

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO
E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES

CAROLINA RIBEIRO DOS SANTOS

ORIENTADORA:
Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

TUTORA:
Dra. Leonor Vital Iglésias

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO
E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES

CAROLINA RIBEIRO DOS SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Jorge Manuel Jesus Correia

VOGAIS:

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

Doutora Ana Margarida Pedroso de Oliveira

ORIENTADORA:

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

TUTORA:

Dra. Leonor Vital Iglésias

Nome: Carolina Ribeiro dos Santos

Título da Tese ou Dissertação: INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 09 de outubro de 2025

Assinatura:

Caroline Ribeiro dos Santos

Agradecimentos

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão a todos os que contribuíram para a conclusão desta etapa tão importante, de forma direta ou indireta. Não foi um percurso fácil, mas com o apoio de todos foi possível realizar este sonho.

Em primeiro lugar à Doutora Luísa Mateus, por todo o apoio, orientação e incentivo fornecidos ao longo de todo o processo. Obrigada também por toda a paciência que teve perante as minhas inconformidades e crises existenciais ocasionais.

À Dra Leonor Iglésias, por todo o suporte, paciência e aprendizagem que despendeu comigo durante a realização do estágio e por todos os momentos em que me fez sorrir por detrás de uma máscara cirúrgica, mesmo estando horas a afastar vísceras ou a expor nasofaringes até deixar de sentir os dedos das mãos.

A toda a equipa do HEV-FMV, por todo o carinho, paciência e cuidado que tiveram comigo, por todos os ensinamentos e pela ajuda imediata disponibilizada sempre que precisava. Marcaram-me como pessoa e como futura médica veterinária, e por isso estou imensamente grata. Em especial à Dra Inês Lobo, Dra Ana Filipe, Dr Gonçalo Vicente, enfermeiros Marta, André, Patrícia e Raquel, por toda a ajuda, ensinamentos e oportunidades de “caçar” jugulares e pelo impacto positivo que tiveram na minha evolução como pessoa.

À equipa de Reprodução do HEV, em especial à Dra Inês Machado, obrigada por todos os ensinamentos, palavras carinhosas e encorajadoras e ensinamentos de vida. Sem si provavelmente continuaria a bater com a cabeça nas paredes numa busca infundável por neonatos. Obrigada por todas as vezes em que se lembrou de mim, me chamou para ver cesarianas e ajudar a reanimar neonatos.

À equipa de Cirurgia do HEV, obrigada por me fazerem sentir em casa, por me terem introduzido nesta família disfuncional, por todos os ensinamentos, por todas as palestras particulares sobre a máquina anestésica e ventiladores, e por me darem oportunidade de realmente sentir um “cheirinho” do que é este vício da cirurgia. Obrigada, especialmente à Mafalda por ter sido mais que professora, mas amiga. Sem ti não tinha adorado tanto estar lá, obrigada por tudo. À Dra Joana Brilhante, Dra Vanessa, enfermeiros Daniel e Luís, obrigada por todas as oportunidades de “meter a mão na massa”, gargalhadas e fofocas que partilhámos.

A todos os amigos que fiz no estágio, em especial à Alexa, Inês, Bia, Francisco, Márcia e Carolina, pela relação que construímos mesmo quando nunca nos tínhamos falado antes, por todos os almoços acompanhados de gargalhadas e fofoca, por todos os momentos em que precisei de apoio e mesmo sem se aperceberem melhoraram o meu dia. Vou guardar para sempre na memória estes momentos e estes estagiários incríveis do HEV-FMV.

A todos os meus amigos, em especial à Mariana, Rita, Cláudias, Carlota, Inês, Henrique, Manuel, João, Gabriel e Guilherme, o meu sincero obrigada pela amizade e apoio incondicional ao longo destes 6 anos. Sofremos juntos, mas compensou.

Ao José Ferreira, pelo carinho, paciência extrema e apoio incondicional nestes últimos dois anos. Obrigada pelas discussões de casos clínicos em véspera de exame, pelas tentativas (quase sempre falhadas) de me tranquilizar e por querer ler o texto que ia escrevendo mais rápido do que eu o escrevia.

À minha família, tanto a de Lisboa como à de Castelo de Paiva, o meu obrigada não chega. Cada um de vocês contribuiu de uma forma diferente e especial para o meu crescimento enquanto pessoa e futura médica veterinária. Em especial aos meus pais e irmãos, que estiveram comigo sempre e nunca me deixaram desistir, mesmo quando as coisas não pareciam a meu favor, e que mesmo sem entenderem ouviram os meus desabafos e fingiram que compreenderam tudo.

Ao meu avô, que partilhou comigo não só a data de aniversário, mas também o amor incondicional pelos animais, não me conseguiste ver chegar à “meta”, mas deste o empurrão final. Onde quer que estejas, sei que estarás orgulhoso de mim.

Em último lugar, mas não menos importante, à Malia, luz da minha vida. Sem ti não estaria sequer a escrever estes agradecimentos. Desde que te fui buscar que soube que serias a minha maior companheira, parceira de estudos até de madrugada e memória constante do porquê continuar a estudar. Vais para sempre ser a minha alegria constante nos dias mais escuros.

A todas as pessoas que não foram referidas, mas que tiveram um impacto imensurável no meu percurso, em especial à Paula e ao Dr Hugo do OneVet Tapada das Mercês, por todas as oportunidades, por me terem recebido de braços abertos e por todos os ensinamentos. À equipa do No Stress treino canino, pelos anos de amizade, apoio e partilha de amor pelos cães, em especial à Paula, Susana e Appia.

INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES

Resumo

O mastocitoma representa a neoplasia cutânea maligna mais frequente na espécie canina, representando 10 a 21% das neoplasias cutâneas diagnosticadas nesta espécie. A sua variabilidade clínica e biológica torna o diagnóstico e tratamento desafiante, sendo o grau histológico o principal preditor de prognóstico. O diagnóstico centra-se na interpretação da história e apresentação clínicas, realização de exames complementares como a PAAF, hemograma e parâmetros bioquímicos e de um mais ou menos extenso processo de estadiamento, dependendo da avaliação de cada caso. Determinadas localizações anatómicas, como as regiões genital e perineal, têm sido associadas a um comportamento mais agressivo e prognóstico reservado, contudo, a informação acerca desta temática é escassa e pouco explorada cientificamente.

No âmbito da presente dissertação foi realizado um estudo retrospectivo de casos de mastocitomas cutâneos em cães localizados nas regiões genital, perineal e noutras áreas do corpo, com o objetivo de avaliar o impacto de fatores clínico-patológicos e a influência da localização no prognóstico. Os dados analisados, relativos aos 50 cães diagnosticados entre 1 de janeiro de 2011 e 31 de dezembro de 2022, no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, revelaram que o desenvolvimento de metástases após o tratamento teve influência negativa significativa no prognóstico, e que a localização genital e perineal apresentou tendência para um comportamento biológico mais agressivo e, portanto, prognóstico mais reservado comparativamente a mastocitomas cutâneos localizados noutras regiões anatómicas, embora sem significância estatística associada, e que o fator grau histológico apresentou impacto clínico nesta vertente. Através deste estudo foi possível estabelecer, também, padrões de prevalência da doença na comunidade seguida no hospital e caracterizar a amostra populacional afetada.

Os resultados obtidos reforçam o conceito de que o prognóstico não se deve basear unicamente na localização tumoral, mas sim numa avaliação integrada de múltiplos fatores clínico-patológicos, de forma a estabelecer não só uma melhor orientação terapêutica, mas também melhorar a comunicação com o tutor, de forma a gerir expectativas.

Palavras-chave: cães, mastocitoma cutâneo, genitália animal, períneo, prognóstico.

INFLUENCE OF GENITAL AND PERINEAL LOCATION ON CLINICAL BEHAVIOR AND PROGNOSIS OF CUTANEOUS MAST CELL TUMORS IN DOGS

Abstract

Mast cell tumors (MCTs) are the most common malignant cutaneous neoplasms in dogs, accounting for approximately 10 to 21% of all diagnosed skin tumours in this species. Their clinical and biological variability poses a significant challenge in both diagnosis and treatment, with histological grading considered the most reliable prognostic indicator. Diagnosis is based on clinical history and presentation, supported by complementary exams such as fine needle aspiration (FNA), complete blood count, biochemical profiling, and a more or less extensive staging process depending on the individualized assessment of each case. Anatomical locations such as the genital and perineal regions have historically been associated with more aggressive biological behaviour and a poorer prognosis; however, scientific data on this subject remain scarce.

This dissertation presents a retrospective study of cutaneous MCTs in dogs located in the genital, perineal, and other body regions, aiming to evaluate the prognostic impact of clinicopathological factors and tumour location. The data, collected from 50 dogs diagnosed between January 1, 2011, and December 31, 2022, at the Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, showed that post-treatment metastasis development significantly worsened prognosis. Additionally, MCTs located in the genital and perineal areas exhibited a trend toward more aggressive behaviour and poorer outcomes compared to those located elsewhere, although the lack of statistical significance. Histological grade also showed relevant clinical impact. This study further allowed for the identification of disease prevalence patterns within the hospital's patient population and provided a demographic and clinical characterization of the affected animals.

These findings support the notion that prognosis should not rely solely on tumour location, but rather on an integrated evaluation of multiple clinicopathological factors, in order to improve therapeutic decision-making and enhance communication with the animal's guardian, allowing for more realistic expectation management.

Keywords: dogs, mast cell tumour, animal genitalia, perineum, prognosis.

