímica de todos os animais com diagnóstico histológico de linfoma cutâneo estão contidos no apêndice 2.

Dos 22 casos com diagnóstico histológico de linfoma cutâneo, 13 (59,09%) foram confirmados pela imuno-histoquímica e, o restante, não se tratava de linfoma (Tabela 10).

Os animais 7L, 8L, 11L, 13L, 14L, 21L e 22L tinham linfoma T epiteliotrópico CD3⁺

enquanto que os animais 9L, 16L e 17L foram classificados com linfoma T não-epiteliotrópico CD3⁺. A epiderme ulcerada nos casos 1L e 3L impossibilitaram a classificação dos linfomas de células T. Nos tumores dos animais 7L, 9L, 14L, 16L, 17L, 20L e 22L foram observadas marcação intensa pelo CD45. O restante, não mostrou sinal positivo para esse marcador. No tumor do animal 14L estavam presentes células inflamatórias, observadas pela marcação multifocal do anticorpo CD79a.

Tabela 10 - Casos com diagnóstico histológico de linfoma não confirmados pela imuno-histoquímica e seus respectivos diagnósticos finais.

Tipo tumores	Cães					
Histiocitoma	4L	5L	12L	15L	18L	19L
Sarcoma histiocítico localizado	6L					
Lipossarcoma	10L					
Mastocitoma	21L					

A neoplasia do cão 2L consistia de um linfoma B com sinal positivo intenso para CD79a. Esse caso não mostrou marcação pelo CD45 e marcação multifocal pelo CD3 foi observada. Os casos 4L, 5L, 12L, 15L, 18L e 19L foram definidos como histiocitoma. Somente o animal 19L foi positivo para CD45. O restante (4L, 5L, 12L, 15L, 18L) foi negativo para CD45, CD3, CD79a e CD117. A negatividade para os três últimos marcadores afastou as possibilidades de linfoma T, linfoma B, plasmocitoma e mastocitoma. O padrão morfológico de células em cordão, partindo da epiderme, também foi observado nesses casos. A negatividade para citoqueratina AE1/AE3 afastou a possibilidade de o tumor ser de origem epitelial. Os casos 4L e 12L foram positivos para E-caderina. Apesar da falta de marcação para o CD45 e E-caderina em alguns desses casos, todos os tumores

foram definidos como histiocitomas cutâneos, pela associação entre os resultados da imuno-histoquímica que afastou as possibilidades de linfoma (T e B), plasmocitoma, mastocitoma e carcinoma indiferenciado e à morfologia celular compatível (células em cordão, perpendicular a epiderme, células com núcleo com invaginação lateral e citoplasma abundante).

Sarcoma histiocítico localizado estava presente no animal 6L que não apresentou sinal positivo para nenhum dos marcadores utilizados nesse estudo. Apesar disso, o diagnóstico foi feito pela associação dos resultados da imuno-histoquímica e pela morfologia das células neoplásicas.

O cão 10L não mostrou sinal positivo para os marcadores CD45, CD3 e CD79a. O tumor tinha aparência morfológica de uma

neoplasia maligna de células redondas, porém, em algumas áreas observou-se que as células tinham citoplasma vacuolizado e, algumas vezes, o núcleo era achatado, na periferia da célula. Essas características, em conjunto com os resultados do painel de anticorpos possibilitaram o diagnóstico de lipossarcoma pobremente diferenciado.

Mastocitoma padrão KIT III foi diagnosticado no animal 21L. Componente inflamatório (marcação multifocal do CD3 e CD79a) em quantidade acentuada estava presente nesse tumor e, provavelmente levou ao erro no diagnóstico.

4.3.3 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como histiocitoma cutâneo, histiocitoma maligno e histiocitose cutânea maligna

Vinte e três (71,88%) dos casos de histiocitoma cutâneo em que foi realizado imuno-histoquímica tiveram seu diagnóstico modificado (Tabela 11). Os dados clínicos referentes à idade, a raça e ao sexo e os resultados da imuno-histoquímica dos cães com diagnóstico histológico de histiocitoma cutâneo estão no apêndice 3.

Tabela 11 - Casos de histiocitoma cutâneo não confirmados pela imuno-histoquímica e seus respectivos diagnósticos finais.

Tipo tumores	Cães						
Linfoma T	3H	20H	21H	23H	25H	27H	
Plasmocitoma	7H	9H	32H				
TVT	2H	6H					
Mastocitoma	1H	5H	8H	12H	14H	16H	22H 24H
Sarcoma histiocítico localizado	18H						
Dermatite	4H	13H	17H	19H			

Linfoma T epiteliotrópico CD3⁺ só foi diagnosticado no cão 23H. Nos animais 3H, 20H e 25H os tumores foram definidos como linfoma T não-epiteliotrópico CD3⁺ e, o restante, não foi possível a classificação devido à ulceração da epiderme. Os casos 21H, 23H, 25H também tiveram sinal positivo para o marcador CD45. Nos casos 23H e 27H, observaram-se células inflamatórias (plasmócitos) infiltradas que mostraram marcação positiva para o CD79a no citoplasma.

Os casos 7H e 32H definidos como plasmocitomas foram negativos para o CD79a. Apesar disso, esse diagnóstico foi possível a partir dos resultados negativos para os marcadores CD117, CD3 e CD45 que afastaram as possibilidades de

mastocitoma, linfoma T e de tumor de origem histiocítica, aliado as características morfológicas das células. O caso 7H também foi negativo para citoqueratina AE1/AE3. O tumor do cão 9H foi classificado como plasmocitoma pouco diferenciado. Havia células com morfologia compatível com plasmócitos, com núcleo pequeno e periférico que não mostraram sinal positivo para o CD79a, mas células pleomórficas e megalocíticas CD79a⁺ também estavam presentes.

Tumor venéreo transmissível foi diagnosticado nos cães 2H e 6H. Esses tumores não mostraram sinal positivo para CD45, CD3, CD79a e citoqueratina AE1/AE3. No caso 6H também foi feito o

CD117 que também não foi marcado. Todos esses casos foram positivos para vimentina.

Mastocitoma padrão KIT I foi diagnosticado no cão 22H e KIT II nos casos 1H, 5H e 16H. Padrão KIT III foi observado nos animais 8H, 12H, 14H e 24H. Todos esses tumores foram negativos para CD45, CD3 e CD79a.

O animal 18H foi diagnosticado com sarcoma histiocítico localizado. Esse tumor não apresentou reatividade para CD45, CD3, CD79a, CD117 e E-caderina. Foram observadas células redondas grandes, com marcada anisocariose e algumas células multinucleadas.

Processo inflamatório crônico estava presente nos cães 4H, 13H, 17H e 19H. Houve marcação multifocal dos anticorpos CD3 e CD79a em alguns desses casos, interpretada como inflamação. Em todos esses casos havia uma população mista de células, compostas de linfócitos, histiócitos, polimorfonucleares e fibroblastos e/ou células endoteliais ativas, sem características neoplásicas.

Somente os cães 15H, 26H, 28H, 29H, 33H, 34H, 35H e 38H dos 32 animais com diagnóstico histológico de histiocitoma cutâneo tinham essa neoplasia. Os animais 15H, 34H, 35H e 38H tiveram sinal fortemente positivo para o marcador CD45. Nos outros casos obtiveram-se resultados negativos para esse marcador. Marcação multifocal para CD3 e CD79a foi observada em alguns dos casos, que foi interpretada como inflamação. Os casos que não expressaram CD45 também foram negativos para CD117, CD3, CD79a e citoqueratina AE1/AE3. Em todos os casos, exceto o 26H apresentaram marcação para E-caderina, confirmando a origem tumoral das células de Langerhans. Apesar da falta de marcação para E-caderina no caso 26H a definição de histiocitoma cutâneo foi feita a partir da interpretação dos resultados da IHQ

(negatividade para CD117, CD3, CD79a e citoqueratina AE1/AE3) e das características das células tumorais que estavam localizadas próximas a epiderme, em forma de cordão.

Os casos diagnosticados como histiocitomas malignos consistiam de um linfoma T epiteliotrópico CD3⁺ (10H), de um mastocitoma (11H) e de um sarcoma histiocítico localizado (31H). O tumor do animal 11H não teve sua localização anatômica informada, mas provavelmente eram tumores múltiplos, pois dois padrões do KIT foram observados, o padrão KIT I e KIT III. O cão 31H teve sinal fortemente positivo para o CD45.

As neoplasias diagnosticadas como histiocitose cutânea maligna foram reclassificadas: o caso 37H tratava-se de um sarcoma histiocítico localizado e o 30H era um linfoma T epiteliotrópico. As células neoplásicas do cão 30H foram positivas para o CD45 e CD3. O animal 37H não mostrou marcação para nenhum dos anticorpos, porém tinha morfologia compatível com sarcoma histiocítico localizado.

4.3.4 Resultados da imunohistoquímica dos tumores diagnosticados na histologia como plasmocitomas

Os casos 4P e 5P diagnosticados pela histologia como plasmocitomas foram confirmados pela IHQ. Todos eles apresentaram marcação citoplasmática marcante do CD79a (Figura 12). Porém, os cães 2P e 3P não eram plasmocitoma e sim, um processo inflamatório crônico ou crônico ativo. População mista de células foi observada nesses casos e auxiliou no diagnóstico de dermatite. Células com características neoplásicas como pleomorfismo nuclear e mitoses não foram observadas. O caso 1P foi negativo para CD45, CD3, CD79a, CD117, E-caderina e citoqueratina AE1/AE3, porém foi definido como histiocitoma cutâneo. As informações

clínicas desses animais, juntamente com os resultados da IHQ também estão presentes no apêndice 3.

4.3.5 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como tumor venéreo transmissível

O tumor do cão 1T com diagnóstico histológico de TVT foi confirmado pela imuno-histoquímica. Suas informações clínicas constam no apêndice 3. Esse animal apresentou marcação intensa para o CD45 e vimentina e linfócitos T e B (inflamatórios) também estavam presentes.

4.3.6 Resultados da imuno-histoquímica dos tumores diagnosticados histologicamente como “neoplasia de células redondas”

Finalmente, os tumores que foram classificados genericamente como neoplasia de células redondas tiveram sua origem celular definida, a partir do auxílio da IHQ. Os dados clínicos referentes à idade, a raça e ao sexo e os resultados da IHQ de todos os animais podem ser vistos no apêndice 4.

Os cães 1CR e 3CR tinham um processo inflamatório na pele e não uma neoplasia. Linfoma T epiteliotrópico foi diagnosticado no animal 9CR que apresentou marcação expressiva dos anticorpos CD3 e CD45. Os tumores dos animais 2CR, 5CR e 7CR foram classificados como histiocitomas cutâneos. Nenhum deles mostrou marcação para CD3, CD79a, CD117 e citoqueratina AE1/AE3 que afastaram as possibilidades de linfoma (T e B), plasmocitoma, mastocitoma e carcinoma indiferenciado. Eles também não apresentaram reatividade para CD45 e E-caderina, porém foram definidos como histiocitoma pela morfologia celular. O cão 6CR tinha um TVT, confirmado pela reatividade para vimentina e pelos resultados negativos para os outros marcadores

(CD117, CD3 e CD79a) que descartaram as possibilidades de mastocitoma, linfoma T, plasmocitoma e linfoma B. Esse tumor também não foi positivo para CD45. Os tumores dos animais 4CR e 8CR consistiam de um linfoma B. Eles apresentaram sinal positivo intenso para o CD79a e o cão 8CR possuía grande quantidade de linfócitos T na periferia do tumor.

4.3.7 Nova distribuição dos “tumores de células redondas” após o uso da imuno-histoquímica

A partir dos resultados da imuno-histoquímica, o número total de tumores e a quantidade de mastocitomas, linfomas, plasmocitomas, tumores venéreos transmissíveis e tumores de origem histiocítica foi modificada. Vinte e cinco animais diagnosticados com tumores cutâneos apresentavam dermatite. Dessa forma, o número total de tumores desse estudo reduziu de 1907 para 1882. Os mastocitomas diminuíram de 351 para 315. Houve um aumento do número de linfomas, de 25 para 40 casos, de plasmocitomas de 5 para 9 casos e de 7 para 13 casos de TVT. Houve diminuição dos histiocitomas cutâneos de 45 para 38 tumores. Os casos diagnosticados como histiocitoma maligno e histiocitose cutânea maligna reduziram para somente um tumor cada, do total de 4 e 3 tumores, respectivamente. Sarcoma histiocítico localizado que não havia sido diagnosticado na histologia esteve presente em seis casos.

A partir dos resultados da IHQ, o histiocitoma que era o nono tumor mais frequente desse estudo, passou a ser o décimo primeiro. Dessa forma, os dez tipos tumorais mais prevalentes ficaram assim: mastocitoma (16,73%; 315/1882), melanoma (9,03%; 170/1882), lipoma (7,49%; 141/1882), adenoma sebáceo (6,53%; 123/1882), carcinoma de células escamosas (6,42%; 121/1882), adenoma hepatóide (5,89%; 111/1882),

hemangiossarcoma (4,94%; 93/1882),
hemangioma (3,77%; 71/1882),
tricoblastoma (2,39%; 45/1882) e
fibrossarcoma (2,12%; 40/1882).

4.3.8 Localização anatômica dos mastocitomas classificados na imuno-histoquímica

Em algumas fichas clínicas a localização anatômica estava especificada de maneira detalhada. Sem considerar o grau histológico e o padrão de expressão do CD117 dos mastocitomas, pode-se observar que na cabeça, os mastocitomas estavam localizados principalmente na orelha e no lábio, mas também no focinho. No tórax, a axila e o esterno foram os sítios anatômicos especificados nos laudos. No abdômen, a denominação flanco estava presente em alguns protocolos. Quando se referiam ao membro sem considerar se torácico ou pélvico, o dígito foi o sítio anatômico presente. Em relação ao membro posterior, a coxa e algumas vezes, a tíbia e o joelho foram as denominações encontradas nas fichas clínicas. Além disso, os mastocitomas também estavam presentes no membro torácico, perineo, cauda, e escroto.

A maioria dos animais com mastocitoma multicêntrico tinha nódulos tumorais em dois sítios anatômicos diferentes (7M, 19M, 46M, 55M, 56M, 61M, 64M, 93M, 96M, 104M, 123M, 137M e 142M). Somente no cão 107M foi observado tumores em três localizações diferentes: no escroto, no tórax e no membro pélvico. Interessantemente, o animal 106M com mastocitoma grau I e KIT I tinha nódulos na orelha, tórax, dorso e membro posterior. Os dados referentes a esses animais podem ser vistos nos apêndices 1, 2, 3 ou 4.

4.3.9 Localização anatômica das neoplasias classificadas na imuno-histoquímica como linfoma, plasmocitoma, tumor venéreo transmissível, histiocitoma cutâneo e sarcoma histiocítico localizado

Nos animais com linfoma, a cabeça foi o sítio anatômico mais presente, sendo que a orelha, lábio, face e pálpebra foram as denominações encontradas nas fichas clínicas. A forma multicêntrica foi observada em 3 casos, sendo que no cão 19M o tumor estava localizado no tórax e no membro posterior e, no animal 20L, tórax, dorso e membro torácico (úmero e escápula) foram os sítios anatômicos encontrados.

Os plasmocitomas que tiveram sua localização informada estavam localizados na orelha (cabeça), abdômen, dígito, região interdigital e no membro torácico (metacarpo).

O dorso, membro posterior (dígito e tarso) e prepúcio foram locais em que o TVT estava presente. Um cão (1T) apresentou um TVT multicêntrico, localizado no pescoço, membro posterior e esterno (tórax).

Nos animais com histiocitoma cutâneo, a cabeça (orelha e lábio) foi o sítio mais frequente. Quando se referiam ao membro sem considerar se torácico ou pélvico, o dígito foi o sítio anatômico presente. No membro torácico, esses tumores foram encontrados no rádio e no coxim e no membro pélvico, o dígito foi especificado em um dos protocolos. Esse tumor também estava presente no pescoço, tórax, escroto, dorso e abdômen (flanco). Somente um animal (7M) com histiocitoma cutâneo tinha a forma multicêntrica, encontrada na orelha (cabeça) e no abdômen.

Os sarcoma histiocíticos localizados foram encontrados no membro torácico, cabeça (lábio e orelha) e abdômen. O cão 31H tinha a forma multicêntrica, localizada no dorso e membro torácico.

Os dados referentes a todos esses animais podem ser vistos nos apêndices 1, 2, 3 ou 4.

4.3.10 Tipos histológicos e animais jovens

Os tipos histológicos encontrados nos animais jovens, antes e após o uso da imuno-histoquímica (tumores de células redondas) estão detalhados na tabela 12.

Tabela 12 - Distribuição dos animais jovens antes e após o uso da imuno-histoquímica, idade média e suas respectivas porcentagens.

Tumores	Diagnóstico prévio (%)	Após IHQ (%)	Idade média (meses) ^a
Mastocitoma (MAST)	14(28,00)	9(19,57)	10
Histiocitoma cutâneo (HC)	11(22,00)	11(23,91)	7,9
Papiloma (PAP)	6(12,00)	6(13,04)	9,6
Hemangiossarcoma (HEMS)	4(8,00)	4(8,70)	10
Hemangioma (HEM)	2(4,00)	2(4,35)	12
Linfoma cutâneo (LC)	2(4,00)	4(8,70)	12
Tumores epiteliais não-classificados	2(4,00)	2(4,35)	10,5
Acantoma infundibular queratinizante (AIQ)	1(2,00)	1(2,17)	12
Carcinoma basocelular (CBC)	1(2,00)	1(2,17)	12
Carcinoma hepatóide (CHEP)	1(2,00)	1(2,17)	12
Carcinoma de células escamosas (CCE)	1(2,00)	1(2,17)	8
Hemangiopericitoma (HPT)	1(2,00)	1(2,17)	12
Neoplasia de células redondas (NCR)	1(2,00)	---	---
Pilomatricoma (PM)	1(2,00)	1(2,17)	6
Tricoblastoma (TB)	1(2,00)	1(2,17)	12
Tricoepitelioma (TE)	1(2,00)	1(2,17)	12
Total	50(100,00)	46(100,00)^b	

a Considerando os diagnósticos após o uso da imuno-histoquímica b Quatro casos diagnosticados como mastocitoma se tratavam de dermatite crônica

4.4 Acompanhamento clínico dos animais durante o período de 2009 a 2010

Trinta e dois cães atendidos no hospital veterinário da UFMG, no período de 2009 a 2010 foram acompanhados clinicamente. As informações referentes a esses animais estão presentes na tabela 18.

Vinte e seis animais foram diagnosticados com mastocitomas, cinco tinham linfoma e um apresentou histiocitoma. Dois dos animais com linfoma tinham sido diagnosticados na histologia com mastocitoma com diferenciação intermediária ou pobremente diferenciado (grau II ou III). Um animal tinha diagnóstico prévio de neoplasia de células redondas.