ÍNDICE

Agradecimentos	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	x
Lista de Gráficos	xi
Lista de abreviaturas ou siglas	xii
I. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio	1
II. Revisão Bibliográfica.....	5
1. Introdução.....	5
2. Mastocitoma em cães	5
3. Etiologia e Fatores de Risco	6
3.1. Fisiopatologia.....	6
3.2. Predisposição Racial.....	6
3.3. Impacto do sexo, idade e estatuto sexual	6
4. Diagnóstico.....	7
4.1. Diagnóstico Clínico	7
4.2. Diagnóstico Laboratorial.....	10
5. Estadiamento.....	13
5.1. Ultrassonografia	14
5.2. Radiografia.....	15
5.3. Tomografia Computorizada (TC).....	15
5.4. Sistemas de estadiamento de MCT	16
6. Tratamento e Maneio Clínico	16
6.1. Terapêutica Local.....	17
6.2. Terapêutica Sistêmica.....	21
6.3. Tratamento Médico ou Paliativo	23
7. Prognóstico.....	24
7.1. Fatores de Prognóstico	24
7.2. Diferenças entre mastocitomas genitais e perineais e mastocitomas noutras localizações anatómicas.....	28
III. INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES.....	29
1. Introdução.....	29
2. Objetivos.....	29

3.	Materiais e métodos.....	30
3.1.	Recolha de casos.....	30
3.2.	Crítérios de inclusão e exclusão.....	31
3.3.	Parâmetros de estudo.....	31
3.4.	Análise estatística.....	32
4.	Resultados.....	34
4.1.	Caracterizao da amostra.....	34
4.2.	Fatores relativos ao prognóstico.....	41
4.3.	Comparao do prognóstico entre os dois grupos.....	45
5.	Discussão.....	48
5.1.	Limitaes e perspectivas futuras.....	55
6.	Conclusão.....	56
7.	Referências bibliográficas.....	57

Lista de Figuras

- Figura 1: Diferentes apresentações de mastocitoma cutâneo: a) escrotal; b) perineal; c) prepucial (Original)..... 8
- Figura 2: Citologias de mastocitomas cutâneos (ampliação da objetiva 40x). As setas vermelhas sinalizam exemplos de mastócitos neoplásicos (Original).....10

Lista de Tabelas

Tabela 1: Classificação histológica segundo o sistema de Patnaik. Adaptado de (London and Thamm 2019).....	12
Tabela 2: Sistema de estadiamento de MCT proposto pela OMS. Adaptado de (London and Thamm 2019).....	16
Tabela 3: Frequências absoluta e relativa do sexo e estatuto sexual dos animais da amostra.	35
Tabela 4: Frequências absoluta e relativa das raças representadas na amostra populacional.	36
Tabela 5: Tabelas de contingência com os valores observados, esperados e totais de graus de Patnaik agrupados pela categoria de braquicefalia da raça.	40
Tabela 6: Teste de Qui-quadrado de independência, aplicado aos valores exibidos na tabela 5.	40
Tabela 7: Post Hoc Test (Teste dos resíduos ajustados).....	41
Tabela 8: Análise de sobrevivência multivariada de regressão de Cox.	42
Tabela 9: Sumário dos eventos.	45
Tabela 10: Teste Log-rank (análise das diferenças).	46
Tabela 11: Análise de Regressão de Cox univariada.	47
Tabela 12: Sobrevivência estimada aos 1 e 2 anos após conclusão (ou não) da quimioterapia adjuvante.....	47

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Número de semanas despendidas em cada especialidade do HEV-FMV.....	1
Gráfico 2: Frequência absoluta das idades da amostra populacional em estudo.....	34
Gráfico 3: Frequência absoluta do porte dos Grupos A e B.....	37
Gráfico 4: Frequência relativa da localização neoplásica nos indivíduos constituintes dos grupos A e B.	38
Gráfico 5: Frequência relativa da presença e ausência de síndromes paraneoplásicas, aquando do diagnóstico inicial.....	39
Gráfico 6: Frequência relativa da mortalidade, por grupo e grau histológico.....	44
Gráfico 7: Frequência absoluta da mortalidade associada à localização anatómica da neoplasia.....	45
Gráfico 8: Curvas de Sobrevivência de Kaplan-Meier.....	46

Lista de abreviaturas ou siglas

bFGF: Fator Fibroblástico básico, do inglês basic fibroblast growth factor

cm: Centímetro

EV: Endovenosa

FR: Frequência relativa

GI: Gastrointestinal

HEV-FMV: Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

HPF: Campo de maior ampliação, do inglês High Power Field

HR: Razão de risco, do inglês Hazard Ratio

IC95%: Intervalo de confiança a 95%

IL: Interleucina

IM: Índice Mitótico

IT: Intratumoral

ITD: Duplicação interna em Tandem, do inglês Internal Tandem Duplication

Kg: Quilograma

LNS: Linfonodo sentinela

MCT: Mastocitoma

mg: Miligrama

mg/kg: miligramas por quilograma

mg/m²: Miligrama por metro quadrado

mL: Mililitro

mm: milímetro

n: Frequência absoluta

NK: Natural Killer

OMS: Organização Mundial de Saúde

p: p-value ou nível de significância estatística observado

PAAF: Punção Aspirativa com Agulha Fina

RM: Ressonância Magnética

RTK: Recetor Tirosina Quinase, do inglês Receptor Tyrosine Kinase

SCF: Fator de células tronco, do inglês Stem cell Factor

TC: Tomografia Computorizada

TKI: Inibidores da Tirosina Quinase, do inglês Tyrosine Kinase Inhibitors

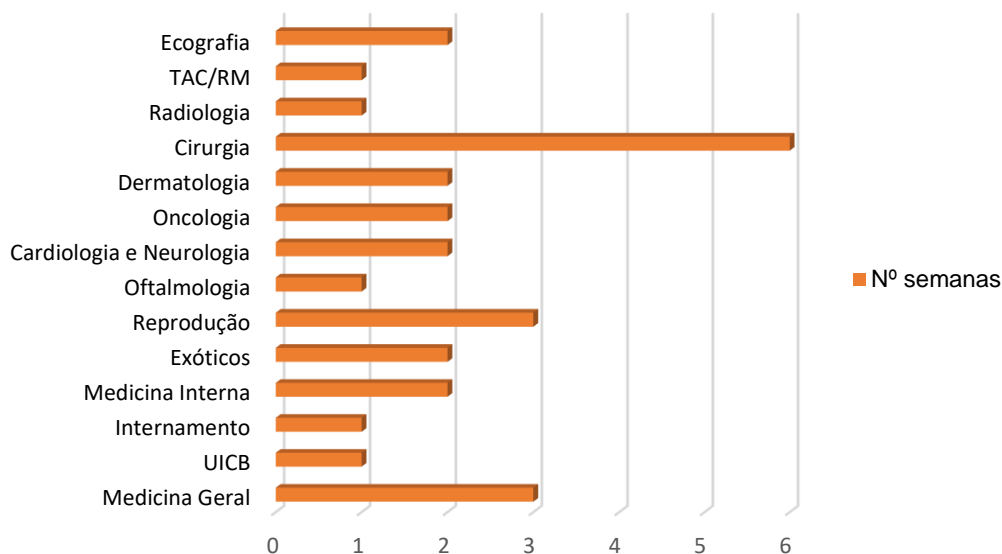
TT: Tiglato de Tigilanol

I. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular teve lugar no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV), no espaço temporal entre 9 de setembro de 2024 e 7 de março de 2025, perfazendo um total de 6 meses e uma média de 1200 horas. Ao longo destes 6 meses tive oportunidade de acompanhar as diferentes especialidades existentes no hospital bem como as suas rotinas diárias sob a supervisão da Doutora Luísa Mateus e da Dra Leonor Iglésias, que me foram orientando durante o meu percurso. As rotações que efetuei, bem como o número de semanas despendidas em cada uma encontram-se ilustrados no **gráfico 1**.

Ao longo do estágio pude aplicar de forma prática todos os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária, com foco no pensamento e diagnóstico clínicos, auxílio em cirurgias, desenvolvimento de competências na relação interpessoal e na comunicação adequada com tutores, não esquecendo também o desenvolvimento de capacidades de liderança e trabalho numa equipa multidisciplinar, o que contribuiu para o meu desenvolvimento pessoal, profissional e técnico como futura médica veterinária.

Gráfico 1: Número de semanas despendidas em cada especialidade do HEV-FMV.



Na especialidade de Medicina Geral tive oportunidade de rever e aprofundar conhecimento sobre componentes importantes como esquemas vacinais, abordagem às principais urgências médico-cirúrgicas, manejo de doenças crónicas e cuidados paliativos e comunicação correta com o tutor, não esquecendo a gestão de conflitos e comunicação de situações difíceis.

Durante a rotação na Unidade de Isolamento e Contenção Biológica (UICB) aprendi sobre regras importantes de biossegurança, abordagens de diagnóstico clínico e laboratorial de diversas doenças infetocontagiosas, bem como os seus impactos na saúde do animal a

curto e longo prazos. Tive ainda oportunidade de acompanhar o médico de serviço em várias consultas e reavaliações de animais, bem como a passagem dos casos entre os turnos da manhã e os turnos da tarde, discutindo a melhor abordagem a cada caso em específico.

Durante a semana no Internamento tive oportunidade de assistir às passagens de casos de manhã, ajudar na gestão do internamento em termos de administração de medicações, alimentação e passeios individuais, entre outros cuidados específicos agendados para cada animal. Desta forma estive presente em momentos de discussão de ideias e abordagens em relação a cada animal, com intervenção dos vários representantes de cada especialidade. Ajudei também na realização de exames físicos diários a todos os animais, acompanhando a evolução clínica dos mesmos e participando ativamente na realização de contenção, colheitas de sangue e outros testes de diagnóstico necessários. Sem contar com esta semana realizei ainda um total de 9 turnos noturnos, contabilizando um total de 108 horas, aproximadamente.

Na rotação de Exóticos acompanhei diariamente a médica veterinária de serviço em consultas de várias espécies, desde pequenos mamíferos (como lagomorfos, porquinhos-da-índia e chinchilas), aves (como canários, columbiformes e alguns psitacídeos) até répteis (como dragões barbudos, camaleões e píton). Desta forma aprendi como fazer um exame de estado geral sumário, principais cuidados, principais doenças e urgências e como as abordar.

Em Reprodução, a área principal do meu estágio, acompanhei a professora e a médica veterinária da especialidade nas várias consultas com criadores para seguimento do estro, inseminação artificial (no caso de ser necessária), diagnóstico de gestação e seguimento da mesma. Tive ainda oportunidade de assistir a várias consultas de aconselhamento de controlo reprodutivo, adaptando cada abordagem a cada animal, considerando a idade do mesmo e as alterações comportamentais que apresenta. Adquiri conhecimento sobre as principais doenças do sistema reprodutor de machos e fêmeas e como as abordar.

Em Oftalmologia acompanhei as inúmeras consultas de especialidade diárias, bem como alguns procedimentos cirúrgicos, tais como Faco emulsificação, Eletrorretinografia (ERG), correção de entrópion e remoção de nódulos palpebrais.

Na rotação de Cardiologia tive oportunidade de contactar com vários problemas, bem como acompanhar alguns procedimentos médicos tais como a aplicação de Holter e realização de ecocardiografia. Aprendi a detetar situações urgentes do foro cardíaco, tais como tamponamento cardíaco e a efusão pericárdica. Na rotação de Neurologia tive oportunidade de acompanhar alguns procedimentos médicos tais como recolha de líquido cefalorraquidiano, aprendi também a fazer um exame neurológico sumário e o maneio de convulsões.

Durante as 2 semanas que passei em Oncologia aprofundi competências práticas como realização de exame de estado geral completo, as várias etapas de diagnóstico de

problemas oncológicos e os vários procedimentos que podemos utilizar para tentar chegar a um diagnóstico definitivo da forma mais segura e conservadora para o animal (como biópsias cirúrgicas, punção aspirativa com agulha fina (PAAF) e pesquisa de marcadores tumorais específicos).

Na especialidade de Dermatologia aprimorei várias competências necessárias, tais como os diferentes tipos de colheita de amostras para avaliação citológica (fita-cola, aposição, raspagem), abordagem aos problemas mais comuns como a dermatite atópica, otites e piodermites e hotspots, utilização racional de antibióticos e utilização de novas terapias dirigidas inovadoras. Aprimorei ainda as minhas habilidades no que toca a recolha de anamnese clínica e de comunicação com os tutores.

Na especialidade de Cirurgia foi onde passei mais tempo, o que me permitiu desenvolver várias competências técnicas e pessoais. Auxiliei no preenchimento dos Check Lists pré-cirúrgicos junto dos tutores, auxiliei na indução anestésica dos animais através da colocação de cateteres endovenosos, entubação oro traqueal, preparação e administração de fármacos e reconhecimento dos vários planos anestésicos, realização de tricotomia e lavagem assética do campo cirúrgico. Tive ainda oportunidade de auxiliar em várias cirurgias ortopédicas (como TPLO, recessão da cabeça femoral, artrodeses complexas), cirurgias de tecidos moles (como biópsias, gastrostomia e enterotomia para exérese de corpos estranhos, colocação de sonda esofágica, ablação total do conduto auditivo externo, colocação de bypass ureteral subcutâneo, entre outras) e treinei a arte de fazer destartarizações e polimentos dentários. No campo das cirurgias de tecidos moles consegui ainda realizar de forma independente (com supervisão) cirurgias eletivas de controlo reprodutivo em cães e gatos de ambos os sexos. Aprendi ainda a realizar notas de alta, fazer contactos pós-cirúrgicos com os tutores e posteriormente a explicar aos tutores os cuidados a ter em casa e a fazerem a gestão da administração das medicações.

Nas 2 semanas da rotação na Imagiologia passei uma das semanas a acompanhar os vários exames diários realizados por Tomografia Computorizada (TC) e Ressonância Magnética (RM) e a outra semana no serviço de Radiologia, a acompanhar a realização de exames programados e de urgência. Na TC/RM pratiquei habilidades técnicas essenciais, como colocação de cateter endovenoso, monitorização anestésica e entubação oro traqueal, assim como identificar os principais planos anestésicos. Na Radiologia auxiliei no posicionamento dos animais, aprendi sobre os diferentes posicionamentos específicos para certos exames e aprofundei conhecimentos na temática da interpretação de radiografias.

Na rotação de Ecografia, onde passei 2 semanas, auxiliei na contenção dos animais durante os exames, aprofundei conhecimentos gerais sobre interpretação dos achados ecográficos de vários sistemas e tive oportunidade de realizar ecografias sumárias para treino próprio, de forma a entender como trabalhar com os vários parâmetros do ecógrafo e as

diferentes sondas. Tive ainda possibilidade de treinar procedimentos básicos e essenciais, como por exemplo a cistocentese, e observar e auxiliar em procedimentos médicos, como por exemplo lavagem asséptica de SUB (Subcutaneous Ureteral Bypass), biópsias tru-cut e punções ecoguiadas de estruturas alteradas (como massas, linfonodos e órgãos).

Na rotação de Medicina Interna tive oportunidade de acompanhar diversos casos clínicos de maior e menor complexidade, e foi possível, ainda, assistir à realização de alguns procedimentos com finalidade diagnóstica (como por exemplo endoscopia e rinoscopia para avaliação da anatomia local e obtenção de amostras) e também terapêutica (como por exemplo sessões de correção de estenose esofágica, com recurso a dilatação da zona estenosada com balão).

II. Revisão Bibliográfica

1. Introdução

Ao longo dos anos os animais de companhia adquiriram uma importância crescente na vida do Homem e na sua dinâmica do quotidiano, sendo fundamentais não só na perspectiva de bem-estar emocional e alívio de stress como também no auxílio no caso dos cães de serviço (cães guia, cães de assistência médica e de suporte emocional, por exemplo) (North and Banks 2009).

A busca contínua pela melhor e mais personalizada nutrição, atenção a fatores de risco ambientais, prevenção contínua de doenças infecciosas e diagnóstico e tratamento precoce das mais diversas doenças contribuiu para o aumento médio da esperança de vida, levando ao aparecimento de novas doenças relacionadas com a idade avançada dos animais, nomeadamente várias neoplasias (Hampel et al. 2024).

As neoplasias da pele e tecidos subcutâneos são as mais frequentes na espécie canina, representando 1/3 do total destas anomalias, sendo estimado que 450 por 100000 cães por ano terão sido diagnosticados com estes subtipos de neoplasia (Brodey 1970; Priester 1973a; Finnie and Bostock 1979a; Bostock 1986a; Rothwell et al. 1987a).

Dentro dos vários subtipos de neoplasias cutâneas e do tecido conjuntivo conhecidos, o mastocitoma é o mais frequente no cão, representando 10 a 21% dos casos, e o segundo mais frequente no gato (Tamlin et al. 2020a).

2. Mastocitoma em cães

A proliferação descontrolada de mastócitos neoplásicos tem o nome de mastocitoma (MCT), sendo que a sua forma sistémica adquire o nome de mastocitose (London and Thamm 2019). É ainda reportada uma forma que, embora considerada rara, apresenta pior prognóstico a longo prazo: mastocitose visceral primária (Takahashi et al. 2000).

A ampla dispersão de mastócitos no organismo contribui para a sua variabilidade de funções, exercendo um papel importante não só do ponto de vista imunológico, mas também em vários processos fisiológicos e reguladores da homeostasia, tais como reparação de tecidos, cicatrização de feridas e angiogénese (da Silva et al. 2014). Estas células, durante a sua diferenciação, adquirem os seus característicos grânulos citoplasmáticos metacromáticos, que armazenam diversas substâncias bioativas, como por exemplo heparina, histamina, proteases, fatores de crescimento (fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e fator fibroblástico básico (bFGF), por exemplo, mediadores lipídicos (como leucotrienos e prostaglandinas), pré-fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), serotonina, fator ativador de plaquetas, fatores quimiotáticos de eosinófilos e diversas citocinas que incluem as Interleucinas (IL) IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, entre outros (Wright 2020).

3. Etiologia e Fatores de Risco

3.1. Fisiopatologia

A etiologia e fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento de mastocitoma na espécie canina são, em grande parte, ainda desconhecidos (London and Thamm 2019), embora resultados de vários estudos, incluindo o *Cutaneous MCTs: Associations with Spay/Neuter Status, Breed, Body Size, and Phylogenetic Cluster* suportem uma etiologia multifatorial, com impacto de fatores genéticos, hormonais, entre outros, a contribuir para o desenvolvimento da doença (White et al. 2011). Embora a sua fisiopatologia não seja ainda compreendida, diversas mutações genéticas foram correlacionadas, com sucesso, com aumento do risco para o desenvolvimento da doença (Arendt et al. 2015). A mutação mais estudada e a que tem, muito provavelmente, maior efeito preditivo no que toca ao comportamento biológico do tumor e subsequente resposta ao tratamento e prognóstico é a mutação no Recetor Tirosina Quinase (RTK) KIT (London and Thamm 2019). No caso dos mastocitomas foi comprovado que existe uma disfunção e sobre ativação desta proteína independente do ligando *Stem Cell Factor* (SCF), causada por vários fatores (London et al. 1996; Reguera et al. 2000; Kiupel et al. 2004a; Morini et al. 2004; Halsey et al. 2017). Um destes fatores é uma mutação no gene c-kit, existente em cerca de 10-45% dos mastocitomas identificados em cães, sendo que 25-30% ocorre em cães com mastocitomas de grau intermédio e alto grau, que ocorre mais comumente sob a forma de *Internal Tandem Duplication* (ITD) nos exões 8 ou 11, e que está associada a comportamento biológico mais agressivo, nomeadamente maior taxa de recidiva, metastização e mortalidade, assim como menor taxa de resposta ao tratamento implementado (London et al. 1999; Downing et al. 2002; Zemke et al. 2002a; Webster et al. 2006; Webster et al. 2008a)

3.2. Predisposição Racial

Atualmente é de conhecimento geral que raças braquicefálicas (como o Bouledogue Francês e Inglês, Boxer, Pug e Boston Terrier, por exemplo), grupo dos Retrievers (como o Labrador e o Golden Retriever, por exemplo), Weimaraner, Pit bull e Straffordshire Terrier e Shar-pei apresentam maior risco/suscetibilidade para o desenvolvimento de mastocitomas (Peters 1969a; Patnaik et al. 1984a; Bostock 1986b; ROTHWELL et al. 1987b; White et al. 2011b). Apesar de ser uma forma mais rara, a mastocitose visceral primária apresenta, também, predisposição racial no caso de indivíduos da raça Bichon Maltês, que apresentam tipicamente a forma intestinal da doença (Wright 2020).