Cerca de 65% (17/26) dos animais com mastocitoma foram submetidos à quimioterapia e diferentes protocolos foram utilizados dependendo do estadiamento clínico, grau de diferenciação do tumor e a margem cirúrgica.

A análise estatística do tempo de sobrevida desses animais não foi realizada devido aos diferentes protocolos utilizados e o pequeno número de animais tratados com o mesmo protocolo. Apesar disso, foi calculada a média de sobrevida dos animais sem recidiva e o tempo médio para o aparecimento de recidiva. O período médio livre de recidiva foi de 325 dias, independente do grau histológico, padrão KIT ou tratamento. A média de tempo para aparecimento de recidiva foi de 88 dias.

Os cães 104M, 123M, 142M apresentavam tumores multicêntricos. O animal 104M com um mastocitoma grau I/KIT II permanece livre da doença há 475 dias. O cão 123M

com um mastocitoma grau II/KIT II teve recidiva após 113 dias da cirurgia e não temos informações se ainda está vivo. O cão 142M com mastocitoma grau III/KIT II apresentou recidiva e metástase para linfonodos 77 dias, após a cirurgia e o proprietário optou pela eutanásia.

O animal 125M com mastocitoma grau III/KIT III também teve recidiva após 75 dias e foi eutanasiado. Esse animal já apresentava metástase para linfonodos regionais quando da primeira cirurgia. O animal 116M com mastocitoma metastático grau II/KIT I morreu 30 dias após a cirurgia.

Os animais com linfoma T (9CR, 111M, 134M, 22L) foram tratados somente com exérese cirúrgica e o tempo médio de sobrevida livre da doença foi de 225 dias. O animal 20L diagnosticado com linfoma T epiteliotrópico tinha massas tumorais grandes espalhadas pelo corpo e foi submetido à eutanásia.

Tabela 13 - Incidência dos tumores cutâneos epiteliais, melanocíticos e hematopoéticos no período de 1996 a 2010.

Tipo tumores	Total	% Total (n=1907)	% Epiteliais
<i>Tumores epiteliais</i>			
<i>Tumores epiteliais sem diferenciação anexa</i>			
Tumor de células basais (TCB)	10	0,52	1,23
Carcinoma basocelular (CBC)	25	1,31	3,07
<i>Tumores da epiderme</i>			
Papiloma (PAP)	38	1,99	4,66
Papiloma invertido (PAPI)	1	0,05	0,12
Carcinoma de células escamosas (CCE)	121	6,35	14,85
Carcinoma basoescomoso (CBE)	4	0,21	0,49
<i>Tumores epiteliais com diferenciação anexa</i>			
Acantoma infundibular queratinizante (AIQ)	11	0,58	1,35
Tricolemoma (TL)	1	0,05	0,12
Tricoblastoma (TB)	45	2,36	5,52
Tricoepitelioma (TE)	38	1,99	4,66
Tricoepitelioma maligno (TEM)	14	0,73	1,72
Pilomatricoma (PM)	27	1,42	3,31
<i>Tumores das glândulas sebáceas e das glândulas sebáceas modificadas</i>			
Adenoma sebáceo (ASEB)	123	6,45	15,09
Epitelioma sebáceo (ESEB)	30	1,57	3,68
Carcinoma sebáceo (CSEB)	28	1,47	3,44
Adenoma de glândula társica (AGTAR)	9	0,47	1,10
Epitelioma de glândula társica (EGTAR)	6	0,31	0,74
Carcinoma de glândula társica (CGTAR)	2	0,10	0,25
Adenoma hepatóide (AHEP)	111	5,82	13,62
Epitelioma hepatóide (EHEP)	5	0,26	0,61
Carcinoma hepatóide (CHEP)	36	1,89	4,42
<i>Tumores das glândulas apócrinas e das glândulas apócrinas modificadas</i>			
Adenoma apócrino (AAPOC)	20	1,05	2,45
Carcinoma apócrino (CAPOC)	19	1,00	2,33
Adenoma ceruminoso (ACER)	5	0,26	0,61
Carcinoma ceruminoso (CCER)	11	0,58	1,35
Adenoma écrino (AEC)	1	0,05	0,12
<i>Tumores epiteliais não classificados</i>			
Adenoma (ADEN)	11	0,58	1,35
Adenocarcinoma (ADENC)	32	1,68	3,93
Carcinoma indiferenciado (CI)	30	1,57	3,68
Neoplasia epitelial não determinada (NEND)	1	0,05	0,12
Total	815	42,74	100,00
<i>Tumores melanocíticos</i>			
Melanocitoma (MELC)	28	1,47	16,47
Melanoma (MEL)	142	7,45	83,53
Total	170	8,91	100,00
<i>Tumores hematopoéticos</i>			
Linfoma cutâneo (LC)	22	1,15	73,33
Linfoma cutâneo epiteliotrópico (LCE)	1	0,05	3,33
Linfoma cutâneo não epiteliotrópico (LCNE)	2	0,10	6,67
Plasmocitoma (PLASM)	5	0,26	16,67
Total	30	1,57	100,00

Tabela 14 - Incidência dos tumores cutâneos mesenquimais no período de 1996 a 2010.

Tipo tumores	Total	% Total (n=1907)	% Mesenquimais
<i>Tumores mesenquimais</i>			
Fibroma (FIB)	15	0,79	1,73
Fibrossarcoma (FIBS)	40	2,10	4,60
Leiomioma (LEIO)	3	0,16	0,35
Fibroleiomioma (FLEIO)	1	0,05	0,12
Histiocitoma fibroso maligno (HFM)	7	0,37	0,81
Mixoma (MIX)	2	0,10	0,23
Mixossarcoma (MIXS)	3	0,16	0,35
Hemangiopericitoma (HPT)	21	1,10	2,42
Hemangiopericitoma maligno (HPTM)	1	0,05	0,12
Tumor benigno de nervo periférico (TBNP)	7	0,37	0,81
Tumor maligno de nervo periférico (TMNP)	13	0,68	1,50
Lipoma (LIP)	141	7,40	16,23
Fibrolipoma (FLIP)	1	0,05	0,12
Lipossarcoma (LIPOS)	9	0,47	1,04
Hemangioma (HEM)	71	3,73	8,17
Hemangiossarcoma (HEMS)	93	4,88	10,70
Condroma extra-esquelético (CONEE)	1	0,05	0,12
Mastocitoma (MAST)	76	3,99	8,75
Mastocitoma grau I (MASTI)	82	4,30	9,44
Mastocitoma grau II (MASTII)	102	5,35	11,74
Mastocitoma grau III (MASTIII)	91	4,77	10,47
Histiocitoma cutâneo (HC)	45	2,36	5,18
Histiocitoma maligno (HM)	4	0,21	0,46
Histiocitose cutânea maligna (HCM)	3	0,16	0,35
Xantoma (XAN)	1	0,05	0,12
Tumor Venéreo Transmissível (TVT)	7	0,37	0,81
<i>Tumores mesenquimais não classificados</i>			
Sarcoma indiferenciado (SI)	17	0,89	1,96
Neoplasia mesenquimal não determinada (NMND)	3	0,16	0,35
Neoplasia de células redondas (NCR)	9	0,47	1,04
Total	869	45,59	100,00

Tabela 15 - Distribuição dos tumores cutâneos epiteliais, dos tumores melanocíticos e das neoplasias não determinadas quanto à localização anatômica e suas respectivas porcentagens, no período de 1996 a 2010.

	Localização Anatômica ^a														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Escl	Mul	Ni	
<i>Tumores epiteliais sem diferenciação anexa</i>															
TCB	9 (2,59)					1 (1,61)									10 (0,52)
CBC	10 (2,88)	3 (5,36)	1 (0,60)	2 (1,67)	2 (1,96)	1 (1,61)	1 (0,70)	1 (0,68)				1 (1,59)		3 (1,14)	25 (1,31)
<i>Tumores da epiderme</i>															
PAP	13 (3,75)	1 (1,79)	4 (2,40)		1 (0,98)	2 (3,23)	5 (3,52)	4 (2,72)					4 (2,47)	4 (1,52)	38 (1,99)
PAPI									1 (0,51)						1 (0,05)
CCE	19 (5,48)	5 (8,93)	7 (4,19)	13 (10,83)	9 (8,82)	10 (16,13)	11 (7,75)	6 (4,08)	3 (1,54)	6 (12,00)	2 (6,67)	2 (3,17)	5 (3,09)	23 (8,71)	121 (6,35)
CBE			1 (0,60)	1 (0,83)			1 (0,70)							1 (0,38)	4 (0,21)
<i>Tumores epiteliais com diferenciação anexa</i>															
AIQ		2 (3,57)				1 (1,61)	1 (0,70)						2 (1,23)	5 (1,89)	11 (0,58)
TL										1 (2,00)					1 (0,05)
TB	16 (4,61)	1 (1,79)	3 (1,80)		5 (4,90)	1 (1,61)	5 (3,52)	1 (0,68)	2 (1,03)				3 (1,85)	8 (3,03)	45 (2,36)
TE	5 (1,44)	3 (5,36)	1 (0,60)		8 (7,84)	1 (1,61)	4 (2,82)	1 (0,68)			2 (6,67)		6 (3,70)	7 (2,65)	38 (1,99)
TEM			1 (0,60)	2 (1,67)	2 (1,96)			2 (1,36)	1 (0,51)				2 (1,23)	4 (1,52)	14 (0,73)
PM	3 (0,86)	2 (3,57)	1 (0,60)	1 (0,83)	8 (7,84)		2 (1,41)						3 (1,85)	7 (2,65)	27 (1,42)

	<i>Localização Anatômica</i>														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Escr	Mul	Ni	
<i>Tumores das glândulas sebáceas e das glândulas sebáceas modificadas</i>															
ASEB	27 (7,78)	5 (8,93)	2 (1,20)	4 (3,33)	7 (6,86)	1 (1,61)	4 (2,82)	13 (8,84)	4 (2,05)	3 (6,00)	3 (10,00)		20 (12,35)	30 (11,36)	123 (6,45)
ESEB	13 (3,75)			2 (1,67)	2 (1,96)		1 (0,70)	4 (2,72)					2 (1,23)	6 (2,27)	30 (1,57)
CSEB	12 (3,46)			2 (1,67)	2 (1,96)	1 (1,61)		3 (2,04)	1 (0,51)	1 (2,00)			2 (1,23)	4 (1,52)	28 (1,47)
AGTAR	9 (2,59)														9 (0,47)
EGTAR	6 (1,73)														6 (0,31)
CGTAR	2 (0,58)														2 (0,10)
AHEP									86 (44,10)	6 (12,00)	12 (40,00)		3 (1,85)	4 (1,52)	111 (5,82)
EHEP									5 (2,56)						5 (0,26)
CHEP									28 (14,36)	4 (8,00)	1 (3,33)		2 (1,23)	1 (0,38)	36 (1,89)
<i>Tumores das glândulas apócrinas e das glândulas apócrinas modificadas</i>															
AAPOC	5 (1,44)	2 (3,57)	1 (0,60)	1 (0,83)	2 (1,96)	1 (1,61)	2 (1,41)	1 (0,68)	2 (1,03)				1 (0,62)	2 (0,76)	20 (1,05)
CAPOC	3 (0,86)	1 (1,79)	3 (1,80)	2 (1,67)	2 (1,96)		1 (0,70)		2 (1,03)	1 (2,00)			2 (1,23)	2 (0,76)	19 (1,00)
ACER	5 (1,44)														5 (0,26)
CCER	10 (2,88)													1 (0,38)	11 (0,58)
AEC								1 (0,68)							1 (0,05)

	Localização Anatômica ^a														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Escr	Mul	Ni	
Tumores epiteliais não classificados															
ADEN	6 (1,73)	1 (1,79)							1 (0,51)	1(2,00)			1 (0,62)	1 (0,38)	11 (0,58)
ADENC	13 (3,75)	2 (3,57)	2 (1,20)	1 (0,83)			3 (2,11)		6 (3,08)				3(1,85)	2 (0,76)	32 (1,68)
CI	9 (2,59)	2 (3,57)	2 (1,20)		4 (3,92)	1 (1,61)	1 (0,70)	3 (2,04)	4 (2,05)	1 (2,00)			1 (0,62)	2 (0,76)	30 (1,57)
NEND						1 (0,61)									1 (0,05)
Total	195 (56,20)	30 (53,57)	29 (17,37)	31 (25,83)	54 (52,94)	22 (35,48)	42 (29,58)	40 (27,21)	146 (74,87)	24 (48,00)	20 (66,67)	3 (4,76)	62 (38,27)	117 (44,32)	815 (42,74)
Tumores melanocíticos															
MELC	10 (2,88)		1 (0,60)		3 (2,94)		2 (1,41)	1 (0,68)	1 (0,51)			2 (3,17)	4 (2,47)	4 (1,52)	28 (1,47)
MEL	48 (13,83)	1 (1,79)	8 (4,79)	5 (4,17)	8 (7,84)	8 (12,90)	19 (13,38)	9 (6,12)	1 (0,51)	2 (4,00)		5 (7,94)	7 (4,32)	21 (7,95)	142 (7,45)
Total	58 (16,71)	1 (1,79)	9 (5,39)	5 (4,17)	11 (10,78)	8 (12,90)	21 (14,79)	10 (6,80)	2 (1,03)	2 (4,00)		7 (11,11)	11 (6,79)	25 (9,47)	170 (8,91)
NND	6(1,73)	1(1,79)	2(1,20)	2(1,67)	2(1,96)		1(0,70)	2(1,36)	2(1,03)				3(1,85)	2(0,76)	23 (1,21)
Total	6 (1,73)	1 (1,79)	2 (1,20)	2 (1,67)	2 (1,96)		1 (0,70)	2 (1,36)	2 (1,03)				3 (1,85)	2 (0,76)	23 (1,21)

a As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, períneo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado

TCB: Tumor de células basais CBC: Carcinoma basocelular PAP: Papiloma PAPI: Papiloma invertido CCE: Carcinoma de células escamosas CBE: Carcinoma basoescomoso AIQ: Acantoma infundibular queratinizante TL: Tricolemoma TB: Tricoblastoma TE: Tricoepitelioma TEM: Tricoepitelioma maligno PM: Pilomatricoma ASEB: Adenoma sebáceo ESEB: Epitelioma sebáceo CSEB: Carcinoma sebáceo AGTAR: Adenoma de glândula társica EGTAR: Epitelioma de glândula társica CGTAR: Carcinoma de glândula társica AHEP: Adenoma hepatóide EHEP: Epitelioma hepatóide CHEP: Carcinoma hepatóide AAPOC: Adenoma apócrino CAPOC: Carcinoma apócrino ACER: Adenoma ceruminoso CCER: Carcinoma ceruminoso AEC: Adenoma écrino ADEN: Adenoma ADENC: Adenocarcinoma CI: Carcinoma indiferenciado NEND: Neoplasia epitelial não determinada MELC: Melanocitoma MEL: Melanoma NND: Neoplasia não determinada

Tabela 16 - Distribuição dos tumores cutâneos mesenquimais e dos tumores hematopoéticos (sem o uso da imuno-histoquímica) quanto à localização anatômica e suas respectivas porcentagens, no período de 1996 a 2010.

	Localização Anatômica ^a														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Escr	Mul	Ni	
<i>Tumores mesenquimais</i>															
FIB	1 (0,29)		1 (0,60)	1 (0,83)		2 (3,23)	4 (2,82)	4 (2,72)					1 (0,62)	1 (0,38)	15 (0,79)
FIBS	3 (0,86)	2 (3,57)	3 (1,80)	2 (1,67)	1 (0,98)	2 (3,23)	7 (4,93)	4 (2,72)	8 (4,10)		1 (3,33)			7 (2,65)	40 (2,10)
LEIO					1 (0,98)		1 (0,70)		1 (0,51)						3 (0,16)
FLEIO									1 (0,51)						1 (0,05)
HFM	2 (0,52)		1 (0,60)				1 (0,70)	1 (0,68)						2 (0,76)	7 (0,37)
MIX			1(0,60)					1 (0,68)							2 (0,10)
MIXS	1 (0,29)			1 (0,83)		1 (1,61)									3 (0,16)
HPT			3 (1,80)	1 (0,83)		2 (3,23)	4 (2,82)	9 (6,12)	1 (0,51)					1 (0,38)	21 (1,10)
HPTM									1 (0,51)						1 (0,05)
TBNP			2 (1,20)	1 (4,17)	2 (1,96)	1 (1,61)		1 (0,68)							7 (0,37)
TMNP			1 (0,60)		1 (0,98)		5 (3,52)	3 (2,04)	2 (1,03)					1 (0,38)	13 (0,68)
LIP	3 (0,86)	7 (12,50)	45 (26,95)	17 (14,17)	4 (3,92)		10 (7,04)	11 (7,48)	10 (5,13)	2 (4,00)	1 (3,33)		12 (7,41)	19 (7,20)	141 (7,40)
FLIP									1 (0,51)						1 (0,05)

	Localização Anatômica ^a														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Esqr	Mul	Ni	
LIPOS	1 (0,29)		1 (0,60)	2 (1,67)	2 (1,96)									3 (1,14)	9 (0,47)
HEM	5 (1,44)	4 (7,14)	9 (5,39)	4 (3,33)	4 (3,92)	1 (1,61)	5 (3,52)	7 (4,76)	2 (1,03)	1 (2,00)	3 (10,00)	7 (11,11)	7 (4,32)	12 (4,55)	71 (3,73)
HEMS	5 (1,44)	1 (1,79)	9 (5,39)	17 (14,17)	3 (2,94)	3 (4,84)	1 (0,70)	5 (3,40)	5 (2,56)	9 (18,00)		11 (17,46)	12 (7,41)	12 (4,55)	93 (4,88)
CONEE	1 (0,29)														1 (0,05)
MAST	6 (1,73)	2 (3,57)	5 (2,99)	4 (3,33)	2 (1,96)	2 (3,23)	7 (4,93)	11 (7,48)	5 (2,56)	1 (2,00)	1 (3,33)	6 (9,52)	12 (7,41)	12 (4,55)	76 (3,99)
MASTI	7 (2,02)	2 (3,57)	9 (5,39)	7 (5,83)	2 (1,96)	4 (6,45)	5 (3,52)	9 (6,12)	4 (2,05)		4 (13,33)	7 (11,11)	10 (6,17)	12 (4,55)	82 (4,30)
MASTII	14 (4,03)	1 (1,79)	13 (7,78)	12 (10,00)	3 (2,94)	3 (4,84)	6 (4,23)	9 (6,12)	2 (1,03)	4 (8,00)		11 (17,19)	15 (9,26)	9 (3,42)	102 (5,35)
MASTIII	12 (3,46)	2 (3,57)	9 (5,39)	5 (4,17)	3 (2,94)	6 (9,68)	11 (7,75)	10 (6,80)		1 (2,00)		8 (12,70)	7 (4,32)	17 (6,44)	91 (4,77)
HC	11 (3,17)	1 (1,79)	5 (2,99)	4 (3,33)	4 (3,92)	5 (8,06)	3 (2,11)	2 (1,36)		1 (2,00)		3 (4,76)	1 (0,62)	5 (1,89)	45 (2,36)
HM			1 (0,60)										2 (1,23)	1 (0,38)	4 (0,21)
HCM			1 (0,60)	1 (0,83)				1 (0,68)							3 (0,16)
XAN	1 (0,29)														1 (0,05)
TVT							1 (0,70)		1 (0,51)	4 (8,00)			1 (0,62)		7 (0,37)