3.3. Impacto do sexo, idade e estatuto sexual

Esta neoplasia cutânea é, segundo a literatura, uma afeção típica de cães de meia-idade a idade avançada, com uma média de idade de 8,2 anos (intervalo médio de idades entre os 8 e 9 anos), aquando do diagnóstico, embora se possa manifestar em quaisquer

indivíduos de qualquer idade (FINNIE and BOSTOCK 1979b; Bostock 1986c; ROTHWELL et al. 1987c).

Apesar de ser um tema bastante debatido, não existe até à data confirmação de predisposição relativa ao sexo, sendo machos e fêmeas afetados em igual proporção (FINNIE and BOSTOCK 1979b; Bostock 1986c; ROTHWELL et al. 1987c). No entanto, estudos mais recentes sugerem uma sobre representação sexual especificamente em determinadas raças (nomeadamente no caso do Bouledogue Francês e do Shar-pei, que são mais sobre representados por machos e fêmeas, respetivamente) (Catarino et al. 2025). O impacto da esterilização também é um tópico bastante debatido mas ainda não há conclusões robustas, sabendo-se apenas que estas neoplasias possuem recetores citosólicos para progesterona e estrogénios, mas o papel das hormonas na fisiopatologia dos mastocitomas ainda é desconhecido (Elling and Ungemach 1982).

4. Diagnóstico

4.1. Diagnóstico Clínico

4.1.1. Apresentação Clínica

Esta neoplasia pode surgir sob a forma primária ou forma secundária. No que diz respeito às formas primárias, o mesmo pode surgir sob as formas cutânea e subcutânea (mais comuns) ou sob a forma visceral que, por sua vez poderá ocorrer independentemente de uma lesão primária pré-existente ou poderá ocorrer secundariamente, no contexto de metastização da doença (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

Os mastocitomas cutâneos são os mais frequentes (Bostock 1973a; ROTHWELL et al. 1987d) e, por isso, serão a forma abordada ao longo deste trabalho. Esta neoplasia pode apresentar uma vasta gama de aparências, o que torna desafiador o seu diagnóstico clínico, podendo muitas vezes ser confundida com outras lesões de origem não-neoplásica (London and Thamm 2019). Assim, o mastocitoma deverá ser incluído na lista de diagnósticos diferenciais de todas as lesões cutâneas que se apresentem indolores e com oscilação temporal de tamanho, especialmente (mas não só) em cães de raças predispostas para o desenvolvimento desta neoplasia (Wright 2020).

Os mastocitomas considerados bem diferenciados apresentam-se frequentemente como lesões solitárias (embora cerca de 11 a 14% dos cães apresentem múltiplas lesões, principalmente cães de raças predispostas, podendo estar associado a metastização de um tumor primário ou serem verdadeiramente vários tumores primários (Pelt et al. 1986a; Mullins et al. 2006a)), de crescimento lento, de pequenas dimensões e bem delimitadas, sem ulceração (mas poderão apresentar alopecia local) e que estarão presentes durante longos períodos de tempo (meses a anos), sem grande evolução clínica associada, estando associados a comportamento biológico mais benigno (London and Thamm 2019). Os

mastocitomas considerados pouco diferenciados apresentam-se frequentemente sob a forma de nódulos pruríticos de maior dimensão, limites pouco definidos (podendo invadir o tecido subcutâneo), de crescimento acelerado, estando acompanhados de possível inflamação e edema dos tecidos circundantes, pequenos nódulos satélites e em 30% dos casos com ulceração (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Os mastocitomas de diferenciação intermédia poderão apresentar características dos dois graus de diferenciação já mencionados, tornando difícil prever o comportamento biológico com base na sua aparência (London and Thamm 2019).

A forma cutânea desta neoplasia tem origem mais frequentemente na derme e pode desenvolver-se em várias regiões do corpo dos cães, sendo que em 50% dos casos se desenvolve no tronco e regiões perineal e inguino-genital, 40% nos membros e 10% nas zonas da cabeça e pescoço (London and Thamm 2019; de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022), mas já foram identificados em sítios bastante distintos, como por exemplo conjuntiva, trufa, coluna vertebral, nasofaringe, cavidade oral e ureter (Patnaik et al. 1982; Block et al. 1995; Iwata et al. 2000; Steffey et al. 2004; Moore et al. 2017). Pode também ser identificável, aquando da palpação, linfadenomegália regional ou aumento de órgãos da cavidade abdominal, apontando para a hipótese de metastização regional ou à distância (Blackwood et al. 2012a).



Figura 1: Diferentes apresentações de mastocitoma cutâneo: a) escrotal; b) perineal; c) prepucial (Original).

4.1.2. Síndromes Paraneoplásicas

Existem várias síndromes paraneoplásicas bem documentadas atribuíveis à presença de mastocitoma cutâneo e é estimado que cerca de 50% dos animais com a doença apresente sinais clínicos secundários à mesma. Estes efeitos negativos devem-se sobretudo à desgranulação dos mastócitos com consequente libertação de histamina, heparina, enzimas proteolíticas e aminas vasoativas, entre outros (Welle et al. 2008a; London and Thamm 2019). A simples manipulação mecânica da neoformação (em contexto cirúrgico ou do exame físico, por exemplo) pode originar esta desgranulação, levando ao aparecimento de uma manifestação dermatológica designada '*Darier's sign*', que corresponde ao desenvolvimento

de eritema, edema e pápulas nos tecidos circundantes (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022), sendo mais frequentemente observado no caso de mastocitomas de alto grau histológico (Ishiguro et al. 2003).

As síndromes paraneoplásicas mais comuns são as do foro gastrointestinal (GI), que incluem erosão, ulceração e/ou perfuração gastrointestinal e, mais raramente, peritonite e sépsis (Welle et al. 2008a; Blackwood et al. 2012a; London and Thamm 2019). Os sinais clínicos associados incluem anorexia, vômito, hematemesa, hematoquézia, melena, dor abdominal e, em casos mais graves de perfuração GI, peritonite e sépsis (Welle et al. 2008a; Blackwood et al. 2012a; London and Thamm 2019).

Outras síndromes paraneoplásicas incluem eosinofilia sistêmica derivada da liberação do fator quimiotático de eosinófilos (Takahashi et al. 2000b; Endicott et al. 2007; Musser et al. 2018) e sinais relacionados com a excisão ou biópsia destas massas, como atraso na cicatrização e deiscência da sutura, associadas à liberação de aminas e enzimas proteolíticas que inibem o fator de crescimento fibroblástico (Welle et al. 2008a). São também possíveis alterações da coagulação devido à liberação da heparina, sendo frequentemente observadas no contexto intra-cirúrgico através do sangramento local excessivo, apesar de provas de coagulação prévias dentro da normalidade (London and Thamm 2019). Os efeitos secundários mais raros (embora possíveis) são o colapso circulatório acompanhado de hipotensão grave e a anafilaxia, derivados da liberação sistêmica de quantidades massivas de histamina (Welle et al. 2008b; Blackwood et al. 2012b). Estes sinais clínicos são mais prováveis em animais com desenvolvimento arrastado do mastocitoma (metastização, tumores de grandes dimensões ou envolvimento sistêmico, por exemplo) (London and Thamm 2019).

4.1.3. Diagnósticos Diferenciais

Na prática clínica é possível encontrar várias lesões cutâneas e subcutâneas de origem não neoplásica, mas que simulam a aparência dos MCT. Os quistos cutâneos, particularmente os quistos epidermoides, dermoides e foliculares estão entre as lesões não neoplásicas que mais comumente afetam a pele do cão e gato. Outras formas lesionais benignas que podem ser confundidas com o MCT incluem calcinosis cútis, xantomias, mucinose cutânea e dermatofibrose nodular, entre outros (VAIL 2007).

Os diagnósticos diferenciais de carácter neoplásico incluem tumores epiteliais (papiloma, carcinoma das células escamosas, tumores de células basais, tumores das glândulas sebáceas, queratoacantoma e tumores dos folículos pilosos), tumores mesenquimatosos (lipoma, por exemplo) e tumores de células redondas (histiocitoma, plasmocitoma, linfoma, tumores neuroendócrinos e tumor venéreo transmissível) (VAIL 2007).

4.2. Diagnóstico Laboratorial

4.2.1. Punção Aspirativa com Agulha Fina (PAAF)

A PAAF é um procedimento considerado fácil, barato, rápido e não invasivo, sendo muitas vezes realizado durante consultas de rotina (Friedrichs and Young 2019), para além de permitir um diagnóstico precoce (Jensen 2009). No caso específico dos MCT este recurso permite obter um diagnóstico correto conclusivo em cerca de 92-96% dos casos, tornando-o, por isso, o pilar principal do diagnóstico de MCT (Blackwood et al. 2012a).

A punção de uma massa com diâmetro inferior a 5 centímetros (cm) não justifica a administração preventiva prévia de anti-histamínicos pois o efeito adverso mais frequentemente observado nestes casos é o aparecimento do '*Darier's sign*', sendo os efeitos graves correspondentes à libertação massiva de histamina improváveis. Contudo, esta medida de precaução deverá ser empregue em casos de massas com diâmetro superior a 5 cm e na punção de órgãos mais vascularizados, como são exemplo o fígado e baço (Wright 2020).

4.2.1.1. Avaliação Citológica

Os mastócitos apresentam-se como células pequenas a médias (o seu tamanho está entre o de um neutrófilo e de um macrófago), de limites bem definidos, redondas, mononucleares e com vários grânulos uniformes distribuídos por todo o citoplasma, que coram de forma metacromática, adquirindo tonalidades entre o roxo e o vermelho, tornando a aparência citológica dos MCT rapidamente identificável (Wright 2020).

Nos cães, amostras citológicas de MCT contêm, normalmente, numerosos eosinófilos, fibroblastos reativos e bandas espessas de colagénio, para além dos mastócitos (Friedrichs and Young 2019).

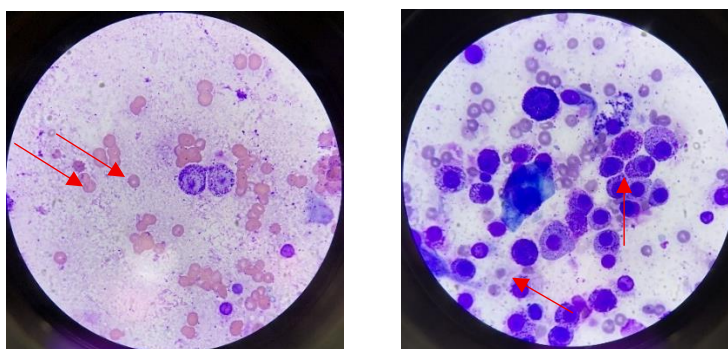


Figura 2: Citologias de mastocitomas cutâneos (ampliação da objetiva 40x). As setas vermelhas sinalizam exemplos de mastócitos neoplásicos (Original).

4.2.1.2. Métodos de Coloração

Podem ser utilizados vários métodos de coloração, sendo que o de Rowmanovsky ou métodos de coloração rápida de esfregaços sanguíneos (como o Diff-Quick, utilizado na

maioria das clínicas e hospitais veterinários) têm bons resultados (Friedrichs and Young 2019).

Em determinadas situações os grânulos dos mastócitos poderão não ser corados pelos métodos rotineiros mencionados (adquirindo a aparência característica de “ovo estrelado”), sendo necessário recorrer a colorações como a coloração de Wright-Giemsa e Azul de Toluidina, de forma a confirmar ou refutar a suspeita (Friedrichs and Young 2019).

4.2.2. Biópsia

Em casos inconclusivos ou aquando do estadiamento da doença poderá ser necessário a realização de biópsias, de forma a fornecer um diagnóstico definitivo mais completo, incluindo caracterização histopatológica do grau de malignidade e critérios/parâmetros que irão influenciar tanto as escolhas de tratamento como o prognóstico (Ehrhart 2020).

Existem várias técnicas de biópsia, podendo ser agrupadas em 2 grandes grupos: Biópsias Incisionais (biópsia com recurso a dispositivo Tru-Cut®, biópsia com Punch e biópsia com lâmina de bisturi) e Biópsias Excisionais (Ehrhart 2020).

É importante salientar que amostras obtidas a partir de biópsia incisional poderão não representar a neoplasia na totalidade, podendo influenciar a distinção da sua localização em cutânea ou subcutânea, determinação do grau histológico e outros fatores que irão influenciar o prognóstico do doente, não sendo recomendado por isso o seu uso em exclusividade como guia terapêutico e no contexto de estadiamento (Berlato et al. 2021a). Assim, a realização de biópsia incisional em casos de MCT é raramente recomendada visto que o risco de deiscência da sutura e hemorragia local intra-cirúrgica se revelam não compensatórios face ao alto potencial diagnóstico da PAAF e elevada superioridade da técnica de biópsia excisional, tanto a nível terapêutico como diagnóstico (Wright 2020).

4.2.3. Avaliação Histopatológica

O ponto chave essencial aquando do diagnóstico de mastocitoma sempre foi, e ainda é atualmente, a classificação do mesmo quanto ao grau, constituindo assim a base do planeamento do tratamento (e antevisão da resposta ao mesmo) e estabelecimento do prognóstico (Murphy et al. 2004; Northrup et al. 2005; Romansik et al. 2007; Elston et al. 2009; Kiupel et al. 2011; Takeuchi et al. 2013; Vascellari et al. 2013; Berlato et al. 2015; Donnelly et al. 2015a; van Lelyveld et al. 2015; Sabattini et al. 2015; Stefanello et al. 2015; Camus et al. 2016; Hergt et al. 2016; Scarpa et al. 2016; Berlato et al. 2018; Horta et al. 2018; Sabattini et al. 2018; Shaw et al. 2018). Para tal, foram desenvolvidos dois sistemas de classificação diferentes, o sistema de Patnaik e o sistema de Kiupel (Berlato et al. 2021b).

Segundo o consensus formulado pelo *Oncology Pathology Working Group* (OPWG), é recomendada a utilização conjunta dos dois sistemas de classificação existentes, de forma a complementarem as limitações um do outro e a tornar a mesma menos subjetiva (Blackwood

et al. 2012a). A utilização dos dois sistemas em conjunto vai permitir clarificar o prognóstico dos mastocitomas de grau II de Patnaik e o comportamento dos mastocitomas de alto grau de Kiupel, dividindo o mastocitoma cutâneo em quatro categorias (Berlato et al. 2015; Donnelly et al. 2015a; Camus et al. 2016; Berlato et al. 2018): Grau I/ Baixo grau, Grau II/ Baixo grau, Grau II/ Alto grau e Grau III/ Alto grau. Esta atribuição irá influenciar o prognóstico do doente no que diz respeito a taxas de recidiva, metastização e mortalidade, bem como o tempo médio de sobrevivência (Berlato et al. 2021).

4.2.3.1. Sistema de classificação de Patnaik

Este sistema divide o mastocitoma cutâneo em três categorias, baseado na avaliação da extensão de invasão dos tecidos, celularidade, morfologias nuclear e celular, índice mitótico, reação das células do estroma e edema/ necrose (**tabela 1**) (Berlato et al. 2021b). Desta forma, os mastocitomas cutâneos vão ser classificados em Grau I (bem diferenciado), Grau II diferenciação intermédia) ou Grau III (pouco diferenciado), sendo que os de grau I apresentam comportamento e evolução mais benignos e prognóstico mais favorável, enquanto os de grau III apresentam comportamento e evolução mais agressivos e prognóstico mais reservado (Welle et al. 2008c).

A classificação dos mastocitomas de grau II é considerada menos objetiva, uma vez que há inconsistência entre patologistas na atribuição deste grau. Como resultado, o comportamento biológico e evolução tumorais são menos previsíveis (Blackwood et al. 2012c).

Tabela 1:Classificação histológica segundo o sistema de Patnaik. Adaptado de (London and Thamm 2019).

Grau	Denominação	Características Microscópicas
Grau I	Baixo grau (bem diferenciado)	Células com limite citoplasmático bem definido, núcleo redondo, oval ou esférico, mitoses raras ou ausentes, grânulos citoplasmáticos grandes, bem corados e abundantes Tumor confinado à derme
Grau II	Grau Intermédio (Diferenciação intermédia)	Células agrupadas com limites celulares indefinidos, rácio núcleo-citoplasma menor e mais grânulos citoplasmáticos que em grau III, poucas mitoses; Áreas de edema e/ou necrose Tumor infiltrado nos níveis inferiores da derme/ tecido subcutâneo
Grau III	Alto Grau (Anaplásico, pouco diferenciado)	Elevada celularidade, limites citoplasmáticos pouco definidos, núcleo com tamanho e forma irregulares, mitoses frequentes, grânulos citoplasmáticos escassos; Edema, hemorragia, necrose e ulceração comuns Tumor infiltrado nos níveis inferiores da derme/ tecido subcutâneo

4.2.3.2. Sistema de classificação de Kiupel

O sistema de Kiupel permite uma menor discordância entre patologistas na medida em que utiliza critérios de avaliação mais objetivos, centrando a sua classificação em critérios morfológicos tais como o índice mitótico, a presença de múltiplos núcleos, núcleos anómalos e cariomegália (grande dimensão do núcleo da célula) (Takeuchi et al. 2013b; Vascellari et al. 2013b). Os mastocitomas são, então, divididos em dois grandes grupos: mastocitomas de alto grau e mastocitomas de baixo grau, sendo que para um caso se enquadrar no grupo do alto grau necessita de obedecer a pelo menos um dos seguintes critérios:

- 1) Pelo menos 7 células em mitose em 10 campos de elevada ampliação (HPF- *High-power fields*);
- 2) Pelo menos 3 células multinucleadas (com 3 ou mais núcleos) em 10 HPF;
- 3) Pelos menos 3 núcleos anómalos em 10 HPF;
- 4) Cariomegália.

Todos as neoformações que na análise histológica não apresentem nenhum dos critérios acima mencionados são consideradas, portanto, mastocitomas de baixo grau.

4.2.3.3. Índice Mitótico (MC- Mitotic Count)

O Índice Mitótico (MC) corresponde ao número de células em mitose em 10 HPF ($2,37mm^2$), contabilizadas na área que apresentar maior atividade mitótica, e este índice deverá estar presente em todas as análises histopatológicas realizadas (Romansik et al. 2007b; Blackwood et al. 2012c). Tendo em conta o seu forte valor prognóstico, guidelines mais recentes tais como *2nd Consensus meeting on the Diagnosis, Prognosis, and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors (2021)*, organizado pela Associação Brasileira de Oncologia Veterinária recomendam a utilização da metodologia proposta por Romansik et al. (2007c) para classificar o índice mitótico em <5 mitoses ou >5 mitoses, ou a metodologia de Elston et al. (2009b) que classifica o índice em 0, 1 a 7 mitoses e >7 mitoses em 10 HPF. Os três graus possíveis propostos por Patnaik et al. (Patnaik et al. 1984b) apresentam diferente número de figuras mitóticas admitidas entre cada um, sendo que MCT cutâneos de grau I apresentam um total de 0 mitoses, os de grau II poderão apresentar entre 0 a 2 mitoses e os de grau III apresentam entre 3 e 6 mitoses, por 10HPF (de Nardi et al. 2022).

5. Estadiamento

O estadiamento é um dos passos fundamentais na cascata de abordagem ao doente oncológico e tem como objetivos definir a extensão da doença, que irá afetar não só as abordagens terapêuticas disponíveis, mas também o prognóstico do animal (Blackwood et al. 2012a). A grande maioria dos MCT metastiza primeiro para o linfonodo sentinela (LNS) (estádio 2), depois dissemina para o fígado e baço (estádio 3) e para outros órgãos da

cavidade abdominal e finalmente pode atingir a medula óssea (estádio 4), sendo raro metastizar para os pulmões (embora possível, e, portanto, deverá ser tido em consideração) (THAMM 2007; Marconato et al. 2008; Valent et al. 2017; Cartagena-Albertus et al. 2019).

Atualmente, o perfil de estadiamento mais frequentemente utilizado na prática clínica inclui exame físico completo, perfil hematológico completo (incluindo hemograma e perfil bioquímico básico), PAAF do LNS (mesmo que não apresentem alteração ecográfica), ultrassonografia abdominal e radiografia torácica (Patnaik et al. 1984c; THAMM 2007; Kiupel et al. 2011b; Stefanello et al. 2015b).