	<i>Localização Anatômica</i>														Total
	Cab	Pes	Tór	Abd	Dor	Mem	Mt	Mp	Per	Pre	Cau	Escr	Mul	Ni	
<i>Tumores mesenquimais não classificados</i>															
SI	1 (0,29)		7 (4,19)	2 (1,67)	2 (1,96)		1 (0,70)	2 (1,36)	1 (0,51)				1 (0,62)		17 (0,89)
NMND							1 (0,70)						1 (0,62)	1 (0,38)	3 (0,16)
NCR	5 (1,44)			1 (0,83)	1 (0,98)		1 (0,70)						1 (0,62)		9 (0,47)
Total	79 (22,77)	22 (39,29)	126 (75,45)	82 (68,33)	35 (34,31)	32 (51,61)	74 (52,11)	90 (61,22)	45 (23,08)	23 (46,94)	10 (33,33)	52 (82,54)	83 (51,23)	116 (43,94)	869 (45,59)
<i>Tumores hematopoéticos</i>															
LC	7 (2,02)	1 (1,79)	1 (0,60)				3 (2,11)	3 (2,04)				1 (1,59)	2 (1,23)	4 (1,52)	22 (1,15)
LCE	1 (0,29)														1 (0,05)
LCNE								1 (0,68)					1 (0,62)		2 (0,10)
PLASM	2 (0,57)	1 (1,79)					1 (0,70)	1 (0,68)							5 (0,26)
Total	10 (2,87)	2 (3,57)	1 (0,60)				4 (2,82)	5 (3,40)				1 (1,59)	3 (1,85)	4 (1,52)	30 (1,57)

a As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, perâneo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado

FIB: Fibroma FIBS: Fibrossarcoma LEIO: Leiomioma FLEIO: Fibroleiomioma HFM: Histiocitoma fibroso maligno MIX: Mixoma MIXS: Mixossarcoma HPT: Hemangiopericitoma HPTM: Hemangiopericitoma maligno TBNP: Tumor benigno de nervo periférico TMNP: Tumor maligno de nervo periférico LIP: Lipoma FLIP: Fibrolipoma LIPOS: Lipossarcoma HEM: Hemangioma HEMS: Hemangiossarcoma CONEE: Condroma extra-esquelético MAST: Mastocitoma MASTI: Mastocitoma grau I MASTII: Mastocitoma grau II MASTIII: Mastocitoma grau III HC: Histiocitoma cutâneo HM: Histiocitoma maligno HCM: Histiocitose cutânea maligna XAN: Xantoma TVT: Tumor venéreo transmissível SI: Sarcoma indiferenciado NMND: Neoplasia mesenquimal não determinada NCR: Neoplasia de células redondas LC: Linfoma cutâneo LCE: Linfoma cutâneo epiteliotrópico LCNE: Linfoma cutâneo não-epiteliotrópico PLASM: Plasmocitoma

Tabela 17 - Distribuição dos mastocitomas (sem metástase) submetidos à imuno-histoquímica em relação ao sítio anatômico, grau histológico e padrão de marcação do CD117 e suas respectivas porcentagens:

Localização anatômica ^a	Grau I				Grau II				Grau III			
	KIT I	KIT II	KIT III	Total	KIT I	KIT II	KIT III	Total	KIT I	KIT II	KIT III	Total
Cab	2(5,88)			2(5,88)						1(5,88)		1(5,88)
Pes												
Tór	3(8,82)	1(2,94)		4(11,76)	4(14,81)	1(3,70)		5(18,51)		1(5,88)	1(5,88)	2(11,76)
Abd	4(11,76)			4(11,76)			1(3,70)	1(3,70)			2(11,76)	2(11,76)
Dor						1(3,70)		1(3,70)				
Mem					1(3,70)		2(7,41)	3(11,11)				
Mt	2(5,88)			2(5,88)		1(3,70)		1(3,70)			2(11,76)	2(11,76)
Mp	2(5,88)	4(11,76)		6(17,65)	4(14,81)			4(14,81)	1(5,88)	1(5,88)	1(5,88)	3(17,64)
Per	1(2,94)	1(2,94)		2(5,88)	1(3,70)			1(3,70)				
Pre												
Cau	1(2,94)			1(2,94)								
Escr	1(2,94)			1(2,94)	3(11,11)			3(11,11)		2(11,76)	1(5,88)	3(17,64)
Mul	6(17,65)	3(8,82)		9(26,47)	2(7,41)	3(11,11)		5(18,51)	1(5,88)	1(5,88)		2(11,76)
Ni	2(5,88)	1(2,94)		3(8,82)	1(3,70)	1(3,70)	1(3,70)	3(11,11)		1(5,88)	1(5,88)	2(11,76)
Total	24(70,59)	10(29,41)		34(100,00)	16(59,26)	7(25,93)	4(14,81)	29(100,00)	2(11,76)	7(41,18)	8(47,06)	17(100,00)

a As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, perineo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado

Tabela 18 - Dados clínicos, patológicos e imuno-histoquímicos de animais atendidos no hospital veterinário da UFMG no período de 2009-2010.

Cão	Local ^a	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final	Tratamento	Acompanhamento clínico
100M	Tórax	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Clorambucil e prednisona	570 [*] DLD
101M	Mp	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Clorambucil e prednisona	510 ^{**} DLD
104M	Mul = Orelha (Cab) e Tór	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/Prednisona	475 ^{**} DLD Obs: Há cerca de 5 anos teve MASTI, próximo a vulva
108M	Cau	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Hiposmolaridade, Clorambucil e prednisona	420 ^{**} DLD
109M	Per	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/Hiposmolaridade e prednisona	390 ^{**} DLD
110M	Ni	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia	510 ^{***} DLD
114M	Mt	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia /Lomustina e prednisona	480 ^{***} DLD
115M	Abd	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Hiposmolaridade e prednisona	330 ^{**} DLD
116M	Abd	MASTIII MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	Morte, 30 dias após cirurgia
117M	Mp	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Clorambucil e prednisona	317 ^{**} DLD
119M	Úmero (Mt)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	305 ^{**} DLD
120M	Ni	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Clorambucil e prednisona	390 ^{***} DLD
122M	Tór	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Prednisona	365 ^{***} DLD

Cão	Local^a	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final	Tratamento	Acompanhamento clínico
123M	Mul = Mp e escápula (Mt)	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Clorambucil e prednisona	Recidiva, após 113 dias da cirurgia (sem informação se ainda vivo)
124M	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia	240 DLD
125M	Cab	MASTII MetLCS	NR	Pele: KIT III Linf: KIT III	NR	NR	MAST	Cirurgia/Lomustina	Recidiva, após 75 dias da cirurgia Eutanásia
126M	Flanco (Abd)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Prednisona	270 DLD
127M	Mp	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	180**** DLD
128M	Esc	MASTI MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/ Clorambucil e prednisona	165** DLD
131M	Tór	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Hiposmolaridade	156** DLD
132M	Cab	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	Sem informação Obs: Há 2 anos teve MASTII, na região escrotal (quimioterapia)
138M	Mt	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	90** DLD Obs: Há 2 e 3 anos teve MAST (quimioterapia)
139M	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia	Sem informação
140M	Flanco (Abd)	MASTII MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	MAST	Cirurgia/Prednisona e lomustina	180*** DLD
141M	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia	150*** DLD

Cão	Local ^a	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final	Tratamento	Acompanhamento clínico
142M	Mul = Esc e Coxa (Mp)	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	MAST	Cirurgia/Lomustina	Recidiva e metástase para linfonodo, 77 dias após cirurgia Eutanásia
9CR	Cab	NCR	POS	NEG	POS	NEG	LTE	Cirurgia	330 ^{***} DLD
111M	Cab	MASTIII	POS	NEG	POS	Marcação multifocal (inflamatório)	LTNE	Cirurgia	510 ^{***} DLD
20L	Mul = Úmero e escápula (Mt), Dor e Tór	LC	POS	NR	POS	NEG	LTE	Não	Eutanásia
134M	Abd	MASTII	POS	NEG	POS	Marcação multifocal (plasmócitos)	LTE	Cirurgia	30 ^{****} DLD
22L	Face (Cab)	LC	POS	NR	POS	NEG	LTE	Cirurgia	30 ^{**} DLD
38H	Flanco (Abd)	HC	POS	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	HC	Cirurgia	150 ^{***} DLD

*Último contato com o proprietário em setembro de 2010 **Último contato com o proprietário em agosto de 2010 ***Último contato com o proprietário em dezembro de 2010 ****Último contato com o proprietário em maio de 2010

MAST: Mastocitoma MASTI: Mastocitoma grau I MAST II: Mastocitoma grau II MAST III: Mastocitoma grau III MetLI: Metástase para linfonodo inguinal MetLCS: Metástase para linfonodo cervical superficial Linf: Linfonodo NCR: Neoplasia de células redondas LC: Linfoma cutâneo HC: Histiocitoma cutâneo LTE: Linfoma T epiteliotrópico LTNE: Linfoma T não-epiteliotrópico NEG: negativo POS: Positivo NR: não realizado DLD: Dias livre de doença

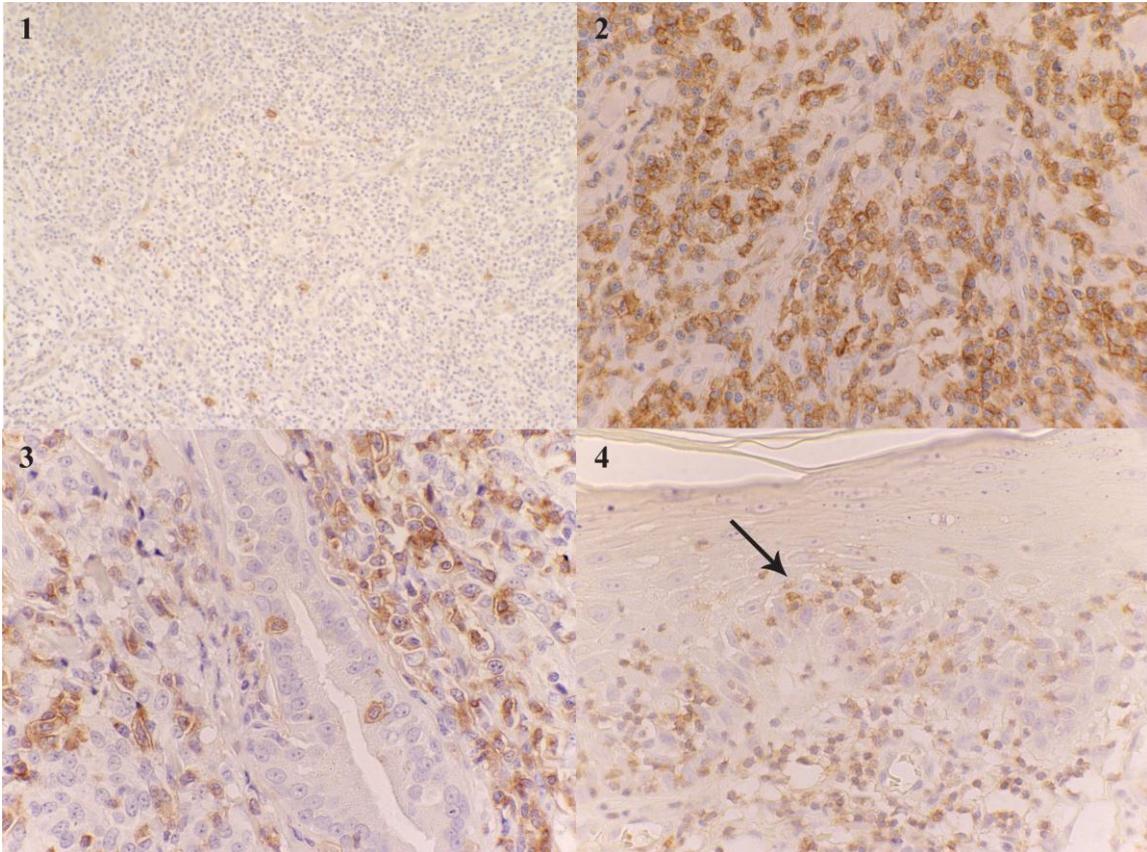


Figura 1. Pele. Cão 134M. Mastócitos residentes infiltrados no tumor marcados pelo CD117. Linfoma T epiteliotrópico. 20X. IHQ.

Figura 2. Pele. Cão 9CR. Observa-se marcação positiva intensa para CD3. Linfoma T epiteliotrópico. 60X. IHQ.

Figura 3. Pele. Cão 22L. Linfócitos CD3+ com invasão do epitélio da glândula apócrina (epiteliotropismo). Linfoma T epiteliotrópico. 60X. IHQ.

Figura 4. Pele. Cão 13L. Linfócitos CD3+ infiltrados na epiderme, formando microabscessos de Pautrier (seta). Linfoma T epiteliotrópico. 20X. IHQ.

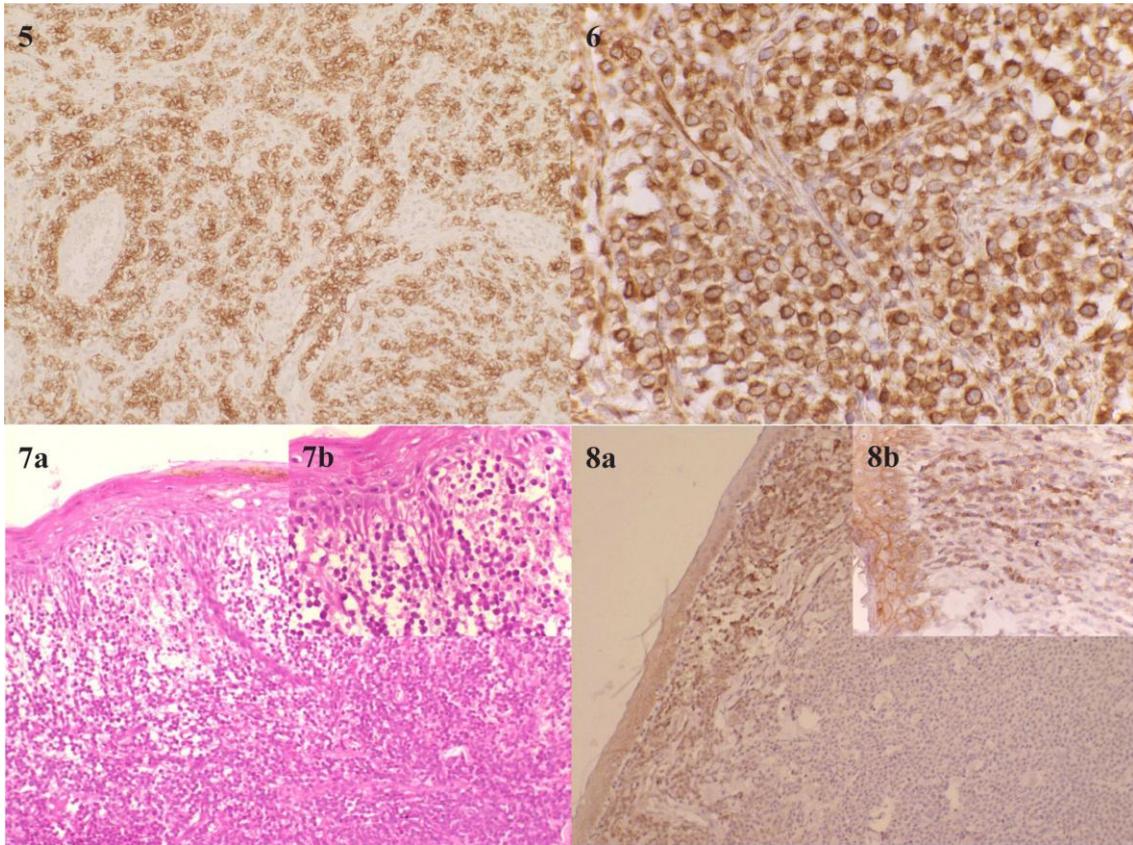


Figura 5. Pele. Cão 19M. Marcação positiva para CD3. Linfoma não-epiteliotrópico. 20X. IHQ.

Figura 6. Pele. Cão 90M. Células redondas com núcleo grande apresentando marcação positiva vimentina. Tumor Venéreo Transmissível. 60X. IHQ.

Figura 7. Pele. Cão. Histiocitoma. a) Observa-se células em cordão, perpendicularmente a epiderme e em arranjo difuso na derme profunda. 20X. HE. b) Detalhe das células em cordão, dispostas perpendicularmente a epiderme. 60X. HE.

Figura 8. Pele. Cão 41M. a) Marcação positiva para E-caderina na epiderme e nos histiócitos da derme. Na porção profunda do tumor não há marcação. 20X. IHQ. b) Detalhe da marcação positiva da E-caderina na epiderme e histiócitos na derme superficial. 60X. IHQ.

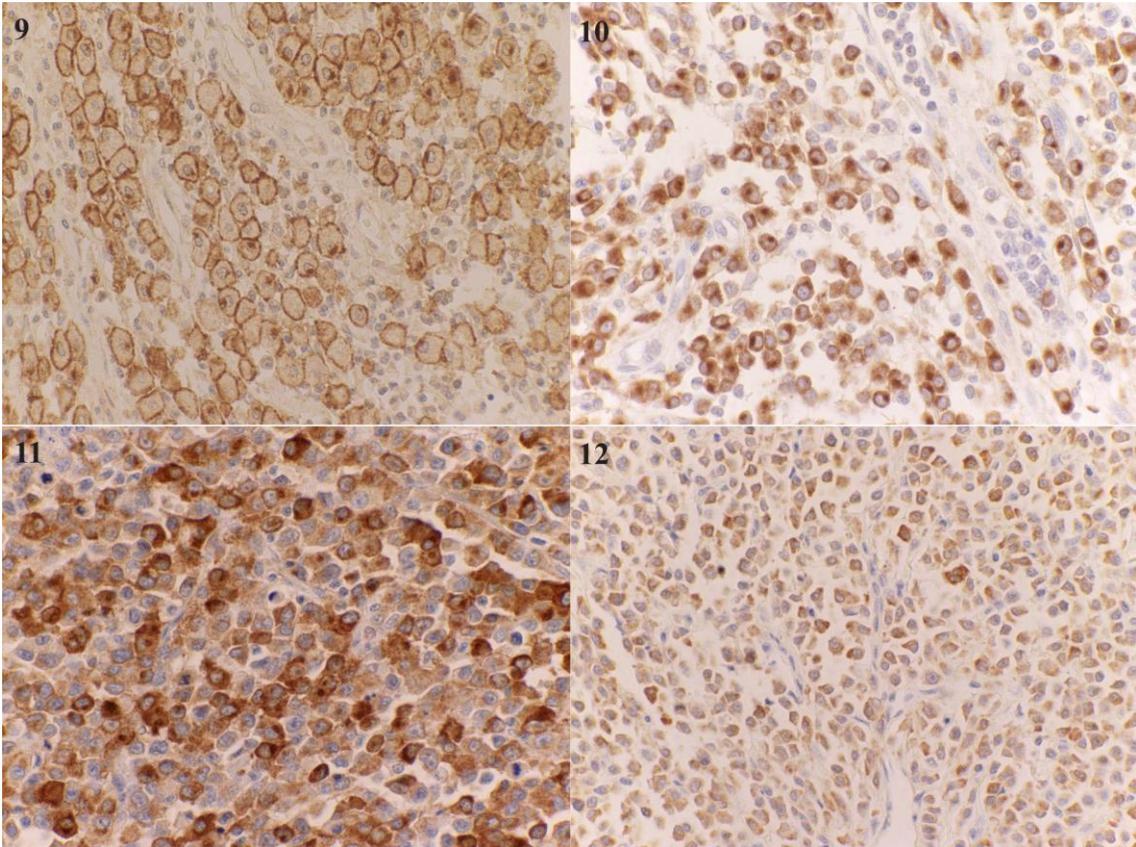


Figura 9. Pele. Cão 55M. Mastócitos neoplásicos com marcação peri-membrana intensa pelo CD117 (Padrão KIT I). Mastocitoma. 60X. IHQ.