5.1. Ultrassonografia

Apesar de apresentar elevada sensibilidade de detecção de doença primária e metastática apresenta baixa especificidade, particularmente na avaliação de presença de metástases de doenças como o MCT e o linfoma, que poderão apresentar uma grande variedade de aparências ultrassonográficas, sendo que a ausência de alterações não significa ausência de doença (Sato and Solano 2004; Nerschbach et al. 2016). Estas limitações são muitas vezes mitigadas com acesso a procedimentos de recolha de amostras com auxílio ecográfico (PAAF ecoguiada), sendo procedimentos rápidos e simples, com risco de hemorragia em menos de 6% dos casos (Léveillé et al. 1993; Nyland et al. 2002).

5.1.1. Punção Aspirativa com Agulha Fina (PAAF) ecoguiada de fígado e baço

Um estudo conduzido por Book et al. (BOOK et al. 2011), averiguou a sensibilidade da ultrassonografia no contexto de detecção de metástases hepáticas e esplênicas, tendo obtido valores de 43% e 0%, respetivamente, reforçando a necessidade de realizar análise citológica (a partir de PAAF ecoguiada) ou histopatológica (a partir de biópsias) de forma a obter um correto e completo estadiamento da doença a nível destes órgãos.

Em baços de cães saudáveis é comum encontrar mastócitos e, embora o número de mastócitos por conjunto de células esplênicas seja superior em cães com MCT, esta sobreposição entre cães saudáveis e cães com a doença torna difícil estabelecer valores de *cut-off* valorizáveis no contexto de detecção de metástases (Finora et al. 2006). No fígado, por sua instância, este problema também é relatado, sendo possível visualizar pequenos números de mastócitos em aspirados hepáticos de cães saudáveis (<1 mastócito/100 hepatócitos) com a condicionante adicional de, no caso de algumas doenças de foro não-oncológico (como a fibrose hepática, por exemplo) o número destas células redondas aumentar, tornando ainda mais difícil estabelecer um diagnóstico correto de metastização hepática (Finora et al. 2006; Meyer 2010; Masserdotti and Bertazzolo 2016).

5.1.2. PAAF ecoguiada e histopatologia de Linfonodos Sentinela

O linfonodo mais importante a avaliar é o LNS, que é o primeiro linfonodo que drena diretamente a região onde o tumor se encontra, dentro da cascata da drenagem linfática e que deverá ser sempre avaliado em caso de presença de neoplasia com metastização linfática, como é o caso do MCT (Tuohy et al. 2009a). O mapeamento do LNS recorrendo a técnicas imagiológicas avançadas (como a linfangiografia ou a linfocintigrafia, por exemplo) poderá ser necessário, uma vez que um estudo revelou que em cerca de 42% (Worley 2014) dos casos, o linfonodo locoregional (identificado pela sua localização anatómica) não corresponde ao LNS (devido possivelmente às alterações linfáticas promovidas pela neoplasia). A posterior avaliação do LNS poderá ser realizada recorrendo a amostragem citológica (obtida através de PAAF ecoguiada) ou amostragem histopatológica (obtida através de biópsia excisional), sendo que a citologia apresentou sensibilidade de deteção de metástases entre 68 a 75%, sugerindo que deverá ser utilizada como teste de screening e posteriormente confirmado o seu resultado com recurso à análise histopatológica (Ku et al. 2017; Ferrari et al. 2018).

Assim, Weeishaar et al. (Weishaar et al. 2014), propôs um modelo de 4 graus de metastização ao nível do linfonodo: HN0 (linfonodo não-metastático), HN1 (linfonodo pré-metastático), HN2 (metástase precoce) e HN3 (metástase óbvia ou avançada), sendo cada grau baseado na quantidade de mastócitos presente, a sua localização e o seu padrão de agregação.

5.2. Radiografia

No contexto de pesquisa de nódulos ou massas pulmonares o mais recomendado (e ideal) é a aquisição de 3 projeções diferentes devido ao efeito de atelectasia dos lobos dependentes, que é dependente do posicionamento do animal. Assim, aconselha-se a aquisição das 2 projeções laterais (laterolateral esquerda e laterolateral direita) e de uma das projeções ventrodorsal ou dorsoventral, sendo que a projeção ventrodorsal apresenta maior sensibilidade na deteção de alterações pulmonares (Nykamp and Randall 2019). Embora seja rara, ocasionalmente poderá ser visualizada linfadenopatia torácica associada a disseminação de MCT (London and Thamm 2019).

O MCT raramente metastiza a nível pulmonar, razão pela qual a realização de radiografia torácica não adquire grande valor no contexto do estadiamento segundo alguns autores (Warland et al. 2014).

5.3. Tomografia Computorizada (TC)

A Tomografia Computorizada (TC) apresenta maior sensibilidade de deteção de metástases, comparativamente à radiografia e à ultrassonografia, constituindo uma alternativa à realização dos mesmos aquando do estadiamento oncológico (Nykamp and Randall 2019).

A TC permite detetar mais precocemente lesões tumorais metastáticas, permitindo um diagnóstico precoce e o início atempado do tratamento. Atualmente é um exame complementar cada vez mais utilizado no estadiamento oncológico e planeamento cirúrgico, elucidando sobre a presença, localização e extensão da neoplasia, assim como delimitação de margens (Vliegen et al. 2008; Lederer et al. 2015)), sendo cada vez mais empregue simultaneamente na deteção tumoral nas duas cavidades corporais (Prather et al. 2005; Oblak et al. 2015).

5.4. Sistemas de estadiamento de MCT

Apesar dos diversos sistemas já propostos, a inaplicabilidade na prática clínica e a variância no comportamento biológico apresentado por esta neoplasia tornam desafiador a escolha de um só sistema como standard para estadiamento de MCT (Murphy et al. 2006a; Stefanello et al. 2015c; Horta et al. 2018b), devendo ser efetuados mais estudos de forma a validar um dos sistemas anteriormente propostos ou promover alterações do mesmo, incluindo outros parâmetros que influenciam negativamente o prognóstico, como são exemplo a raça e a localização do tumor, por exemplo (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

Tabela 2: Sistema de estadiamento de MCT proposto pela OMS. Adaptado de (London and Thamm 2019).

Estádio	Descrição
0	Uma massa incompletamente excisada confinada à derme, graduada histologicamente e sem metastização no linfonodo a) Sinais clínicos sistémicos presentes b) Sem presença de sinais clínicos sistémicos
I	Uma massa confinada à derme, sem metastização nodal a) Sinais clínicos sistémicos presentes b) Sem presença de sinais clínicos sistémicos
II	Uma massa confinada à derma, com metastização nodal a) Sinais clínicos sistémicos presentes b) Sem presença de sinais clínicos sistémicos
III	Múltiplas massas (com eixo superior a 5 cm e infiltrativas) dérmicas, com ou sem metastização nodal a) Sinais clínicos sistémicos presentes b) Sem presença de sinais clínicos sistémicos
IV	Qualquer massa com metástases à distância, incluindo no sangue periférico e medula óssea

6. Tratamento e Maneio Clínico

A escolha da terapêutica mais favorável vai depender de vários fatores e deverá ser personalizada à luz de cada caso, tendo em consideração fatores relacionados com a

classificação histopatológica do tumor, estágio da doença, presença de fatores de prognóstico desfavorável, condição clínica geral do canídeo e investimento emocional e económico do tutor (Thamm 2013a; Oliveira et al. 2020). Desta forma conseguimos dividir as diferentes abordagens terapêuticas em locais ou sistémicas, sendo que em determinados casos as duas poderão ser utilizadas em conjunto.

6.1. Terapêutica Local

6.1.1. Abordagem Cirúrgica

No caso dos MCT cutâneos de baixo grau de Kiupel (grau I e maioria dos tumores de grau II de Patnaik) não metastizados regional e distantemente, a excisão cirúrgica ampla da massa com classificação histopatológica das margens cirúrgicas obtidas como “completas/limpas” tem carácter curativo, não sendo indicada a realização de tratamentos adjuvantes (Wright 2020).

Um trial com prednisolona em dose anti-inflamatória (1,0 mg/Kg/dia) poderá ser benéfica em casos de tumores de grandes dimensões com vista à sua citorredução, sendo que 70% dos animais apresenta uma resposta favorável, apresentando reduções médias de diâmetro e volume de 45 e 80%, respetivamente (Wright 2020). Em casos em que não há uma resposta positiva à administração deste fármaco poderá ser equacionada a utilização de fármacos inibidores da tirosina quinase ou quimioterápicos, apesar de não serem considerados como primeira linha devido aos seus efeitos tóxicos potenciais e custo elevado (Wright 2020).

Em casos de excisão incompleta com margens cirúrgicas contaminadas, deverá ser implementado um novo tratamento local, idealmente uma nova abordagem cirúrgica para remoção da cicatriz cirúrgica prévia e alargamento das margens de segurança (Murphy et al. 2004b; Kry and Boston 2014; Vincenti and Findji 2017a).

A excisão do MCT cutâneo poderá ser ampla (técnica mais recomendada, desde que as características anatómicas locais o permitam) ou marginal, nos casos em que o tamanho do tumor, anatomia local ou fatores inerentes à elasticidade da pele ou quantidade de tecido presente impossibilitam a remoção da massa com margens de segurança adequadas, como por exemplo nas extremidades distais dos membros (London and Thamm 2019).

Qualquer que seja a terapêutica local implementada deverá ser estabelecido um sistema de vigilância ativa, sendo recomendado check-ups nos meses 1, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 após o fim do tratamento e a cada 6 meses após este período, de forma a controlar possível recidiva e/ou metastização. Nestas consultas de vigilância é recomendável a realização de exame físico completo, prestando especial atenção ao local da exérese tumoral e linfonodos regionais, realização de PAAF de novos nódulos cutâneos e/ou linfonodos alterados, podendo ser também incluídos outros exames complementares de estadiamento se o animal apresentar fatores de prognóstico negativos (London and Thamm 2019).

6.1.1.1. Margens Cirúrgicas

Historicamente era recomendável, aquando da excisão de MCT cutâneos, a aplicação de margens cirúrgicas laterais de 3 cm e pelo menos um plano fascial saudável não invadido pelo tumor, como margem profunda, independentemente da classificação histológica da massa ou outros fatores prognósticos (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). De forma a preservar tecido e funcionalidade locais foram criadas duas novas abordagens: 1) a abordagem proporcional, que sugere a aplicação de margens laterais proporcionais à medida do eixo maior do tumor, em massas com diâmetro inferior a 4 cm, e uma margem lateral fixa de 4 cm para tumores acima do diâmetro referido, mantendo a dimensão da margem profunda inicialmente estabelecida (Simpson et al. 2004a; Fulcher et al. 2006a); 2) a abordagem métrica, que sugere a aplicação de margens laterais de 1 e 2 cm na excisão de MCT de grau baixo e intermédio, respetivamente, mantendo a dimensão da margem profunda (Simpson et al. 2004a; Fulcher et al. 2006a). No entanto, não existe consenso quanto à dimensão mais apropriada, devendo ser tomada precaução na sua avaliação histológica, tendo em consideração o fator de retração das peças, promovido pelo formol, e a não avaliação da qualidade das margens (fáscia vs tecido conjuntivo vs gordura) (London and Thamm 2019).

O tamanho das margens obtidas e a classificação histológica do tumor vão guiar os passos seguintes do manejo da doença e a necessidade (ou não) de terapêutica adjuvante, sendo que tumores de grau III de Patnaik apresentam elevada taxa de recidiva (36%) independentemente do tamanho das margens (Donnelly et al. 2015b), enquanto que vários estudos reportam elevadas taxas de cura em mastocitomas de graus I e II de Patnaik, mesmo quando a avaliação histopatológica das margens cirúrgicas vem como incompleta (margens contaminadas) (Séguin et al. 2006; Donnelly et al. 2015; Smith et al. 2017; Milovancev et al. 2020; Selmic and Ruple 2020; Itoh et al. 2021).

6.1.1.2. Particularidade dos mastocitomas prepuciais, escrotais, vulvares e perineais- Anatomia local e possíveis complicações associadas

Escroto: Os MCT cutâneos nesta zona implicam a orquiectomia do animal com ablação da bolsa escrotal, simultaneamente. O escroto consiste numa bolsa membranosa septada localizada entre a região inguinal e o ânus, e que alberga os testículos, epidídimo e parte distal do cordão espermático. O cordão espermático tem início no anel inguinal, onde a artéria e veias testiculares (plexo pampiniforme), ductos linfáticos, plexo nervoso autonómico testicular, ducto deferente (e a artéria e veia associadas), músculo liso e camada visceral da túnica vaginal se fundem. Entre as estruturas mencionadas e o escroto encontra-se o músculo cremáster, que consiste numa extensão fina do músculo oblíquo abdominal interno (Fossum 2019).

Prepúcio: A presença de MCT cutâneo no prepúcio envolve a nodulectomia do mesmo com reconstrução do prepúcio ou, em caso de extensão de células tumorais em profundidade, amputação parcial ou total do pênis, sendo que a última exige também (preferencialmente) uretostomia escrotal após orquiectomia e ablação do escroto. As complicações associadas a esta cirurgia poderão ser, por exemplo, hemorragia (durante vários dias, especialmente aquando da micção ou excitação), perdas de urina, infecção, seroma, deiscência, constrição da abertura prepucial e impossibilidade de exteriorização do pênis (Fossum 2019).

Vulva: A vulva consiste na abertura externa do trato genital feminino, consistindo em dois lábios que culminam numa comissura pontiaguda, circundados pelo músculo constritor vulvar e músculo constritor vestibular, sendo a drenagem linfática efetuada em direção aos linfonodos ilíacos internos. A exérese de MCT nesta região poderá implicar vulvectomy parcial com reconstrução ou até mesmo vulvectomy total com uretostomia perineal posterior. As complicações associadas a este procedimento incluem deiscência, infecção e hemorragia (Fossum 2019).

Períneo: Certas estruturas anatómicas locais deverão ser identificadas e preservadas nesta zona, incluindo o ligamento sacrotuberoso, o nervo ciático (que está localizado cranialmente ao ligamento sacrotuberoso), a artéria e veia pudendas internas, nervo pudendo (que se ramifica nos nervos reto caudal e perineal) e nervo obturador, sendo a drenagem linfática dirigida para o linfonodo ilíaco medial. No caso de neoplasia maligna poderá ser necessária excisão parcial do esfíncter anal externo, canal anal e sacos anais, em certos casos. As complicações que poderão ser associadas a esta cirurgia são várias, incluindo infecção, deiscência, tenesmo, disquésia, hematoquécia, recidiva tumoral local, incontinência fecal temporária ou permanente, metástase, constrição anal e prolapso retal (Fossum 2019).

6.1.2. Tiglato de Tigilanol (Stelfonta®)

Este fármaco é indicado para o tratamento de MCT cutâneos (em todas as localizações) e subcutâneos não metastizados, localizados distalmente às articulações úmero-radio-ulnar (inclusivamente) e tibiotársica (inclusivamente), independentemente da sua classificação histológica (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

O fármaco é injetado pela via intratumoral (IT) e radialmente numa dose dependente do volume do tumor em causa (0,5 mililitros (mL) por cada cm^3 de volume), representando uma alternativa terapêutica vantajosa em animais com comorbilidades concomitantes ou idade avançada, devido à dispensabilidade de sedação ou anestesia prévias (Boyle et al. 2014; Miller et al. 2019a; Jones et al. 2021; Reddell et al. 2021).

O fármaco possui um mecanismo de ação complexo que culmina com a necrose hemorrágica da massa e morte das células tumorais presentes (Miller et al. 2019b), levando à formação de uma reação inflamatória aguda no tumor e tecidos circundantes com posterior necrose hemorrágica do mesmo e descamação da área necrosada com formação de uma

solução de continuidade com exposição do tecido de granulação subjacente, que irá posteriormente cicatrizar por segunda intenção com necessidade de intervenção médica mínima ou até mesmo sem necessidade (Boyle et al. 2014; Miller et al. 2019a; Jones et al. 2021; Reddell et al. 2021).

Este fármaco apresenta bons resultados no contexto de controlo local da doença, sendo que 75% dos cães submetidos ao tratamento apresentaram resposta total dentro do primeiro mês de tratamento, com recurso a apenas uma aplicação, e 64% destes animais não apresentaram desenvolvimento de lesões 1 ano após o mesmo (Musser et al. 2024). Evidências atuais sugerem uma menor dimensão e maior focalização das margens obtidas com recurso ao tratamento com TT, comparativamente às obtidas com recurso a excisão cirúrgica (De Ridder et al. 2021).

6.1.3. Eletroquimioterapia

Este procedimento combina a utilização de Bleomicina e/ou Cisplatina e a consequente aplicação de pulsos elétricos (Spugnini et al. 2012; Spugnini et al. 2014; P. Spugnini et al. 2015; Spugnini et al. 2017), com o objetivo de eletropermeabilizar as membranas das células neoplásicas, permitindo uma maior entrada destas moléculas, maximizando o seu efeito citotóxico (Mir et al. 1998; Tozon et al. 2016).

Esta terapêutica alternativa poderá ser utilizada como terapêutica, intra-cirurgicamente como adjuvante terapêutico ou como adjuvante terapêutico pós-cirúrgico (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

Deverão ser tomadas em consideração algumas precauções, nomeadamente administração preventiva de fármacos anti-histamínicos de forma a controlar os efeitos adversos provenientes da desgranulação dos mastócitos neoplásicos (particularmente nos casos de MCT de grande dimensão), utilização de gel condutor aquando da aplicação dos pulsos elétricos de forma a aumentar a condutividade elétrica no local (aumentando a sua eficiência) (Suzuki et al. 2015; Pintarelli et al. 2019), e aplicação da corrente de forma concêntrica, da periferia para o centro da lesão, de forma a promover vasoconstrição periférica e prevenir disseminação sistémica de compostos vasoativos produzidos pelos mastócitos (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

6.1.4. Radioterapia

Esta modalidade terapêutica pode ser utilizada de três formas distintas: como terapêutica pré-cirúrgica (com visão ao seu efeito citorredutor, levando à redução do tamanho e/ou extensão da neoplasia, levando à maior preservação de tecido saudável, melhor encerramento e cicatrização da ferida cirúrgica) (DiBernardi 2020), terapêutica adjuvante (em casos em que é impossível a excisão da neoformação na totalidade (obtendo margens cirúrgicas limpas), por exemplo) (DiBernardi 2020) ou como terapêutica paliativa (em casos

em que, por motivos económicos ou fatores individuais do animal outras abordagens não poderão ser equacionadas) (Dobson and Scase 2007).

Esta alternativa possui riscos de toxicidade aguda (eritema, descamação e ulceração local, por exemplo) e tardia (leucotriquia, hiperpigmentação e fibrose cutânea) para todos os tecidos abrangidos no campo a irradiar. Os efeitos mais graves incluem dano vascular e linfático, predispondo ao aparecimento de linfedema, osteorradionecrose e, mais raramente, desenvolvimento tumoral secundário (Dickinson et al. 2001; Ladue and Klein 2001; Mellanby et al. 2003).

6.2. Terapêutica Sistémica

Embora a abordagem cirúrgica seja o *gold standard* para controlo da doença, em casos de cirurgia sem sucesso, MCT pouco diferenciados (MCT de grau III de Patnaik), doença metastática presente (regional ou à distância) ou presença de fatores de prognóstico negativos que evidenciem um comportamento biológico mais agressivo, a doença poderá levar à morte do animal, sendo necessário equacionar a utilização de modalidades terapêuticas adjuvantes, nomeadamente as sistémicas (London and Thamm 2019).