Figura 10. Pele. Cão 142M. Mastócitos neoplásicos com marcação citoplasmática focal pelo CD117 (Padrão KIT II). Mastocitoma. 60X. IHQ.

Figura 11. Pele. Cão 12H. Mastócitos neoplásicos com marcação citoplasmática difusa pelo CD117 (Padrão KIT III). Mastocitoma. 60X. IHQ.

Figura 12. Pele. Cão 4P. Plasmócitos neoplásicos com marcação citoplasmática para CD79a. Plasmocitoma. 60X. IHQ.

5. DISCUSSÃO

A realização de estudos no que diz respeito à prevalência de determinada condição ou grupo de doenças é de extrema importância na medicina veterinária e na pesquisa científica como um todo, pois permitem que informações definitivas sejam acumuladas para uso futuro (Kaldrymidou et al., 2002). Esse trabalho descreve a ocorrência de 1907 tumores cutâneos encontrados em 1762 cães, em um período de 14 anos, entre 1996 e 2010.

Estudos sobre a prevalência das neoplasias cutâneas caninas foram realizados em várias partes do mundo. Esses levantamentos foram feitos nos Estados Unidos (Goldschmidt e Shofer, 1992), Canadá (Yager e Wilcock, 1994), Reino Unido (Bostock, 1977), Austrália (Finnie e Bostock, 1979 e Rothwell et al., 1987), Coréia do Sul (Pakhrin et al., 2007), Dinamarca (Bronden et al., 2010) e Grécia (Kaldrymidou et al., 2002) utilizando-se um total de 24.800, 4.800, 2.616, 1.000, 748, 765 e 174 tumores, respectivamente.

No Brasil, há poucos estudos que descrevem a ocorrência de tumores cutâneos em cães (Machado et al., 1963; Souza et al., 2006; Bellei et al., 2006; Meirelles et al., 2010; Teixeira et al., 2010). Os trabalhos de Souza et al (2006), Bellei et al (2006) e Meirelles et al (2010) foram feitos na região sul do país e descrevem a ocorrência de 761, 917 e 1017 tumores, respectivamente. Machado et al (1963) descreve a ocorrência de neoplasias em várias espécies animais, incluindo o cão e de vários sistemas orgânicos, inclusive a pele, com amostras oriundas de diversas regiões do país. Esse trabalho descreve a ocorrência de 74 tumores cutâneos da região de abrangência do Laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG durante o período de abril de 1934 e junho de 1963. Dessa forma, em Minas Gerais temos

poucos dados publicados sobre a frequência das neoplasias cutâneas em cães.

A maioria dos cães desse trabalho, ou seja, 52,16% eram machos. Não há nenhum dado epidemiológico disponível sobre a população canina da região de abrangência do Laboratório de Patologia Veterinária da UFMG, o que dificulta a interpretação das informações referentes ao sexo. Segundo Vail e Withrow (2007) não há diferenças na incidência, em relação ao sexo, quando os tipos tumorais são considerados em conjunto.

Em relação à faixa etária, observou-se um número maior de cães idosos (50,26%; 777/1546), quando comparados aos adultos (46,51%; 719/1546) e jovens (3,23%; 50/1546). Esses resultados estão de acordo com a literatura, que sugere que com o aumento da idade a incidência das neoplasias tende a aumentar (Vail e Withrow, 2007). Cerca de 216 (12,26%) do total de 1762 animais não tiveram sua idade informada.

As neoplasias mais frequentes nos cães com menos de um ano de idade foram o histiocitoma (23,91%;11/46), seguida do mastocitoma (19,57%;9/46) e do papiloma (13,04%;6/46). Segundo Gross et al (2006), o histiocitoma e papiloma são comumente encontrados em animais jovens. A porcentagem de animais jovens com mastocitoma encontrada no presente estudo foi relativamente alta, quase 20% e uma idade média de 10 meses. O mastocitoma é uma neoplasia maligna que ocorre comumente em cães com idade média de 9 anos, mas podem variar de 3 semanas até 19 anos de idade (Ginn et al., 2007). Segundo Miller (1995) a raça Sharpei frequentemente desenvolve mastocitomas quando jovens. De maneira interessante nenhum animal jovem com mastocitoma no presente estudo era da raça Sharpei. As raças encontradas foram Boxer, Pitbull, Pastor Alemão, Poodle,

Dogue Alemão, Yorkshire e Shitzu, além de SRD.

Os animais Sem Raça Definida (SRD) (23,95%;422/1762) foram os mais encontrados nesse estudo, seguidos dos cães da raça Poodle (13,22%;233/1762), Cocker Spaniel (8,51%;150/1762), Boxer (6,13%;108/1762) e Pastor Alemão (4,26%;75/1762). Os animais SRD corresponderam a aproximadamente 24% (422/1762) do total, sendo que 71% (1260/1762) eram animais puros. Dessa forma, no presente estudo, as raças puras foram quase três vezes mais frequentes que os animais cruzados. Segundo Vail e Withrow (2007), raças puras têm duas vezes maior chance de desenvolver neoplasias malignas do que raças cruzadas. Cerca de 5% (80/1762) dos cães não tiveram sua raça informada.

É importante ressaltar que dados clínicos no que dizem respeito à faixa etária, sexo e a raça dos animais também são informações epidemiológicas importantes que devem sempre estar presentes nas fichas e nos laudos fornecidos por hospitais e médicos veterinários.

Um dado interessante está relacionado com a quantidade de tipos tumorais de diferentes origens celulares encontrados em um mesmo animal. Cento e vinte e sete animais, do total de 1762, ou seja, 7% dos cães tiveram dois, três ou quatro tipos histológicos diferentes. Isso demonstra a importância de o cirurgião encaminhar todas as amostras para biópsia, pois o prognóstico e o tratamento podem variar, dependendo do comportamento biológico de cada tumor.

A cabeça foi o local mais acometido por tumores de pele. Isso se justifica, pelo fato de que, três dos 10 tumores mais prevalentes nessa espécie, mastocitoma, melanoma e adenoma sebáceo, tiveram a cabeça como local mais frequentes.

Aproximadamente 14% (263/1907) do total de tumores não tiveram sua localização anatômica informada. Informações detalhadas com relação à localização anatômica, morfologia e tempo de aparecimento do tumor devem sempre estar presentes nos laudos e são importantes para determinar o prognóstico e o diagnóstico de maneira mais precisa. Um exemplo disso é o caso do adenoma de glândulas társicas e o adenoma sebáceo. As duas neoplasias são histologicamente idênticas e o diagnóstico diferencial só é feito pela localização anatômica da lesão: o tumor que ocorre na margem da pálpebra é considerado como emergindo das glândulas társicas (Goldschmidt e Hendrick, 2002). Em relação ao prognóstico podemos citar o exemplo dos mastocitomas. Segundo a literatura, os tumores que ocorrem no escroto, períneo, região interdigital e períneo (Welle et al., 2008) e nas junções mucocutâneas (Gieger et al., 2003) tem pior prognóstico quando comparados a outros sítios anatômicos.

A maioria dos tumores cutâneos diagnosticados eram proliferações malignas (55,32%; 1040/1880). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Meirelles et al (2010), no sul do Brasil. Porém, resultados diferentes foram encontrados nos levantamentos realizados em outros países (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Goldschmidt e Shofer, 1992; Yager e Wilcock, 1994; Kaldrymidou et al., 2002; Pakhrin et al., 2007; Bronden et al., 2010) e em dois estudos do sul do Brasil (Bellei et al., 2006; Souza et al., 2006) que mostram que as neoplasias benignas são mais frequentes que as malignas. As diferenças observadas no presente estudo podem ser explicadas por alguns motivos: I. os tumores mesenquimais, melanocíticos e hematopoéticos malignos desse presente trabalho foram mais frequentes do que os benignos II. posicionamento conservador de alguns médicos veterinários frente ao cão idoso. Atualmente existem protocolos anestésicos

apropriados para o paciente idoso, permitindo que animais de 18 a 20 anos de idade sejam submetidos à cirurgia (Lavalle, comunicação pessoal¹⁶) III. alguns proprietários dessa região ainda ficam relutantes em fazer a exérese cirúrgica de tumores pequenos e de crescimento lento, com comportamento aparentemente benigno.

Quando os tumores foram distribuídos em grupos quanto a sua origem, as neoplasias epiteliais benignas foram mais frequentes do que as malignas, semelhante ao que foi observado em outros levantamentos (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Goldschmidt e Shofer, 1992; Meirelles et al., 2010; Yager e Wilcock, 1994; Kaldrymidou et al., 2002; Souza et al., 2006; Pakhrin et al., 2007).

Em relação às neoplasias mesenquimais, a frequência de neoplasias malignas foi superior (63,33%; 866/1880) quando comparadas às benignas. Esse resultado também foi encontrado por Kaldrymidou et al (2002), Meirelles et al (2010) e por Souza et al (2006), porém diferiu de outros levantamentos (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Goldschmidt e Shofer, 1992; Yager e Wilcock, 1994; Pakhrin et al., 2007). No presente estudo o mastocitoma foi o tumor mesenquimal mais prevalente e, em outros trabalhos a proporção de lipomas e histiocitomas, por exemplo, foi muito superior e fez com que a frequência de tumores mesenquimais benignos fosse maior.

As neoplasias melanocíticas malignas também superou as benignas no presente estudo e nos trabalhos realizados por Rothwell et al (1987), Meirelles et al (2010), Souza et al (2006) e Teixeira et al (2010). No presente estudo os melanomas foram cinco vezes mais frequentes que os

melanocitomas, enquanto que nos levantamentos realizados por Rothwell et al (1987), Souza et al (2006) e Teixeira et al (2010) essa proporção foi um pouco menor cerca de 2,0, 2,5 e 1,6 vezes, respectivamente. Interessantemente, no trabalho realizado por Meirelles et al (2010) a proporção de melanomas foi 7 vezes superior a de melanocitomas. Resultados distintos foram encontrados por Goldschmidt e Shofer (1992), Yager e Wilcock (1994) e Kaldrymidou et al (2002). Embora não se tenha conhecimento sobre quais mecanismos estejam relacionados ao surgimento dos melanomas nos animais, sabe-se que em mais de 65% dos melanomas cutâneos em humanos e na maioria dos melanomas diagnosticados em cabras angorás esteja relacionado a ocorrência de mutações geradas pela radiação ultravioleta (Smith et al., 2002). Os estudos realizados por Rothwell et al (1987) e Souza et al (2006) foram realizados em Sidney (AUS) e sul do Brasil, respectivamente, ou seja, em áreas subtropicais. Os outros levantamentos foram realizados em áreas temperadas e o presente trabalho e o estudo feito por Teixeira et al (2010) foram realizados em área tropical, onde a incidência de radiação ultravioleta é bem maior.

Meirelles et al (2010) observaram uma proporção de neoplasias melanocíticas malignas/benignas superior a encontrada no presente estudo (região tropical), porém o trabalho desse autor foi feito no sul do Brasil (região subtropical). No trabalho realizado por Teixeira et al (2010) em São Paulo (sudeste do Brasil) observou-se uma proporção menor de neoplasias malignas/benignas em comparação com o presente estudo, realizado em Minas Gerais (sudeste do Brasil). Dessa forma, os resultados diferentes encontrados nos diversos levantamentos podem ser explicados pela adoção de critérios distintos de classificação histológica e/ou, possivelmente devido às diferenças geográficas.

¹⁶ Lavalle, G. E. Comunicação pessoal. Escola de Veterinária - UFMG. 2011

Os resultados referentes ao comportamento biológico dos tumores hematopoéticos também foram conflitantes. No presente estudo a proporção das neoplasias malignas foram cinco vezes superiores as benignas, mas diminuiu para aproximadamente 4,4 vezes após o uso da imuno-histoquímica, devido ao aumento no número de linfomas e plasmocitomas. Nos trabalhos realizados por Goldschmidt e Shofer (1992), Meirelles et al (2010), Yager e Wilcock (1994), Pakhrin et al (2007) e Souza et al (2006) essa proporção foi 1,5, 14, 1,7, 1,2 e 1,5 vezes em favor das neoplasias benignas, respectivamente. Em alguns estudos somente foram diagnosticadas neoplasias malignas (Rothwell et al., 1987; Kaldrymidou et al., 2002). No levantamento realizado na Austrália não foram encontrados tumores cutâneos de origem hematopoética (Finnie e Bostock, 1979). As explicações para esses resultados diferentes podem estar relacionadas a critérios diferentes de classificação histológica.

O adenoma sebáceo ocorreu mais comumente na cabeça e foi o tumor epitelial mais frequente desse estudo. Os resultados referentes à prevalência e localização anatômica estão de acordo com a literatura (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Gross et al., 2006). A proporção de adenomas sebáceos na forma multicêntrica correspondeu ao segundo sítio mais frequente no presente trabalho, porém, essa localização é mais observada nas hiperplasias sebáceas, que são lesões tumorais não neoplásicas (Gross et al., 2006). A diferenciação histológica deve ser realizada, apesar de o prognóstico ser favorável para as duas condições. A hiperplasia mantém a orientação normal das glândulas sebáceas ao redor de ductos ou do infundíbulo folicular. No adenoma pode-se observar degeneração dos sebócitos, além de aumento do número de células de reserva e de sebócitos imaturos (Gross et al., 2006).

O carcinoma de células escamosas ocorreu com maior frequência na cabeça e no

abdômen. Quando os membros foram considerados em conjunto, observou-se uma proporção maior quando comparada a cabeça e ao abdômen. Esses resultados são semelhantes aos descritos por Goldschmidt e Hendrick (2002). Os dados relacionados à prevalência desse tumor variam entre os diferentes estudos e, correspondem de 3 a 20% do total das neoplasias cutâneas. Essa variação ampla ocorre devido às diferenças geográficas (Gross et al., 2006). Sabe-se que a radiação ultravioleta está relacionada a patogênese desse tumor e, estudos realizados em diferentes localizações geográficas (subtropicais, temperadas e tropicais) podem explicar essa variação. No presente trabalho essa neoplasia correspondeu a cerca de 6,5% do total de tumores cutâneos, sendo o segundo tumor epitelial mais frequente. A frequência não foi tão elevada, se considerarmos que o presente estudo foi realizado em região tropical, onde há grande incidência de radiação ultravioleta. Animais despigmentados e regiões do corpo mais expostas ao sol tem um risco aumentado de desenvolvimento dessa neoplasia (Goldschmidt e Hendrick, 2002).

A terceira neoplasia epitelial mais frequente foi o adenoma hepatóide, correspondendo a cerca de 6% do total de tumores. Os resultados relativos à prevalência e a localização anatômica dos tumores nesse estudo foram semelhantes aos encontrados na literatura (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Gross et al., 2006). As glândulas hepatóides são glândulas sebáceas modificadas e estão presentes primariamente na pele da região perianal. Elas também podem estar presentes ao redor do terço proximal da cauda, na região dorsal, próximo a coluna lombossacral, na região lateral ao prepúcio e ao longo da linha média ventral (Gross et al., 2006). Dessa forma, os sítios de predileção para a ocorrência do tumor são a região perianal, cauda, prepúcio e o dorso, contudo tumores na cabeça e nos membros também já foram observados (Gross et al., 2006).

O mastocitoma foi a neoplasia mesenquimal mais encontrada em nossa rotina diagnóstica. Essa neoplasia correspondeu a aproximadamente 17% (após o uso da imuno-histoquímica) de todos os tumores desse estudo e foi duas vezes mais comum do que o segundo e o terceiro tumor mais frequente, melanoma e lipoma, respectivamente. Os resultados relativos à ocorrência dos mastocitomas estão de acordo com a literatura, porém os dados referentes à localização anatômica divergiram em alguns aspectos (Welle et al., 2008). No presente trabalho, houve maior predileção para os membros em relação ao tronco (tórax, abdômen e dorso) e com a cabeça e o pescoço. Apesar disso, a frequência de mastocitomas nos membros e no tronco foi muito próxima, 24% e 21%, respectivamente. Os dados da literatura mostram essa relação inversa. Há maior predisposição para o tronco (50-60%), seguido pelas extremidades (25-40%) e a cabeça e pescoço (10%) (Welle et al., 2008). A proporção de mastocitomas sem informação da localização anatômica também foi elevada, aproximadamente 14%, o que poderia ter auxiliado a aproximar as frequências de mastocitomas nos membros e no tronco.

A frequência de mastocitomas no escroto foi de aproximadamente 9%, um número considerado elevado. Segundo Welle et al (2008) o escroto, períneo e cauda são locais menos acometidos, porém podem ser mais agressivos. Tumores no escroto, períneo, região interdigital (Welle et al., 2008) e junção mucocutânea (Gieger et al., 2003) estão relacionados a um pior prognóstico. Apesar disso, outros estudos não observaram diferenças no tempo de sobrevida de animais com tumores na região inguinal e perineal em relação a outras localizações (Cahalane et al., 2004; Sfiligoi et al., 2005). Newmann et al (2007) sugere que mastocitomas ocorrendo no subcutâneo tem comportamento biológico diferente daqueles localizados na derme e estão associados a

tempo de sobrevida mais longos. Outros autores mostraram que a profundidade do tumor (derme superficial; derme superficial/profunda; subcutâneo; extensão para musculatura) não é um parâmetro útil para prever o tempo de sobrevivência de cães tratados apenas com exérese cirúrgica (Kiupell et al., 2005). Essas informações são importantes para o clínico que pretende instituir uma terapêutica em seu paciente e para estabelecer um prognóstico mais preciso.

Tumores multicêntricos ocorreram em cerca de 13% do total de mastocitomas. A frequência de lesões múltiplas pode variar entre 5 a 25% (O'Keefe, 1990; Thamm e Vail, 2007; Welle et al., 2008). Ainda não está claro se tumores múltiplos representam eventos neoplásicos espontâneos independentes, em um processo de doença sistêmica independente ou se representam uma doença metastática (Kiupell et al., 2005). Kiupell et al (2005) demonstraram que animais com tumores múltiplos tratados somente com exérese cirúrgica tem menores tempos de sobrevida do que aqueles com tumores únicos. Contudo, outros estudos não confirmaram esses achados (Murph et al., 2006). Além disso, Thamm et al (1999) não encontraram diferenças no tempo de sobrevida entre animais com tumores múltiplos e tumores únicos tratados com prednisona e vimblastina.

Os cães acompanhados clinicamente que tiveram recidivas apresentavam mastocitomas primários com comportamento biológico mais agressivo (grau II ou III/KIT II ou III). A média de tempo para aparecimento de recidiva foi de 88 dias. Recidiva local é relativamente comum nos mastocitomas mais indiferenciados, provavelmente porque acometem tecidos mais profundos, são menos circunscritos e necrose, hemorragia e edema podem dificultar a visualização das margens do tumor (Goldschmidt e Hendrick, 2002). Segundo Simoes et al (1994)

recidivas ocorrem comumente dentro de 4 meses (120 dias) após exérese cirúrgica, embora longos intervalos tenham sido relatados.

Os lipomas corresponderam à segunda neoplasia mesenquimal mais comum na nossa região e cerca de 7% do total de tumores cutâneos. Eles ocorreram mais comumente no tronco e nos membros, semelhante ao que é descrito na literatura (Gross et al., 2006). A frequência observada nesse estudo também está de acordo com relatos prévios (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987).

Nos levantamentos realizados nos Estados Unidos (Goldschmidt e Shofer, 1992) e no Canadá (Yager e Wilcock, 1994) mostraram que o histiocitoma foi a neoplasia cutânea mais frequente naqueles países, correspondendo a 12% e 14,3% do total de tumores, respectivamente. Em outros trabalhos, esse tumor ocupou o segundo ou o quarto lugar, com frequências variando entre 6-14% (Finnie e Bostock, 1979; Rothwell et al., 1987; Kaldrymidou et al., 2002; Bellei et al., 2006; Pakhrin et al., 2007). No estudo realizado por Meirelles et al (2010), o histiocitoma foi o oitavo tumor mais frequente, correspondendo a 3,8% do total de neoplasias. No presente trabalho (após o uso da imuno-histoquímica) e no levantamento realizado por Souza et al (2006) o histiocitoma foi apenas o décimo terceiro tumor mais encontrado, correspondendo a aproximadamente 2% do total. Essa discrepância pode ser explicada pelo fato de que esses tumores são auto-limitantes e, muitas vezes, o proprietário não leva o animal ao médico veterinário para realização da exérese cirúrgica. Uma possível hipótese para o número aumentado de histiocitomas em alguns países (principalmente devido ao não uso da IHQ nesses levantamentos) seja o confundimento desse tumor com outras neoplasias de células redondas como, por exemplo, o mastocitoma pobremente diferenciado, o

linfoma, o tumor venéreo transmissível e o plasmocitoma, semelhante ao que foi observado no presente estudo.

A imuno-histoquímica vem sendo usada na rotina diagnóstica e na pesquisa em patologia humana, desde 1970 (Ruiz et al., 2005). Seu uso na medicina veterinária é mais recente, porém nos países desenvolvidos é uma técnica bastante difundida quando comparada aos países emergentes. É de fato, a técnica auxiliar mais importante na caracterização das doenças neoplásicas frente a demanda para diagnósticos mais específicos pelos oncologistas (Ramos-Vara et al., 2008). No Brasil, não foram encontrados trabalhos que descrevem a frequência de neoplasias de células redondas cutâneas em cães, utilizando-se a IHQ como ferramenta complementar à histologia.

Os resultados do presente trabalho mostraram a importância do uso da imuno-histoquímica como ferramenta auxiliar para o patologista veterinário que faz o diagnóstico de tumores de pele. Para uma grande parcela dos “tumores de células redondas” foi confirmada a origem celular, porém para vários desses tumores o diagnóstico histológico prévio foi modificado. Nesse sentido, o diagnóstico preciso permite ao oncologista maior acurácia na determinação do prognóstico e na escolha do tratamento para seus pacientes.

O anticorpo CD117 (c-KIT), como esperado, mostrou ser extremamente útil para o diagnóstico de mastocitoma. Alterações na expressão e mutações no gene c-KIT tem sido objeto de estudos há vários anos (London et al., 1996; Reguera et al., 2000; Kiupell et al., 2004; Webster et al., 2006; Gil da Costa et al., 2007; Webster et al., 2007; Ohmori et al., 2008). Reguera et al. (2000) demonstraram que o aumento da expressão citoplasmática do KIT estava relacionada com tumores menos

diferenciados. Anos depois, Kiupell et al (2004) propuseram uma nova classificação baseada no padrão de marcação imuno-histoquímica do CD117 (c-KIT). Eles observaram que os padrões KIT II/KIT III (expressão citoplasmática focal/difusa, respectivamente) estavam associados com maior risco de recidiva local e menores tempos de sobrevivência, indicando um comportamento biológico mais maligno desses tumores.

No presente estudo foram observados os três padrões de marcação do CD117 (perimembrana, citoplasmática focal e citoplasmática difusa), descritos por Kiupell et al (2004). No entanto, nossos resultados se contrapõem aos observados por esses pesquisadores. Não foi observada relação entre os graus histológicos e os padrões de expressão do c-KIT ($p > 0,05$). Strefezzi et al (2007) estudando 28 mastocitomas também não observaram relação entre os graus histológicos e o padrão KIT. Quando comparamos a distribuição dos graus histológicos encontrados no presente trabalho (43,59% de grau I; 34,62% de grau II; 21,79% de grau III), com aquela preconizada por Patnaik et al (1984) (36% de grau I; 43% de grau II; 20% de grau III) observa-se que há uma proporção maior de mastocitomas grau I em relação ao grau II no presente estudo. No entanto, Strefezzi et al (2007) relataram 21,4% de casos pertencentes ao Grau I; 57,1% ao grau II e 21,4% ao grau III, semelhante ao encontrado por Patnaik et al (1984). Os diagnósticos histológicos de tumores no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMG foram realizados por vários patologistas e, a maior parte, reavaliada na realização desse estudo. No entanto, já foi comprovado que há diferenças de concordância na graduação histológica dos mastocitomas entre patologistas e até intraobservador (Northrup et al., 2005). Diante disso, atualmente tem sido proposta uma nova classificação dos mastocitomas, que separa os tumores de alto e baixo grau de malignidade. Para os

tumores de alto grau a classificação seria baseada em sete ou mais figuras mitóticas por 10 campos de maior aumento, pelo menos três células multinucleadas (três ou mais núcleos) por 10 campos de maior aumento ou pelo menos 10% das células neoplásicas mostrando megalocitose definida como núcleos duas vezes maiores que o esperado (Kiupell et al., 2011).

Outra hipótese que poderia explicar esses resultados diferentes seria em relação a proporção da classificação em padrões KIT I, KIT II e KIT III. No presente estudo foram encontrados 53,85% de KIT I, 30,77% de KIT II e 15,38% de KIT III e Kiupell et al (2004) encontrou uma proporção muito próxima entre mastocitomas KIT I e KIT II (42,9% de KIT I, 43,9% de KIT II e 13,2% de KIT III). Strefezzi et al (2007) que também não observaram relação entre os graus histológicos e o padrão KIT descreveram 21,4% de KIT I, 57,1% de KIT II e 21,4% de KIT III.

Não foram observadas diferenças significantes entre o padrão de expressão do KIT no tumor primário e nas metástases. A correlação entre eles foi extremamente alta (78%). Isso significa que o padrão KIT do tumor primário se correlaciona em 78% com o padrão KIT da metástase. Nesse sentido, parece que as metástases não têm um aumento na marcação citoplasmática (aberrante) do KIT, o que poderia indicar um prognóstico melhor para o animal. Avaliou-se apenas 16 mastocitomas metastáticos e, talvez isso, poderia ter contribuído para esse resultado, provavelmente sendo necessário um número maior de casos para uma conclusão mais precisa. Não foram encontrados estudos que correlacionam a expressão do KIT no tumor primário e nas metástases. Kiupell et al (2010)¹⁷ sugerem que lesões metastáticas

¹⁷ Kiupell, M. Comunicação pessoal. Concurrent Meeting of the American

também deveriam ser testadas para a presença de localização aberrante (citoplasmática) do KIT, o que auxiliaria na decisão terapêutica. No presente estudo, o pequeno número de animais com mastocitomas metastáticos acompanhados clinicamente impediu uma avaliação estatística do tempo de sobrevivência e o significado prognóstico desse parâmetro.

Muitos casos diagnosticados na histologia como linfoma, histiocitoma ou histiocitoma maligno consistiam de mastocitoma. Diferentes padrões KIT foram encontrados nesses casos, porém houve o predomínio de marcação citoplasmática (focal ou difusa), indicando tumores menos diferenciados. Na histologia, os grânulos intracitoplasmáticos típicos dos mastócitos são mais difíceis de serem visualizados nos tumores com diferenciação intermediária (grau II) e pobremente diferenciados (grau III). Dessa forma, colorações especiais como o azul de toluidina e o Giemsa são usados para melhorar a visualização desses grânulos. Apesar disso, em muitos casos os grânulos não são vistos mesmo com o uso dessas colorações. Provavelmente isso ocorreu com os tumores descritos acima, levando ao erro no diagnóstico. Nesse sentido, a imunohistoquímica se torna uma ferramenta auxiliar a histologia indispensável para o diagnóstico definitivo de tumores de células redondas, especialmente nos casos de mastocitomas pobremente diferenciados.

Alguns tumores classificados previamente como mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas e neoplasia de células redondas tratavam-se de processo inflamatório crônico. A diferenciação entre processo inflamatório e processo neoplásico muitas vezes é difícil quando há formações nodulares extensas. Mitoses podem ser observadas em processos inflamatórios e,

histiócitos, fibroblastos e células endoteliais reativas podem mimetizar células neoplásicas.

Número aumentado de mastócitos pode estar presente em dermatites alérgicas por qualquer causa (Gross et al., 2006). Anticorpos do tipo IgE produzidos em grandes quantidades em resposta a antígenos alergênicos se ligam a receptores dos mastócitos e, induzem a degranulação dessas células. Histamina, heparina e fatores quimiotáticos são liberados e induzem às respostas sistêmicas (Tizard, 2009). Dessa forma, nos animais diagnosticados com mastocitoma, o número aumentado de mastócitos na derme levou ao erro no diagnóstico e, possivelmente algum alérgeno induziu a proliferação e migração dessas células. Gross et al (2006) relatam que as lesões de alergia alimentar felina podem ser confundida com mastocitoma nessa espécie.

Mastócitos são derivados de células progenitoras hematopoéticas CD34⁺ onde iniciam sua diferenciação, entram na circulação sanguínea e dirigem-se para tecidos e órgãos, completando sua maturação. Portanto, são encontrados no tecido conjuntivo e estão presentes na pele, mucosas e também na cavidade peritoneal, seios linfáticos medulares, corticais e subcapsulares de vários linfonodos (Ferreira, 2005). Dessa forma, a presença de mastócitos não neoplásicos no seio linfático do linfonodo inguinal do animal 136M pode ser considerada normal. Outra possível explicação seria a drenagem dessas células para o linfonodo, devido ao processo inflamatório na pele. Há um estudo, *in vivo*, realizado em camundongos, indicando que mastócitos podem migrar de um local de encontro com o antígeno através de vasos linfáticos aferentes até os linfonodos de drenagem, nos quais participam da indução de uma resposta imune primária (Wang et al., 1998).

College Of Veterinary Pathologists And American Society For Veterinary Clinical Pathology, Baltimore. 2010.

Os linfócitos neoplásicos foram CD3⁺ em todos os casos de linfoma T epiteliotrópico. Havia infiltração de linfócitos B CD79a⁺ na periferia da neoplasia em cerca de 18% (6/34) dos casos. O número de linfócitos B variou entre os casos e eles não mostravam características de malignidade. Eram pequenos linfócitos maduros dispostos individualmente ou em forma de pequenos folículos. Não foram observados linfócitos B formando uma banda linear na periferia das células neoplásicas como é descrito na literatura (Fontaine et al., 2010). Em alguns casos observou-se também a presença de plasmócitos. Acredita-se que, essa reação é devida a produção de interleucina 4 e do fator 2 estimulante de células B, pelos linfócitos T neoplásicos (Fontaine et al., 2010). Os linfócitos T foram CD45⁺ em somente 44% (15/34) dos casos. CD45 é um antígeno leucocitário comum e a falta de marcação ou marcação fraca já foi descrita em casos de linfoma T cutâneo (Affolter et al., 2009).

Aproximadamente 54,5% (12/22) dos casos de linfoma diagnosticados na histologia foram definidos como células T. Os outros tumores foram previamente diagnosticados na histologia como mastocitoma, histiocitoma, histiocitoma maligno, histiocitose cutânea ou neoplasia de células redondas. A frequência de linfomas T epiteliotrópicos e não-epiteliotrópicos foram muito próximas. Cerca de 44% (15/34) foram classificados como epiteliotrópicos e 41% (14/34) como não epiteliotrópicos. Segundo Gross et al (2006), linfoma T não-epiteliotrópico é bem menos comum e linfoma B não-epiteliotrópico é mais raro ainda. O restante (5/34), não foi possível a classificação devido à ulceração da epiderme e os folículos e as glândulas anexas estavam difíceis de serem caracterizados.

Linfócitos marcados na epiderme, em forma de pequenos grupos (“clusters” ou microabscessos de Pautrier) e/ou no epitélio de folículos pilosos, glândulas apócrinas e

sebáceas foram observados em virtualmente todos os animais. Linfócitos neoplásicos localizados difusamente na epiderme não foram observados em nenhum dos casos. Essas características são compatíveis com a forma *Pagetoid reticulosis* do linfoma epiteliotrópico (Gross et al., 2006). Nesse caso além da epiderme, há células neoplásicas no epitélio dos folículos pilosos e das glândulas anexas, mas não na derme, como é observado nas outras formas dessa doença.

Os aspectos clínicos não foram revisados nos animais do estudo retrospectivo. Apesar disso, os animais 20L, 9CR, 22L e 134M foram acompanhados clinicamente. Nódulos tumorais grandes de aparecimento rápido estavam presentes na pele da região do úmero, escápula, dorso e tórax do cão 20L. Diante desse quadro, o animal foi submetido à eutanásia. Provavelmente, esse caso tratava-se de um linfoma epiteliotrópico forma d’emblée da *mycosis fungoide* (MF), que é caracterizada por formação tumoral sem o estágio de formação de manchas e placas (Gross et al., 2006). O animal 9CR, 22L e 134M tinham nódulos únicos no lábio, face e no abdômen, respectivamente, não sendo descritos aparecimento de manchas e placas em nenhum deles. Dessa forma, esses casos foram compatíveis com a forma d’emblée da MF. Apesar disso, a forma *d’emblée* não parece ser mais reconhecida pela Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento de Câncer (Fontaine et al., 2010). O cão 9CR ainda está vivo, há quase um ano, desde a cirurgia, sem progressão da doença. Os animais 22L e 134M também permanecem vivos, por 30 dias após a cirurgia (último contato com o proprietário). Dessa forma, nesses animais, o tempo médio de sobrevida livre da doença foi de 225 dias. Segundo Fontaine et al (2010), o prognóstico do linfoma epiteliotrópico geralmente é desfavorável, sendo que o tempo de sobrevida após o diagnóstico, varia de poucos meses a até dois anos de idade.

Linfoma cutâneo epiteliotrópico é uma doença progressiva e o envolvimento de linfonodos e outros órgãos pode ocorrer nos estágios finais. Nesse sentido, a diferenciação entre linfoma cutâneo e linfoma com envolvimento secundário da pele deve ser feita. Nesse último caso, os linfócitos neoplásicos se localizam na derme em um padrão predominantemente perivascular e não mostram epiteliotropismo típico (Fontaine et al., 2009).

Os tumores definidos como plasmocitomas foram CD79a⁺ em 66,66% (6/9) dos casos. Embora a reatividade do CD79a em plasmocitomas caninos e linfomas B seja bem conhecida, há grandes variações na porcentagem de casos e no número de células positivas para esse marcador, com mais de 80% dos plasmocitomas CD79a⁺ (Ramos-Vara et al., 1998; Schrenzel et al., 1998). Apesar disso, outros autores observaram a marcação pelo CD79a em 59 (56,2%) de 105 casos de plasmocitoma (Ramos-Vara et al., 2007). Esta discrepância poderia refletir diferenças em critérios de escore. No presente estudo, a marcação foi predominantemente citoplasmática difusa. O caso 69M mostrou marcação multifocal e o animal 9H tinha um tumor pouco diferenciado apresentando positividade para o CD79a somente nas células pleomórficas e megalocíticas. A diferenciação entre linfoma B foi possível, pois todos os tumores apresentavam, em diferentes proporções, células bem diferenciadas características de plasmócitos: halo perinuclear (zona de Golgi), núcleo periférico e citoplasma basófilico que auxiliaram no diagnóstico (Ginn et al., 2007).

Nenhum plasmocitoma foi positivo para o antígeno leucocitário comum (CD45) no presente estudo. Essa falta de reatividade não era esperada, pois a expressão desse marcador em plasmocitomas caninos é relatada por alguns autores (Gross et al., 2006). Aproximadamente 22,22% (2/9) dos casos apresentaram linfócitos T CD3⁺

reativos, o que poderia sugerir resposta imune (Schrenzel et al., 1998). Todos os casos que foram submetidos à IHQ para o CD117 (c-KIT) foram negativos, afastando a possibilidade de mastocitoma.

A orelha, queixo e dígitos parecem ser os sítios de predileção mais comuns de plasmocitoma cutâneo (Schrenzel et al., 1998). No presente estudo 44,44% (4/9) dos plasmocitomas ocorreram nos dígitos e na orelha.

Todos os casos de linfoma B não-epiteliotrópicos foram CD79a⁺ e apenas 33,33% (1/3) foram CD45⁺. Eles corresponderam a 8% (3/37) de todos os linfomas caracterizados pela imunohistoquímica. O diagnóstico final de linfoma B foi possível porque as células neoplásicas não apresentavam características típicas de plasmócitos, que também apresentam reatividade para o CD79a. Segundo Gross et al (2006), os linfomas B cutâneos também apresentam reatividade para CD45.

O linfoma B não-epiteliotrópico é bem menos comum do que o linfoma T não-epiteliotrópico (Gross et al., 2006). Um animal (111M) acompanhado clinicamente foi diagnosticado com linfoma T não-epiteliotrópico. Ele ainda está vivo, há quase 1,5 anos, sem progressão da doença após a cirurgia. Segundo Gross et al (2006) a exérese cirúrgica de tumores solitários tem sido curativa em poucos casos de linfoma não-epiteliotrópico, sendo que a maioria deles exibem rápida progressão e metástase para linfonodos regionais; envolvimento sistêmico também pode ocorrer.

As neoplasias classificadas como tumor venéreo transmissível se localizavam no dorso, nos membros posteriores e no prepúcio. O animal 1T tinha um TVT multicêntrico (pescoço, tórax e membro posterior). No TVT, as lesões são principalmente observadas na pele ou na mucosa do sistema genital (Gross et al.,

2006). Lesões extragenitais sem envolvimento da genitália também podem ocorrer e, nesses casos, a diferenciação entre o TVT e outros tumores de células redondas é mais difícil (Mozos et al., 1996).

Os tumores definidos como TVT foram CD45⁺ em 33,33% (2/6), vimentina⁺ em 100% (6/6) dos casos e todos eles foram CD117, CD3, CD79 negativos. Os tumores submetidos à IHQ para citoqueratina também não apresentaram reatividade. Esse painel de anticorpos afastou as possibilidades de mastocitoma pouco diferenciado, linfoma T, linfoma B, plasmocitoma ou carcinoma pouco diferenciado. A falta de reatividade em 66,66% (4/6) dos casos não era esperada, pois alguns autores relatam a expressão do CD45 nesses tumores, indicando uma possível origem histiocítica (Gross et al., 2006; Maclachlan e Kennedy, 2002). Essa hipótese também foi sugerida por outros pesquisadores que observaram a expressão imuno-histoquímica de lizozima e alfa1-tripsina em 40% e 56% dos TVT's avaliados, respectivamente (Mozos et al., 1996). Além disso, as células do TVT são de origem mesenquimal e são marcadas pela vimentina (Pereira et al., 2000). Dessa forma, a reatividade para esse marcador observada no presente estudo, confirmou o diagnóstico de TVT. A possibilidade de histiocitoma cutâneo foi descartada pela avaliação das características morfológicas das células neoplásicas que apresentavam núcleos grandes, citoplasma escasso, algumas vezes vacuolizado, índice mitótico elevado e monotonia celular, além da localização predominante na derme profunda e não próximo a epiderme, como é observado nos histiocitomas.

O TVT apresenta uma fase de crescimento tumoral (progressiva) seguida por uma fase de estabilidade e, por último, pela fase regressiva. Essa última é acompanhada por aumento acentuado de células do sistema imune (Murchison et al., 2009). Cães

recuperados podem adquirir imunidade humoral/celular, auxiliando na prevenção de tumores subsequentes (Mozos et al., 1996). O cão 1T apresentou células linfocíticas não-neoplásicas infiltradas no tumor (CD3⁺ e CD79a⁺) que poderia ser interpretada como uma resposta imune contra as células tumorais.

Histiocitoma cutâneo geralmente é um tumor solitário que tem origem das células de Langerhans e ocorre predominantemente na cabeça, orelha, pescoço e membros, mas pode ser observado em qualquer localização (Gross et al., 2006). No presente estudo, ocorreu mais frequentemente na orelha e lábio, mas tumores nos membros, pescoço, tórax, dorso e abdômen também foram encontrados. Essa neoplasia ocasionalmente ocorre como nódulos múltiplos (Gross et al., 2006). O animal 7M tinha a forma múltipla, com tumores localizados na orelha e no abdômen.

Cerca de 16% (4/25) dos casos definidos como histiocitomas cutâneos foram CD45⁺. Esse resultado não era esperado, pois a reatividade desse marcador em histiocitomas cutâneos é relatada em outros estudos (Moore et al., 1996). Uma possível explicação para isso seria a perda da antigenicidade tecidual durante a fixação e processamento ou pela não exposição do epítipo durante a recuperação antigênica ou ainda pela perda da diferenciação das células tumorais que passariam a não expressar o antígeno na superfície celular.

Quinze casos (60%) do total de 25 tumores com diagnóstico final de histiocitoma apresentaram reatividade para E-caderina. Em todos esses casos a imunomarcagem foi observada nas células tumorais próximas e epiderme (Figura 8). Segundo Ramos-Vara et al (2011) a intensidade da marcação para E-caderina nos histiocitomas cutâneos diminui com o aumento da distância com a epiderme devido a maturação das células de Langerhans ou pela resposta imune durante

a regressão tumoral. Apesar da reatividade para E-caderina nos histiocitomas cutâneos ser bem conhecida (Baines et al., 2008), Gross et al (2006) relatam que a falta de expressão desse marcador pode ser observada em alguns casos. No presente estudo, isso ocorreu em 40% (10/25) dos tumores, provavelmente devido à maturação das células tumorais.

As células de Langerhans são as únicas da linhagem de células dendríticas que expressam altos níveis de E-caderina (Baines et al., 2008) e, isso, poderia ser usado para diferenciar de histiocitose reativa e sarcoma histiocítico. Gross et al (2006) também relatam que as células da histiocitose reativa e do sarcoma histiocítico não apresentam reatividade para E-caderina. No entanto, Ramos-Vara et al (2011) mostraram que a E-caderina foi expressa em mastocitoma, linfoma epiteliotrópico, plasmocitoma e sarcoma histiocítico.

Dessa forma, o diagnóstico de histiocitoma cutâneo foi possível devido a associação entre os resultados da IHQ aliada as características morfológicas das células neoplásicas. Cordões de células, partindo da epiderme (perpendicularmente a epiderme) foram observados em todos os casos e células tumorais com núcleo com invaginação lateral e citoplasma abundante também estavam presentes. Essa característica é fundamental para diferenciar da histiocitose cutânea (alteração reativa de histiócitos), cuja proliferação tem origem das células dendríticas dermais (Gross et al., 2006) e não apresentam a forma de cordões orientados perpendicularmente a partir da camada basal da epiderme como ocorre no histiocitoma cutâneo. As células da histiocitose reativa são as únicas CD4⁺, que é uma molécula expressa nas células dendríticas dermais ativadas (Affolter e Moore, 2000). As possibilidades de mastocitoma pobremente diferenciado, linfoma T, linfoma B, plasmocitoma e carcinoma indiferenciado foram descartadas

devido a não reatividade para os marcadores CD117, CD3, CD79a e citoqueratina AE1/AE3, respectivamente.

Apesar da hipótese de perda de antigenicidade do tecido para o anticorpo CD45 na derme superficial adjacente a formação tumoral histiocítica de todos os casos foram observados mastócitos residentes marcados pelo CD117 e também reatividade para citoqueratina AE1/AE3 e E-caderina na epiderme, mostrando que os tecidos estavam reativos. Dessa forma, as hipóteses mais prováveis que poderiam explicar a falta de reatividade para CD45 e E-caderina seriam a perda da diferenciação das células que passariam a não expressar o antígeno na superfície celular e a maturação das células neoplásicas, respectivamente.

Em 32% (8/25) e em 12% (3/25) dos histiocitomas cutâneos foram observados linfócitos T não-neoplásicos CD3⁺ e/ou linfócitos B não-neoplásicos CD79a⁺, respectivamente, sugerindo uma resposta imune contra as células tumorais. Os histiocitomas cutâneos sofrem regressão espontânea, observada através da presença de linfócitos maduros CD8⁺ e, em menor proporção, de linfócitos CD4⁺ e linfócitos B infiltrados no tumor (Kaim et al., 2006). A exérese cirúrgica é curativa. Os histiocitomas ocasionalmente podem recidivar, mas não se sabe se esses tumores são verdadeiramente recidivantes ou se representam novos tumores (Goldschmidt e Hendrick, 2002). O animal 38H acompanhado clinicamente permanece livre de recidivas ou do aparecimento de novos tumores, há 150 dias (último contato com o proprietário).

Cerca de 33,33% (2/6) das neoplasias definidas como sarcoma histiocítico localizado foram CD45⁺. Da mesma forma como nos histiocitomas essa falta de reatividade em 66,66% dos casos, não era esperada. Os sarcomas histiocíticos também expressam CD45, assim como outros

antígenos leucocitários (Affolter e Moore, 2002). As células do sarcoma histiocítico provavelmente surgem das células dendríticas intersticiais e expressam CD1c, CD11c, MHC-II, ICAM-1 (Affolter e Moore, 2002; Moore et al., 2006). Adicionalmente também já foi observado a expressão de CD11d (molécula consistentemente expressa em macrófagos) em sarcoma histiocítico disseminado (hemofagocítico), o que indicaria uma origem de macrófagos além das células dendríticas intersticiais (Moore et al., 2006). Esses tumores foram negativos para todos os outros anticorpos (CD117, CD3, CD79a). O animal 18H também não mostrou reatividade para E-caderina. As informações relativas à expressão imuno-histoquímica para E-caderina nesse tumor são controversas. Segundo Gross et al (2006) os sarcomas histiocíticos não expressam E-caderina porém, recentemente Ramos-Vara et al (2011) mostraram a expressão desse marcador em cinco tumores analisados.

No presente estudo, o diagnóstico de sarcoma histiocítico localizado foi possível pela associação entre os resultados da IHQ e a morfologia das células neoplásicas. Os sarcomas histiocíticos que envolvem a pele usualmente se originam do tecido subcutâneo e tecidos subjacentes e secundariamente infiltram a derme (Gross et al., 2006). Uma população de células redondas grandes e vacuolizadas estava presente em todos esses casos e, em menor proporção, células com características fusiformes também foram encontradas. Células gigantes multinucleadas com características bizarras e, marcada anisocitose e anisocariose foram observadas. Essas características são compatíveis com sarcoma histiocítico (Gross et al., 2006; Fulmer e Mauldin, 2007). Fagocitose de eritrócitos, leucócitos ou células tumorais não foi observada. Essas características não são prevalentes em todas as formas da doença e ocorre predominantemente na forma hemofagocítica do sarcoma

histiocítico (Moore, 2011). As características histológicas observadas no sarcoma histiocítico localizado e disseminado (histiocitose maligna) são semelhantes, porém o diagnóstico de sarcoma histiocítico localizado foi preferido, pois não havia envolvimento de linfonodos distantes ou órgãos internos.

O animal 37H havia sido diagnosticado com histiocitose cutânea maligna, porém as características morfológicas do tumor não eram compatíveis com essa doença. O termo histiocitose cutânea é utilizado para descrever uma desordem reativa de histiócitos, caracterizada por um infiltrado composto principalmente por histiócitos e, em menor proporção, de pequenos linfócitos e neutrófilos que estão localizados ao redor de vasos sanguíneos formando manguitos perivasculares (Affolter e Moore, 2000). Nos principais livros de patologia de tumores a nomenclatura utilizada para descrever as desordens histiocíticas não é uniforme (Goldschmidt e Hendrick, 2002; Gross et al., 2006)

É importante ressaltar que os testes foram repetidos, pelo menos uma vez, em todos os casos que não apresentaram reatividade para o CD45. Além disso, controle positivo (pulmão) sempre foi usado em todas as baterias. Esse anticorpo (clone CA1210C12) tem sido usado em cortes congelados/tecido fresco (Moore et al., 1996; Affolter e Moore, 2002) e sua utilização em tecido parafinizado (recuperação antigênica pelo calor) também tem sido descrita (Moore et al., 2006). Nesse sentido, como discutido anteriormente, as hipóteses mais prováveis para explicar a falta de reatividade para o CD45 em alguns casos de linfoma T, linfoma B, plasmocitoma, histiocitoma e sarcoma histiocítico localizado estão relacionadas à perda de antigenicidade tecidual durante a fixação e processamento ou a perda de diferenciação das células tumorais que passariam a não expressar esse antígeno na superfície celular.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escassez de informações referentes às neoplasias de pele em cães, no estado de Minas Gerais e o desafio no diagnóstico histológico dos denominados “tumores de células redondas” foram determinantes para o desenvolvimento desse trabalho.

Os resultados desse trabalho mostraram que a imuno-histoquímica é uma ferramenta auxiliar a histologia extremamente útil para os patologistas que fazem diagnósticos de tumores de células redondas. É importante ressaltar, contudo, que essa técnica é complementar a histologia e o diagnóstico definitivo deve ser baseado na interpretação dos resultados imuno-histoquímicos aliado as características celulares observadas na histologia. Os resultados relacionados ao marcador CD45 e E-caderina demonstraram isso. Apesar de alguns casos serem negativos para esses dois marcadores, o diagnóstico final de histiocitoma foi feito em associação com a negatividade para os outros marcadores (CD117, CD3, CD79a e citoqueratina AE1/AE3) e a observação das características morfológicas das células tumorais. Diante disso, podemos afirmar que não existe marcador perfeito para os tumores. O peso diagnóstico de qualquer estudo imuno-histoquímico não é maior que a sabedoria e a prudência do patologista que o interpretará.

De maneira prática, o CD117 (c-KIT) é o marcador mais adequado como primeira tentativa de se fazer um diagnóstico diferencial de um caso suspeito de neoplasia de células redondas. O maior desafio no diagnóstico dos mastocitomas, como dito no decorrer desse trabalho, está associado aos tumores pobremente diferenciados, nos quais os grânulos intracitoplasmáticos são difíceis de serem vistos mesmo com o uso de colorações especiais. Caso a neoplasia seja negativa para CD117, outros marcadores poderão ser úteis: E-caderina (histiocitoma), CD3 (linfoma T), CD79a

(linfoma B e plasmocitoma) e vimentina (tumor venéreo transmissível). A observação criteriosa das características histológicas das células tumorais é extremamente importante no auxílio à interpretação dos resultados da IHQ.

7. CONCLUSÕES

Quando as neoplasias cutâneas são consideradas em conjunto não há predisposição por sexo.

Quando as neoplasias cutâneas são consideradas como uma entidade clínica única elas acometem mais frequentemente cães idosos do que adultos e, em menor proporção, filhotes.

O histiocitoma, o mastocitoma e o papiloma foram as neoplasias mais encontradas nos animais jovens.

A localização anatômica mais frequente quanto ao desenvolvimento de neoplasias cutâneas é a cabeça.

As neoplasias malignas são mais frequentes que as benignas.

Quando os tumores são classificados quanto a sua origem os mesenquimais são mais frequentes que os epiteliais e, esses mais prevalentes que os melanocíticos.

Os tumores cutâneos de origem hematopoética são os menos frequentes.

Os dez tipos tumorais mais prevalentes são: mastocitoma, melanoma, lipoma, adenoma sebáceo, carcinoma de células escamosas, adenoma hepatóide, hemangiossarcoma, hemangioma, tricoblastoma e fibrossarcoma.

Os marcadores CD117, CD3 e CD79a foram extremamente úteis para a diferenciação de mastocitoma, linfoma T, linfoma B e plasmocitoma.

O marcador CD45 não foi útil para diferenciar os tumores de origem histiocítica. Porém, os resultados dos outros anticorpos aliados as características morfológicas das células permitiu a diferenciação desses tumores.

A avaliação imuno-histoquímica da expressão do KIT (CD117), apesar de confirmada a existência de três padrões morfológicos distintos (KIT I, KIT II e KIT III), não está relacionada aos graus histológicos (grau I, grau II e grau III).

A expressão do KIT nos tumores primários e nas metástases foi estatisticamente semelhante.

O período médio livre de recidiva nos animais com mastocitoma foi de 325 dias, independente do grau histológico, padrão KIT ou tratamento. Para análise estatística do tempo de sobrevida seria necessário um período longo de acompanhamento além da definição de grupos de tratamento mais homogêneos.

O tempo médio de sobrevida livre da doença nos animais diagnosticados com linfoma T foi de 225 dias.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFOLTER, V. K.; GROSS, T. L.; MOORE, P. F. Indolent cutaneous T-cell lymphoma presenting as cutaneous lymphocytosis in dogs. *Vet. Dermatol.*, v. 20, n. 5-6, p. 577-585, 2009.

AFFOLTER, V. K.; MOORE, P. F. Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells. *Am. J. Dermatopathol.*, v. 22, n. 1, p. 40-48, 2000.

AFFOLTER, V. K.; MOORE, P. F. Localized and disseminated histiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dogs. *Vet. Pathol.*, v. 39, n. 1, p. 74-83, 2002.

BAINES, S. J.; BUJDOSO, R.; BLACKLAWS, B. A. *et al.* Maturation states of dendritic cells in canine cutaneous histiocytoma. *Vet. Dermatol.*, v. 11, supl.1, p.1-13, 2000.

BAINES, S. J.; MCINNES, E. F.; MCCONNELL, I. E-cadherin expression in canine cutaneous histiocytomas. *Vet. Rec.*, v. 162, n. 16, p. 509-513, 2008.

BELLEI, M. H. M.; NEVES, D. S.; GAVA, A. *et al.* Prevalence study of canine skin tumours in Santa Catarina, Brazil, between 1998 and 2002. *Rev. Ciênc. Agrovet.*, v. 5, n.1, p. 73-79, 2006.

BOSTOCK, D. E. Neoplasia of the skin and mammary glands in dogs and cats. In: KIRK, R.W. *Current veterinary therapy*. Philadelphia: Saunders, 1977. p. 493-505.

BRONDEN, L. B.; ERIKSEN, T.; KRISTENSEN, A. T. Mast cell tumours and other skin neoplasia in Danish dogs: data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta. Vet. Scand.*, v. 52, n. 6. 2010. Disponível em: <http://www.actavetscand.com/content/52/1/6>. Acesso em: 03/01/2011.

CAHALANE, A. K.; PAYNE, S.; BARBER, L. G. *et al.* Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 225, n.3, p. 401-408, 2004.

CANGUL, I. T.; WIJNEN, M.; VAN GARDEREN, E. *et al.* Clinico-pathological aspects of canine cutaneous and mucocutaneous plasmacytomas. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, v. 49, n. 6, p. 307-312, 2002.

DAY, M. J. Immunophenotypic characterization of cutaneous lymphoid neoplasia in the dog and cat. *J. Comp. Pathol.*, v. 112, n. 1, p. 79-96, 1995.

- DERENZINI, M. The AgNORs. *Micron.*, v. 31, n. 2, p. 117-120, 2000.
- FERNANDEZ, N. J.; WEST, K. H.; JACKSON, M. L. *et al.* Immunohistochemical and Histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. *Vet. Pathol.*, v. 42, n. 4, p. 437-445, 2005.
- FERREIRA, G. L. S. *Mastócitos de camundongos BALB/c e C57BL/6 e a susceptibilidade a infecção por Toxoplasma gondii (cepas RH e ME-49)*. 2005. 122f. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. Disponível em: http://www.bdt.d.ufr.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=366. Acesso em: 16/12/2010.
- FINNIE, J. W.; BOSTOCK, D. E. Skin neoplasia in dogs. *Aust. Vet. J.*, v. 55, n. 12, p. 602-604, 1979.
- FONTAINE, J.; BOVENS, C.; BETTENAY, S. *et al.* Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. *Vet. Comp. Oncol.*, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2009.
- FONTAINE, J.; HEIMANN, M.; DAY, M. J. Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review of 30 cases. *Vet. Dermatol.*, v. 21, n. 3, p. 267-275, 2010.
- FULMER, A. K.; MAULDIN, G. E. Canine histiocytic neoplasia: An overview. *Can. Vet. J.*, v. 48, n. 10, p. 1041-1050, 2007.
- GIEGER, T. L.; THÉON, A. P.; WERNER, J. A. *et al.* Biologic behavior and prognostic factors for mast cell tumors of the canine muzzle: 24 cases (1990-2001). *J. Vet. Intern. Med.*, v. 17, n. 5, p. 687-692, 2003.
- GIL DA COSTA, R. M.; MATOS, E.; REMA, A. *et al.* CD117 immunoreexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers. *BMC. Vet. Res.*, v. 3, n. 19, 2007. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/3/19>. Acesso em: 20/12/2010.
- GINN, P. E.; FOX, L. E.; BROWER, J. C. *et al.* Immunohistochemical detection of p53 tumor-suppressor protein is a poor indicator of prognosis for canine cutaneous mast cell tumours. *Vet. Pathol.*, v. 37, n. 1, p. 33-39, 2000.
- GINN, P. E.; MANSELL, J. E. K. L.; RAKICH, P. M. The skin and appendages. In: JUBB, K. V. F. ; KENNEDY, P. C. ; PALMER'S, N. C. *Pathology of domestic animals*. 5 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. Vol. 1, Cap. 5, p. 553-781.
- GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the skin and soft tissues. In: MEUTEN, J. D. *Tumors in domestic animals*. 4. ed. Ames: Iowa State, 2002. Cap. 2, p. 44-117.
- GOLDSCHMIDT, M. H.; SHOFER, F. S. *Skin tumors of the dog and cat*. Oxford: Pergamon, 1992. 316 p.
- GROSS, T. L.; IHRKE, P.; WALDER, E. J. *et al.* *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*. 2. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. 932p.
- ISHIGURO, T.; KADOSAWA, T.; TAKAGI, S. *et al.* Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 17, n. 2, p. 194-198, 2003.
- JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the hemolymphatic system. In: MEUTEN, J. D. *Tumors in domestic animals*. 4. ed. Ames: Iowa State, 2002. Cap. 3, p. 119-198.
- KAIM, U.; MORITZ, A.; FAILING, K. The regression of a canine Langerhans cell tumour is associated with increased expression of IL-2, TNF-a, IFN-c and iNOS mRNA. *Immunology.*, v. 118, n. 4, p. 472-482, 2006.

- KALDRYMIDOU, H.; LEONTIDES, L.; KOUTINAS, A. F. *et al.* Prevalence, distribution and factors associated with the presence and the potential for malignancy of cutaneous neoplasms in 174 dogs admitted to a clinic in northern Greece. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, v. 49, n. 2, p. 87-91, 2002.
- KIPAR, A.; BAUMGÄRTNER, W.; KREMMER, E. *et al.* Expression of major histocompatibility complex class II antigen in neoplastic cells of canine cutaneous histiocytoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 62, n. 1, p. 1-13, 1998.
- KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; KANEENE, J. B. *et al.* The use of KIT and Tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.*, v. 41, n. 4, p. 371-377, 2004.
- KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; BAILEY, K. L. *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, n. 1, p. 147-155, 2011.
- KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; MILLER, R. A. *et al.* Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, v. 52, n. 6, p. 280-286, 2005.
- LANGOHR, I. M.; RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. Análise algorítmica no diagnóstico de tumores cutâneos de células redondas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 57, supl. 1, p. 96, 2005.
- LETARD, S.; YANG, Y.; HANSSENS, K. *et al.* Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Mol. Cancer. Res.*, v. 6, n. 7, p. 1137-1145, 2008.
- LIN, T. Y.; THOMAS, R.; TSAI, P. *et al.* Generation and characterization of novel canine malignant mast cell line CL1. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 127, n. 1-2, p. 114-124, 2009.
- LONDON, C. A.; GALLI, S. J.; YUUKI, T. *et al.* Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp. Hematol.*, v. 27, n. 4, p. 689-697, 1999.
- LONDON, C. A.; KISSEBERTH, W. C.; GALLI, S. J. *et al.* Expression of stem cell factor receptor (c-kit) by the malignant mast cells from spontaneous canine mast cell tumours. *J. Comp. Pathol.*, v. 115, n. 4, p. 399-414, 1996.
- MACHADO, A. V.; SILVA, J. M. L.; CURIAL, O. *et al.* Incidência de blastomas em animais no Brasil. *Arq. Esc. Vet.*, v. 25, p. 327-401, 1963.
- MACLACHLAN, N. J.; KENNEDY, P. C. Tumors of the genital systems. In: MEUTEN, J. D. *Tumors in domestic animals*. 4. ed. Ames: Iowa State, 2002. Cap. 11, p. 547-573.
- MEIRELLES, A. E. W. B.; OLIVEIRA, E. C.; RODRIGUES, B. A. *et al.* Prevalência de neoplasmas cutâneos em cães da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS: 1.017 casos (2002-2007). *Pesq. Vet. Bras.*, v. 30, n. 11, p. 968-973, 2010.
- MILLER, D. M. The occurrence of mast cell tumors in young Shar-Peis. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 7, n. 3, p. 360-363, 1995.
- MOORE, P. F. *Histiocytic sarcoma and malignant histiocytosis*. 2011. Disponível em: <http://www.histiocytosis.ucdavis.edu/>. Acesso em: 22/01/2011.
- MOORE, P. F.; AFFOLTER V. K.; GRAHAM, P. S. *et al.* Canine epitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma: an investigation of T-cell receptor immunophenotype, lesion topography and molecular clonality. *Vet. Dermatol.*, v. 20, n.5-6, p. 569-576, 2009.
- MOORE, P. F.; AFFOLTER, V. K.; VERNAU, W. Canine hemophagocytic histiocytic sarcoma: a proliferative disorder of CD11d+ macrophages. *Vet. Pathol.*, v. 43, n. 5, p. 632-645, 2006.

- MOORE, P. F.; SCHRENZEL, M. D.; AFFOLTER, V. K. *et al.* Canine cutaneous histiocytoma is an epidermotropic Langerhans cell histiocytosis that expresses CD1 and specific f32-integrin molecules. *Am. J. Pathol.*, v. 148, n. 5, p. 1699-1708, 1996.
- MOZOS, E.; MÉNDEZ, A.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C. *et al.* Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. *Vet. Pathol.*, v. 33, n. 3, p. 257-263, 1996.
- MURCHISON, E. P. Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene.*, v. 27, n. S2, p. s19-s30, 2008.
- MURPHY, S.; SPARKES, A. H.; BLUNDEN, A. S. *et al.* Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet. Rec.*, v. 158, n. 9, p. 287-291, 2006.
- NEWMAN, S. J.; MRKONJICH, L.; WALKER, K. K. *et al.* Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. *J. Comp. Pathol.*, v. 136, n. 4, p. 231-239, 2007.
- NORTHRUP, N. C.; HOWERTH, E. W.; HARMON, B. G. *et al.* Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 17, n. 6, p. 561-564, 2005.
- O'KEEFE, D. A. Canine mast cell tumors. *Vet. Clin. North. Am. Small. Pract.*, v. 20, n. 4, p. 1105-1115, 1990.
- OHMORI, K.; KAWARAI, S.; YASUDA, N. *et al.* Identification of c-kit mutations-independent neoplastic cell proliferation of canine mast cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 126, n. 1-2, p. 43-53, 2008.
- PAKHRIN, B.; KANG, M. S.; BAE, I. H. *et al.* Retrospective study of canine cutaneous tumors in Korea. *J. Vet. Sci.*, v. 8, n. 3, p. 229-236, 2007.
- PARK, M. S.; KIM, Y.; KANG, M. S. *et al.* Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 18, n. 1, p. 130-133, 2006.
- 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, n. 5, p. 468-474, 1984.
- PEREIRA, J. S.; SILVA, A. B.; MARTINS, A. L. Immunohistochemical characterization of intraocular metastasis of a canine transmissible venereal tumor. *Vet. Ophthalmol.*, v. 3, n. 1, p. 43-47, 2000.
- PLATZ, S. J.; BREUER, W.; PFLEGHAAR, S. *et al.* Prognostic value of histopathological grading in canine extramedullary plasmacytomas. *Vet. Pathol.*, v. 36, n. 1, p. 23-27, 1999.
- PLOTON, D.; MENAGER, M.; JEANNESSON, P. *et al.* Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem. J.*, v. 18, n. 1, p. 5-14, 1986.
- RAMOS-VARA, J. A.; KIUPEL, M.; BASZLER, T. *et al.* Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 20, n. 4, p. 393-413, 2008.
- RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. Immunohistochemical Expression of E-cadherin Does Not Distinguish Canine Cutaneous Histiocytoma From Other Canine Round Cell Tumors. *Vet. Pathol.*, v. 48, n. 3, p. 758-763, 2011.
- RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A.; PACE, L. W. *et al.* Intestinal multinodular Al-amyloid deposition associated with extramedullary plasmacytoma in three dogs: clinicopathological and immunohistochemical studies. *J. Comp. Pathol.*, v. 119, n. 3, p. 239-249, 1998.

- RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A.; VALLI, V. E. Immunohistochemical detection of multiple myeloma 1/interferon regulatory factor 4 (MUM1/IRF-4) in canine plasmacytoma: comparison with CD79a and CD20. *Vet. Pathol.*, v. 44, n. 6, p. 875-884, 2007.
- REGUERA, M. J.; RABANAL, R. M.; PUIGDEMONT, A. *et al.* Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. *Am. J. Dermatopathol.*, v. 22, n. 1, p. 49-54, 2000.
- ROTHWELL, T. L.; HOWLETT, C. R.; MIDDLETON, D. J. *et al.* Skin neoplasms of dogs in Sydney. *Aust. Vet. J.*, v. 64, n. 6, p. 161-164, 1987.
- RUIZ, F. S.; ALESSI, A. C.; CHAGAS, C. A. *et al.* Imuno-histoquímica na patologia veterinária diagnóstica: uma revisão crítica. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, v. 41, n. 4, p. 263-270, 2005.
- SCHLAFER, D. H.; MILLER, R. B. Female genital system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER'S, N. C. *Pathology of domestic animals*. 5 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. Vol. 3, Cap. 4, p. 429-564.
- SCHRENZEL, M. D.; NAYDAN, D. K.; MOORE, P. F. Leukocyte differentiation antigens in canine cutaneous and oral plasmacytomas. *Vet. Dermatol.*, v. 9, n. 1, p. 33-41, 1998.
- SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. *Muller & Kirk: small animal dermatology*. 6. ed. Philadelphia: Saunders Company, 2001a. p. v.
- SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. Neoplastic and non-neoplastic tumors. In: _____. *Muller & Kirk: small animal dermatology*. 6. ed. Philadelphia: Saunders Company, 2001b. Cap. 20, p. 1236-1414.
- SFILIGOI, G.; RASSNICK, K. M.; SCARLETT, J. M. *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.*, v. 226, n. 8, p. 1368-1374, 2005.
- SIMOES, J. P.; SCHONING, P.; BUTINE, M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Vet. Pathol.*, v. 31, n. 6, p. 637-647, 1994.
- SMITH, K. C.; DAY, M. J.; SHAW, S. C. *et al.* Canine lymphomatoid granulomatosis: an immunophenotypic analysis of three cases. *J. Comp. Pathol.*, v. 115, n. 2, p. 129-138, 1996.
- SMITH, S. H.; GOLDSCHMIDT, M. H.; MCMANUS, P. M. A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet. Pathol.*, v. 39, n. 6, p. 651-678, 2002.
- SOUZA, T. M.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F. *et al.* Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Cienc. Rural.*, v. 36, n. 2, p.555-560, 2006.
- STREFEZZI, R. F. *Indicadores prognósticos para mastocitomas: estudo morfológico e imunoistoquímico*. 2007. 94f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10133/tde-12122007-154916/pt-br.php>. Acesso em: 20/12/2010.
- TEIXEIRA, T. F.; DA SILVA, T. C.; COGLIATI, B. *et al.* Retrospective study of melanocytic neoplasms in dogs and cats. *Braz. J. Vet. Pathol.*, v. 3, n. 2, p. 100-104, 2010.
- THAMM, D. H.; VAIL, D. M. Mast cell tumours. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN'S, E. G. *Small clinical veterinary oncology*. 5. ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2007. Cap. 19, p. 402-424.

- THAMM, D. H.; MAULDIN, E. A.; VAIL, D. M. Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor: 41 cases (1992-1997). *J. Vet. Intern. Med.*, v. 13, n. 5, p. 491-497, 1999.
- TIZARD, I. R. How inflammation is triggered. In: _____. *Veterinary immunology: an introduction*. 8 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. Cap. 2, p. 11-27.
- VAIL, D. M.; WITHROW, S. J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN'S, E. G. *Small clinical veterinary oncology*. 5. ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2007. Cap. 18, p. 375-401.
- VANGESSEL, Y. A.; MCDONOUGH, S. P.; MCCORMICK, H. J. *et al.* Cutaneous presentation of canine intravascular lymphoma (malignant angioendotheliomatosis). *Vet. Dermatol.*, v. 11, n. 4, p. 291-297, 2000.
- WANG, H. W.; TEDLA, N.; LLOYD, A. R. *et al.* Mast cell activation and migration to lymph nodes during induction of an immune response in mice. *J. Clin. Invest.*, v. 102, n. 8, p. 1617-1626, 1998.
- WEBSTER, J. D.; KIUPEL, M.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. Evaluation of the kinase domain of c-KIT in canine cutaneous mast cell tumors. *BMC. Cancer.*, v. 6, n. 85, 2006. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/6/85>. Acesso em: 20/12/2010.
- WEBSTER, J. D.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; MILLER, R. A. *et al.* Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet. Pathol.*, v. 44, n. 3, p. 298-308, 2007.
- WELLE, M. M.; BLEY, C. R.; HOWARD, J. *et al.* Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet. Dermatol.*, v. 19, n. 6, p. 321-339, 2008.
- WITHROW, S. J. Why worry about cancer in pets? In: WITHROW, S. J.; MACEWEN'S, E. G. *Small clinical veterinary oncology*. 5. ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2007b. p. xv.
- YAGER, J. A.; WILCOCK, B. P. Tumors of the skin and associated tissues. In: _____. *Color atlas and text of surgical pathology of the dog and cat: dermatopathology and skin tumors*. London : Wolfe, 1994. Vol. 1, p. 239-313.

Apêndice 1 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imuno-histoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de mastocitoma.

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
1M	7a/M	SRD	Esc	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
2M	5a/M	Poodle	Tór	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
3M	1,3a/M	Sharpei	Esc	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
4M	9a/M	SRD	Esc	MASTIII MetLRA	NR	KIT II Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
5M	13a/M	SRD	Esc	MASTI MetLI	NR	Subc: KIT II Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
6M	12a/M	SRD	Dígito (Mem)	MASTII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
7M	5,6a/F	Cocker	Mul = Orelha (Cab) e Abd	MASTII a III	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	Histiocitoma (E-caderina positivo)
8M	1a/M	SRD	Pes	MAST II a III	NR	NEG	NR	NR	Dermatite crônica ativa
9M	10a/M	SRD	Ni	MASTII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
10M	9a/M	Poodle	Abd	MASTI MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
11M	1,9a/F	SRD	Pes	MASTIII	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
12M	7a/F	Poodle	Pes	MASTIII	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (plasmócitos)	Dermatite
13M	1a/F	SRD	Mt	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T epiteliotrópico (subcutâneo e musculatura)

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local ^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
14M	6a/F	Pinsher	Ni	MASTIII	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Plasmocitoma
15M	4a/F	Poodle	Lábio (Cab)	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
16M	5a/M	Boxer	Dígito (Mp)	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
17M	12a/M	Pointer	Ni	MASTIII MetLCS	NR	Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
18M	5a/M	SRD	Face (Cab)	MASTII a III	NR	Marcação multifocal	NR	NR	Dermatite crônica ativa
19M	F	Poodle	Mul = Tór e Mp	MAST	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
20M	11m/F	Pitbull	Ni	MASTIII	NEG	NEG	Marcação na periferia	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
21M	8a/F	Fila	Mul = Tór, Dor e Mp	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
22M	6a/M	Bulldog	Dor	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico-subcutâneo)
23M	13a/F	SRD	Tíbia (Mp)	MASTIII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
24M	4a/M	SRD	Per	MASTII a III	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	Dermatite crônica
25M	10a/F	Rottweiler	Tór	MASTII a III	NEG	NEG	NEG	NEG	Dermatite crônica ativa
26M	6a/M	Cocker	Ni	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
27M	M	NI	Abd	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
28M	M	Fila	Mem	MASTIII	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Dermatite crônica ativa
29M	12a/M	Dogue Alemão	Esc	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
30M	9a/F	Poodle	Orelha (Cab)	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
31M	4a/M	Boxer	Ni	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
32M	1,5 a/F	Pointer	Mul	MASTIII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
33M	8 a/F	SRD	Mt	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
34M	14 a/M	Fila	Ni	MASTIII MetLA	NR	Pele: KIT I Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
35M	1 a/M	Pug	Interdígito (Mem)	MASTIII	NR	Marcação multifocal	NR	NR	Dermatite histiocitária e neutrofilica
36M	1 a/M	Pug	Mem	MASTIII	NR	Marcação multifocal	NR	NR	Dermatite crônica
37M	11 a/M	Cocker	Mt	MASTIII	POS	NEG	NEG	NEG	Sarcoma histiocítico localizado
38M	5 a/F	Schnauzer	Lábio (Cab)	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	Sarcoma histiocítico localizado
39M	14 a/M	SRD	Mem	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
40M	6 a/M	Yorkshire	Ni	MASTIII	NEG	NEG	NEG	POS	Plasmocitoma
41M	1 a/F	Cocker	Mp	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
42M	4 a/F	Poodle	Pálpebra (Cab)	MASTIII	Marcação multifocal	NEG	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
43M	3 a/M	Dogue Alemão	Tór	MASTIII	POS	NEG	POS	NEG	Linfoma T (epiderme ulcerada)
44M	3m/M	Cocker	Mt	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
45M	7 a/M	Boxer	Flanco (Abd)	MASTIII	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (plasmócitos)	Dermatite crônica ativa
46M	9 a/F	SRD	Mul = Mp e flanco (Abd)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
47M	11 a/M	Boxer	Esc	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
48M	8a/M	Cocker	Dígito (Mt)	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
49M	M	NI	Esterno (Tór)	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
50M	8a/F	Rottweiler	Abd	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
51M	3a/F	SRD	Tarso (Mp)	MASTIII	NEG	NEG	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
52M	2a/M	Cocker	Mem	MASTIII	NEG	NEG	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
53M	11a/M	SRD	Mul = Esc e Abd	MASTIII MetL	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
54M	12a/F	Pastor Alemão	Orelha (Cab)	MASTII a III	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	Dermatite crônica
55M	6a/F	Dogue Argentino	Mul = Tór e Dígito (Mt)	MASTI	NR	Tórax: KIT II Membros: KIT I	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
56M	5a/M	Pitbull	Mul = Esc e Pre	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
57M	12a/M	Fox Paulistinha	Esc	MASTIII MetLI	NR	Pele: KIT III Linf: NR	NR	NR	Mastocitoma
58M	9a/M	SRD	Mul = Lábio (Cab) e dorso	Lábio: MASTI Dorso: MASTIII	Marcação multifocal	Lábio: KIT I Dorso: NEG	Marcação multifocal	NEG	Mastocitoma e dermatite linfocitocitária
59M	7a/F	Pastor alemão	Flanco (Abd)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
60M	11a/M	Dachshund	Esc	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
61M	13a/M	SRD	Mul = Tór e Per	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
62M	6a/F	Boxer	Per	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
63M	8a/F	SRD	Tór	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
64M	4a/F	SRD	Mul = Dor e Mt	MASTII	NR	Mt: KIT II Dorso: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
65M	9a/F	Labrador	Metacarpo (Mt)	MASTII	NEG	NEG	NEG	POS	Plasmocitoma
66M	5a/M	Poodle	Esc	MASTII MetL	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
67M	11a/F	SRD	Orelha (Cab)	MASTI MetSE	NEG	Pele: KIT II Linf: KIT II	NEG	NEG	Mastocitoma
68M	14a/F	Cocker	Dor	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
69M	6a/M	Basset Hound	Interdígito (Mem)	MASTI	NEG	NEG	NEG	Marcação multifocal	Plasmocitoma
70M	10a/F	Poodle	Interdígito (Mem)	MASTII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
71M	14a/M	Poodle	Esc	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
72M	8a/F	SRD	Per	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
73M	F	NI	Mp	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
74M	18a/M	Dachshund	Tór	MASTII MetLA	NR	Pele: KIT II Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
75M	1a/F	Basset	Ni	MASTI	NEG	NEG	NEG	NEG	Dermatite histiocitária e neutrofílica
76M	10a/M	Poodle	Lábio (Cab)	MASTIII MetLSM	NR	Pele: KIT III Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
77M	10a/F	SRD	Ni	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
78M	5a/M	Dachshund	Tór	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
79M	F	SRD	Tór	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
80M	9a/F	Boxer	Coxa (Mp)	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
81M	3a/M	NI	Focinho (Cab)	MASTII	NEG	NEG	NEG	Marcação multifocal (plasmócitos)	Dermatite linfoplasmocitária crônica
82M	4a/M	Dachshund	Interdígito (Mem)	MASTI	NEG	NEG	NEG	NEG	Dermatite crônica
83M	13a/M	SRD	Axila (Tór)	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
84M	8a/M	Boxer	Ni	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
85M	3a/F	SRD	Tór	MASTIII	Marcação multifocal	NEG	Marcação multifocal (inamatório)	NEG	Histiocitoma (E- caderina positivo)
86M	6a/F	SRD	Dígito (Mem)	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
87M	12a/M	SRD	Esc	MASTIII MetLI	NR	Pele: KIT II Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
88M	10a/F	Boxer	Orelha (Cab)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
89M	13a/M	SRD	Axila (Tór)	MASTIII MetLPEA	NR	Pele: KIT III Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
90M	2a/F	Pit Bull	Dor	MASTIII	POS	NEG	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
91M	7a/M	Boxer	Esc	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
92M	10a/M	SRD	Pre	MASTII MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT II	NR	NR	Mastocitoma
93M	5a/F	SRD	Mul = Flanco (Abd) e Per	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
94M	3a/M	Golden Retriever	Ni	MASTIII	Marcação multifocal (inflamatório)	KIT II	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Mastocitoma
95M	M	Boxer	Tór	MASTIII	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (plasmócitos)	Dermatite piogranulomatosa
96M	4a/F	Boxer	Mul = Tór e Dor	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
97M	6a/M	Boxer	Tór	MASTII	NEG	KIT II	NEG	NEG	Mastocitoma
98M	5a/F	Sharpei	Coxa (Mp)	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
99M	3a/F	Poodle	Mp	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
100M	5a/F	Labrador	Tór	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
101M	8a/F	Pitbull	Mp	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
102M	8a/F	NI	Ni	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
103M	F	NI	Abd	MASTIII	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Dermatite profunda (subcutâneo e musculatura)
104M	11a/F	Boxer	Mul = Orelha (Cab) e Tór	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
105M	15a/M	SRD	Mp	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
106M	7a/M	Fila	Mul = Orelha (Cab), Tór, Dor e Mp	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
107M	7a/M	Pitbull	Mul = Esc, Tór e Mp	Esc: MASTIII Tór e Mp: MASTII	NR	Esc: NR Tór: KIT II Mp: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
108M	10a/M	SRD	Cau	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
109M	9a/F	Dachshund	Per	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
110M	9a	Pastor	Ni	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
111M	5a/F	SRD	Cab	MASTIII	POS	NEG	POS	Marcação multifocal (inflamatório)	Linfoma T (não epiteliotrópico)
112M	5a/M	Basset	Esc	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
113M	10a/M	NI	Abd	MASTII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
114M	5a/F	Bernese	Mt	MASTII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
115M	M	SRD	Abd	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
116M	10a/F	SRD	Abd	MASTIII MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
117M	1a/M	Schitzu	Mp	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
118M	NI	NI	Cab	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
119M	9a/F	Boxer	Úmero (Mt)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
120M	7a/F	Labrador	Ni	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
121M	10a/M	SRD	Mt	MASTIII	NR	KIT III	NR	NR	Mastocitoma
122M	7a/F	Poodle	Tór	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
123M	8a/F	Boxer	Mul = Mp e Escápula (Mt)	MASTII	NR	KIT II e KIT I	NR	NR	Mastocitoma
124M	2a/F	Boxer	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
125M	9a/F	SRD	Orelha (Cab)	MASTII MetLCS	NR	Pele: KIT III Linf: KIT III	NR	NR	Mastocitoma
126M	6a/F	Pastor	Flanco (Abd)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
127M	7a/F	Pinscher	Mp	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
128M	10a/M	Pitbull	Esc	MASTI MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
129M	F	SRD	Abd	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
130M	F	Boxer	Coxa e Joelho (Mp)	Coxa: MASTI Joelho: MASTII	NR	Coxa: KIT II e Joelho: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
131M	9a/F	Fila	Tór	MASTII	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
132M	9a/M	Boxer	Orelha (Cab)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
133M	7a/F	Dogue Alemão	Abd	MASTII	NR	NEG	NR	NR	Dermatite necrosuprativa
134M	18a/F	SRD	Abd	MASTII	POS	NEG	POS	Marcação multifocal (plasmócitos)	Linfoma T (epiteliotrópico)
135M	11a/F	Boxer	Tór	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
136M	14a/M	Poodle	Esc	MASTII MetLI	NR	Marcação multifocal	NR	NR	Dermatite e mastocitose linfática
137M	6a/F	Weimaraner	Mul = Mt e Tór	MASTI	NR	Tór: KIT I Mt: KIT II	NR	NR	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
138M	F	SRD	Mt	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
139M	9a/M	Pinscher	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT I	NR	NR	Mastocitoma
140M	9a/F	Boxer	Flanco (Abd)	MASTII MetLI	NR	Pele: KIT I Linf: KIT I	NR	NR	Mastocitoma
141M	9a/F	Pastor Belga	Coxa (Mp)	MASTI	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma
142M	11a/M	Dachshund	Mul = Esc e Coxa (Mp)	MASTIII	NR	KIT II	NR	NR	Mastocitoma

a anos (a) ou meses (m); b As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, períneo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado MAST: Mastocitoma MASTI: Mastocitoma grau I MASTII: Mastocitoma grau II MASTIII: Mastocitoma grau III MASTIIaIII: Mastocitoma grau II a III MetL: Metástase para linfonodos MetLRA: Metástase para linfonodo retroabdominal MetLI: Metástase para linfonodo inguinal MetLCS: Metástase para linfonodo cervical superficial MetLA: Metástase para linfonodo axilar MetSE: Metástase para linfonodo subescapular MetLSM: Metástase para linfonodo submandibular MetLPEA: Metástase para linfonodo pré-escapular e axilar Linf: Linfonodo Subc: Subcutâneo POS: Positivo NEG: negativo NR: não realizado

Apêndice 2 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imuno-histoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de linfoma cutâneo

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local ^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
1L	F	SRD	Ni	LC	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiderme ulcerada)
2L	19a/F	Pinsher	Ni	LC	NEG	NR	Marcção multifocal (inflamatório)	POS	Linfoma B
3L	8a/M	SRD	Cab	LC	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiderme ulcerada)
4L	6a/F	Poodle	Dígito (Mp)	LC	NEG	NEG	Marcção multifocal (inflamatório)	Marcção multifocal (inflamatório)	Histiocitoma (E-caderina positivo)
5L	6m/M	Labrador	Orelha (Cab)	LC	NEG	NEG	Marcção multifocal (inflamatório)	Marcção multifocal (inflamatório)	Histiocitoma (E-caderina negativo)
6L	10a/F	Poodle	Orelha (Cab)	LC	NEG	NEG	NEG	NEG	Sarcoma histiocítico localizado
7L	2a/M	Pitbull	Dígito (Mt)	LC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
8L	2a/F	Cocker	Escápula (Mt)	LC	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
9L	2a/M	Labrador	Esc	LC	POS	NR	POS	Marcção multifocal (inflamatório)	Linfoma T (não epiteliotrópico)
10L	F	NI	Mul	LCNE	NEG	NR	NEG	NEG	Lipossarcoma
11L	13a/F	SRD	Tór	LC	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
12L	2 a/F	Cocker	Mt	LC	NEG	NEG	Marcção multifocal (inflamatório)	Marcção multifocal (inflamatório)	Histiocitoma (E-caderina positivo)

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local ^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
13L	5a/M	Cocker Spaniel	Orelha (Cab)	LCE	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
14L	14a/F	Cocker	Lábio Inferior (Cab)	LC	POS	NR	POS	Marcação multifocal (inflamatório)	Linfoma T (epiteliotrópico)
15L	5a/M	Bull Terrier	Orelha (Cab)	LC	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
16L	5a/F	Shitzu	Tór	LC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
17L	7a/F	Weimaraner	Mp	LC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
18L	7a/F	Cocker	Pes	LC	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
19L	7a/M	Pincher	Mp	LCNE	POS	NR	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
20L	5a/F	Rottweiler	Mul = Úmero e escápula (Mt), Dor e Tór	LC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
21L	1a/M	SRD	Mp	LC	NEG	KIT III	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	Mastocitoma
22L	10a/M	Schnauzer	Face (Cab)	LC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T epiteliotrópico

a anos (a) ou meses (m)

b As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, perineo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado

LC: Linfoma cutâneo LCE: Linfoma cutâneo epiteliotrópico LCNE: Linfoma cutâneo não-epiteliotrópico POS: positivo NEG: negativo NR: não realizado

Apêndice 3 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imuno-histoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de histiocitoma, histiocitoma maligno, histiocitose cutânea maligna, plasmocitoma e tumor venéreo transmissível.

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
1H	14a/M	Pequinês	Tór	HC	NEG	KIT II	NEG	NEG	Mastocitoma
2H	2a/M	Akita	Ni	HC	NEG	NEG	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
3H	1a/F	Fila	Mt	HC	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
4H	2,6a/F	Boxer	Coluna toracolombar (Dor)	HC	NEG	NR	NEG	NEG	Dermatite por <i>Leishmania SP</i>
5H	5a/F	SRD ^b	Axila (Tór)	HC	NEG	KIT II	NEG	NEG	Mastocitoma
6H	7a/M	SRD	Pre	HC	NEG	NR	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
7H	5a/M	Cocker	Dígito (Mem)	HC	NEG	NEG	NEG	NEG	Plasmocitoma
8H	7a/M	SRD	Focinho (Cab)	HC	NEG	KITIII	NEG	NEG	Mastocitoma
9H	4a/M	SRD	Dígito (Mem)	HC	NEG	NEG	NEG	POS	Plasmocitoma pouco diferenciado
10H	7a/M	Fila	Mul	HM	NEG	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
11H	8a/F	Pinsher	Ni	HM	NEG	KIT III e KIT I	NEG	NEG	Mastocitoma
12H	11a/M	SRD	Esc	HC	NEG	KIT III	NEG	NEG	Mastocitoma
13H	F	SRD	Dígito (Mem)	HC	NEG	NR	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	Dermatite crônica
14H	M	SRD	Abd	HC	NEG	KIT III	NEG	NEG	Mastocitoma

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
15H	12a/M	Dogue alemão	Esc	HC	POS	NR	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
16H	M	SRD	Esc	HC	NEG	KIT II	NEG	NEG	Mastocitoma
17H	2a/M	Boxer	Cab	HC	NEG	NR	NEG	NEG	Dermatite
18H	12a/F	SRD	Coxim (Mt)	HC	NEG	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Sarcoma histiocítico localizado (E-caderina negativo)
19H	5a/F	Boxer	Orelha (Cab)	HC	NEG	NR	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Dermatite crônica
20H	10a/M	SRD	Tór	HC	Marcação multifocal (inflamatório)	NR	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
21H	1a/F	Boxer	Pes	HC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiderme ulcerada)
22H	7m/M	Boxer	Ni	HC	NEG	KIT I	NEG	NEG	Mastocitoma
23H	2a/F	Dogue alemão	Orelha (Cab)	HC	POS	NR	POS	Marcação multifocal (plasmácitos)	Linfoma T (epiteliotrópico)
24H	2a/M	Bull Terrier	Orelha (Cab)	HC	NEG	KIT III	NEG	NEG	Mastocitoma
25H	1a/F	SRD	Tór	HC	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (não epiteliotrópico)
26H	1,9a/F	Cocker	Dor	HC	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
27H	9a/F	Pastor alemão	Abd	HC	NEG	NR	POS	Marcação multifocal (inflamatório)	Linfoma T (epiderme ulcerada)

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
28H	6m/F	Dachshund	Ni	HC	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
29H	3m/M	Labrador	Orelha (Cab)	HC	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma ((E-caderina positivo)
30H	11a/F	Cocker	Tór	HCM	POS	NR	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)
31H	13a/M	Yorkshire	Mul = Mt e Dor	HM	POS	NEG	NEG	NEG	Sarcoma histiocítico localizado
32H	M	Poodle	Abd	HC	NEG	NR	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Plasmocitoma
33H	NI	Ni	Mem	HC	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
34H	5a/M	Pinsher	Interdígito (Mem)	HC	POS	NR	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
35H	1a/M	Poodle	Tór	HC	POS	NR	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina positivo)
37H	11a/F	Boxer	Abd	HCM	NEG	NEG	NEG	NEG	Sarcoma histiocítico localizado
38H	1a/F	SRD	Flanco (Abd)	HC	POS	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (periferia)	Histiocitoma (E-caderina positivo)
1P	13a/F	Cocker	Lábio (Cab)	PLASM	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
2P	3a/M	Dachshund	Pes	PLASM	NEG	NR	NEG	NEG	Dermatite linfoplasmocitária neutrofilica

Cão	Idade^a/Sexo	Raça	Local	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
3P	M	Basset	Mp	PLASM	NEG	NR	Marcação multifocal	Marcação multifocal	Dermatite crônica ativa
4P	11a/F	Cocker	Mt	PLASM	NEG	NR	NEG	POS	Plasmocitoma
5P	F	SRD	Orelha (Cab)	PLASM	NEG	NR	NEG	POS	Plasmocitoma
1T	F	SRD	Mul = Pes, Mp e esterno (Tór)	TVT	POS	NR	Marcação multifocal (inflamatório)	Marcação multifocal (inflamatório)	TVT (vimentina positivo)

a anos (a) ou meses (m)

b As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, períneo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado

HC: Histiocitoma cutâneo HM: Histiocitoma maligno HCM: Histiocitose cutânea maligna PLASM: Plasmocitoma TVT: Tumor venéreo transmissível POS: Positivo NEG: negativo NR: não realizado

Apêndice 4 - Idade, sexo, raça, localização anatômica, diagnóstico histológico, imuno-histoquímica e diagnóstico final dos animais com diagnóstico histológico de neoplasia de células redondas.

Cão	Idade ^a /Sexo	Raça	Local ^b	Diagnóstico HE	CD45	CD117	CD3	CD79	Diagnóstico Final
1CR	8a/F	SRD	Mul	NCR	NEG	NEG	NEG	NEG	Dermatite
2CR	M	Rottweiler	Orelha (Cab)	NCR	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
3CR	F	Yorkshire	Pálpebra inferior (Cab)	NCR	NEG	NR	NEG	NEG	Dermatite
4CR	9a/M	Poodle	Abd	NCR	NEG	NR	NEG	POS	Linfoma B
5CR	3a/F	Pug	Lábio superior (Cab)	NCR	NEG	NEG	NEG	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
6CR	10a/F	SRD	Dor	NCR	NEG	NEG	NEG	NEG	TVT (vimentina positivo)
7CR	8m/M	Beagle	Rádio (Mt)	NCR	NEG	NEG	Marcação multifocal (inflamatório)	NEG	Histiocitoma (E-caderina negativo)
8CR	8a/F	Cocker	Lábio inferior (Cab)	NCR	POS	NEG	Marcação na periferia (inflamatório)	POS	Linfoma B
9CR	10a/M	Cocker	Lábio (Cab)	NCR	POS	NEG	POS	NEG	Linfoma T (epiteliotrópico)

a anos (a) ou meses (m)

b As siglas Cab, Pes, Tór, Abd, Dor, Mem, Mt, Mp, Per, Pre, Esc, Mul, Ni correspondem as localizações anatômicas: cabeça, pescoço, tórax, abdômen, dorso, membros, membro torácico, membro posterior, períneo, prepúcio, escroto, multicêntrico e não informado POS: Positivo NEG: negativo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 171/2009**, relativo ao projeto intitulado "**Estudo prospectivo e retrospectivo de tumores cutâneos em cães e diferenciação pela imunoistoquímica**", que tem como responsável(is) **Roselene Ecco**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **25/ 11/2009**.

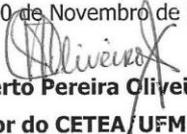
Este certificado expira-se em **25/ 11/ 2014**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 171/2009**, related to the project entitled "**Prospective and retrospective study of canine skin tumors and immunohistochemical differentiation**", under the supervisors of **Roselene Ecco**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **November 25, 2009**.

This certificate expires in **November 25, 2014**.

Belo Horizonte, 30 de Novembro de 2009.


Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

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) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@proq.ufmg.br

(Mod.Cert. v1.0)