6.2.1. Glucocorticóides

Os corticosteróides, tais como a prednisolona, são fármacos regularmente utilizados na oncologia veterinária, tanto como adjuvantes nos protocolos de quimioterapia, como também sob a forma de neoadjuvantes (solitariamente) (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Historicamente utilizados no manejo de MCT com a finalidade de reduzir o seu volume (debulking), o seu mecanismo de ação continua desconhecido, sendo apenas de conhecimento geral que auxiliam na redução do edema e inflamação peritumoral associados à libertação de histamina (Wright 2020), e que *in vitro* apresentam ação anti proliferativa e promotora de apoptose em MCT (TAKAHASHI et al. 1997).

A resposta à administração de glucocorticoides pode ser parcial ou total (McCaw et al. 1994).

6.2.2. Quimioterapia

A utilização de quimioterapia, no manejo do animal com MCT, pode ter três finalidades distintas: como terapêutica adjuvante a outras modalidades de tratamento (London and Thamm 2019), como terapêutica neoadjuvante (Blackwood et al. 2012d; Burton et al. 2015), como terapêutica paliativa associada ou não a outras modalidades terapêuticas (Taylor et al. 2009a; Rassnick et al. 2010) ou de forma metronómica (Gaspar et al. 2018).

Atualmente são vários os protocolos de quimioterapia descritos passíveis de ser utilizados no manejo do MCT (Webster et al. 2008b), sendo que protocolos que combinam vários quimioterápicos em simultâneo apresentam maior taxa de resposta que protocolos com um único quimioterápico (Govier 2003).

Independentemente do protocolo de quimioterapia escolhido e do agente quimioterápico administrado, animais com MCT indiferenciados (MTC de grau III) apresentam taxa de resposta reduzida (Ginn et al. 2000; Jaffe et al. 2000; MIYOSHI et al. 2002; NAKAICHI et al. 2007).

O alcalóide Vimblastina é, de acordo com a maior parte dos estudos, o quimioterápico de primeira linha a utilizar em animais com MCT, segundo um protocolo que se baseia na administração semanal ou quinzenal de vimblastina na dose standard de $2,0 \text{ mg/ m}^2$, com ou sem prednisolona adjuvante (Davies et al. 2004; Trumel et al. 2005; THAMM et al. 2006a; Hayes et al. 2007). Os efeitos adversos da administração de vimblastina incluem toxicidade gastrointestinal (normalmente ligeira) e mielossupressão (mais provável em animais sujeitos a administração semanal de quimioterápico, sobretudo no início do tratamento) (Blackwood et al. 2012a).

A lomustina é considerada a segunda linha de tratamento de MCT em cães, apresentando protocolos com dosagens entre $60 \text{ e } 90 \text{ mg/ m}^2$ administradas a cada 21 dias, quando utilizada em exclusivo (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Este agente quimioterápico apresenta vários efeitos secundários, incluindo a mielossupressão grave (devendo ser seguidas as recomendações do *European Consensus* já mencionadas acima), a trombocitopenia idiossincrática grave e o potencial hepatotóxico.

A utilização de clorambucilo é frequente em protocolos de quimioterapia multi-fármaco, e a sua utilização poderá ser também considerada no tratamento adjuvante de MCT em cães. Atualmente, a sua eficácia no maneio desta neoplasia continua algo dúbia, com estudos a exibirem resultados menos favoráveis aquando da sua associação com prednisolona no tratamento de MCT não excisáveis de graus II e III (taxa de resposta de 38%) (Taylor et al. 2009b), enquanto noutro estudo a sua associação no protocolo Lomustina-Clorambucilo se revelou promissora (Horta et al. 2017).

6.2.3. Inibidores da Tirosina Quinase

Estas moléculas foram licenciadas no âmbito do maneio de MCT de graus II e III de Patnaik não extirpáveis ou recidivados, mas poderão ser benéficos noutros contextos, nomeadamente em animais que apresentem resistência farmacológica múltipla, MCT metastizados regionalmente ou à distância e como terapêutica adjuvante de primeira linha no controlo de MCT que apresentem comportamento biológico de risco acrescido, por exemplo (London et al. 2009a; Soria et al. 2009; Hahn et al. 2010; Ogilvie 2010; Olsen et al. 2018).

Alguns estudos anteriormente realizados com estes fármacos apontavam a mutação no gene c-kit e posicionamento anormal da proteína KIT como fatores preditivos de resposta ao tratamento com recurso a TKIs (London et al. 2003; London et al. 2009a). No entanto, trabalhos mais recentes descredibilizaram totalmente esta relação, admitindo-se que a resposta inicial ao tratamento é o único fator preditivo e de prognóstico em animais que

recebam este fármaco (Smrkovski et al. 2015), podendo ser benéfico a sua administração em animais que não sejam portadores desta mutação genética (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Os TKIs licenciados para utilização na prática veterinária oncológica são:

- 1) Fosfato de Toceranib (Palladia®): A dose recomendada é a de 3,25 mg/Kg de peso vivo administrada no esquema Segunda-Quarta-Sexta por via oral (PO), com pausa durante o fim de semana (London et al. 2012);
- 2) Masitinib (Masivet®): A dose recomendada é de 12,5 mg/Kg a cada 24 horas por via oral, com uma redução standard de dose para 9,0 mg/Kg aquando do desenvolvimento de efeitos adversos (Hahn et al. 2008);
- 3) Mesilato de Imatinib (Gleevec®): A dose recomendada é de 10 mg/Kg a cada 24 horas por via oral, mas há poucos estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos com esta substância, sendo esta dose obtida apenas por observação na prática clínica (Lachowicz et al. 2005; Isotani et al. 2008; London 2009b).

A sua associação com modalidades terapêuticas tradicionais demonstrou-se benéfica desde que as doses máximas toleradas, bem como a frequência de administração sejam respeitadas, revelando boa tolerância e eficácia (Hahn et al. 2008; London et al. 2009b; Daly et al. 2011; Harper and Blackwood 2017; Merrick et al. 2017).

6.3. Tratamento Médico ou Paliativo

O consensus *Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors* (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022), recomenda a prevenção ou redução dos efeitos locais e sistêmicos secundários à desgranulação mastocitária em casos de massas de grandes dimensões (alguns autores referem massas de diâmetro superior a 5 cm), animais que apresentem sinais clínicos sistêmicos e/ou locais, cães com doença metastática associada (tratamento de suporte paliativo), aquando de manipulação cirúrgica ou excisão (total ou parcial) e em situações em que a desgranulação mastocitária seja muito provável, como aquando de sessões de radioterapia, por exemplo (London and Seguin 2003a; Geiger 2005; Blackwood et al. 2012e; London and Thamm 2019). Assim, os sinais clínicos associados à libertação das substâncias contidas nos mastócitos poderão ser prevenidos ou tratados (no caso de já estarem presentes) através da administração dos seguintes agentes:

- 1) Antagonistas dos recetores H1: Difenidramina na dose 2–4 mg/Kg de 12 em 12 horas) (Blackwood et al. 2012e);
- 2) Antagonistas dos recetores H2: Famotidina (na dose 0.5–1 mg/Kg de 12 e 12 horas), cimetidina (na dose 4–5.5 mg/Kg de 8 em 8 horas), ranitidina (na dose 2 mg/Kg de 12 em 12 horas) ou Omeprazole (na dose 0.5–1 mg/Kg, de 12 em 12 ou 24 em 24 horas), sendo que o último se apresenta mais eficaz na redução da secreção de ácido gástrico e auxiliam

na cicatrização de úlceras do trato digestivo (London and Seguin 2003a; De Nardi et al. 2018);

- 3) Protetores da mucosa gástrica: Sucralfato (na dose 0.5–1.0g de 8 em 8 horas) ou, ocasionalmente, Misoprostol (na dose 2–4 µg/Kg de 8 em 8 horas). A administração destes fármacos é justificada no caso de evidência de ulceração GI (London and Seguin 2003a; De Nardi et al. 2018);
- 4) Antagonistas da heparina: sulfato de protamina, em caso de hemorragia ativa prolongada (O’Keefe 1990a).

Deverão ser tomados em consideração cuidados acrescidos, aquando do maneio cirúrgico do MCT, incluindo a administração preventiva de difenidramina 30 a 60 minutos antes do início do procedimento (London and Seguin 2003a; Geiger 2005; Welle et al. 2008d; Peters and Kovacic 2009) e evitar a utilização de alguns agentes opióides que maximizam a libertação de histamina, tal como a morfina (Guedes et al. 2006).

7. Prognóstico

O MCT representa um desafio clínico na determinação do prognóstico e delineamento da melhor estratégia terapêutica em cães afetados por esta condição devido à sua grande variabilidade no contexto de apresentação clínica e comportamento biológico possíveis (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). É, desta forma, justificável a necessidade de identificação e avaliação de fatores que antecipem o desfecho clínico do animal (Rogers 1996a; O’Connell and Thomson 2013; London and Thamm 2019).

7.1. Fatores de Prognóstico

A classificação do grau histológico da neoplasia é considerada o fator preditivo mais importante e consistente, no contexto de antecipação do comportamento biológico da mesma (Bostock 1973b; Patnaik et al. 1984d; Pelt et al. 1986b; Mullins et al. 2006b). Contudo, uma pequena percentagem de MCT apresenta comportamento imprevisível mesmo quando classificado com recurso aos dois sistemas histológicos disponíveis (Horta et al. 2018c; Thamm et al. 2020), tornando-se necessário, por isso, a inclusão de outros fatores com carácter prognóstico e a sua avaliação conjunta, de forma a precisar e prever a evolução da doença em cada animal (Thamm 2013a).

7.1.1. Relativos à neoplasia

7.1.1.1. Grau histológico

A grande maioria dos animais com MCT bem diferenciados (80-90%) atinge cura clínica com recurso à excisão cirúrgica completa do tumor, sendo que em menos de 10% deles ocorre metastização, apresentando um tempo de sobrevida médio superior a 2 anos (Wright 2020). Cerca de 75% dos animais com MCT moderadamente diferenciados apresenta longo tempo de sobrevida médio e remissão após excisão cirúrgica completa do tumor

(Séguin et al. 2001; Michels et al. 2002a; Weisse et al. 2002; Murphy et al. 2004c; Mullins et al. 2006b; Schultheiss et al. 2011). Contrariamente, o MCT de grau III de Patnaik e de alto grau de Kiupel apresentam taxas de metastização elevadas (55-96%), com tempo de sobrevida médio inferior a 4 meses (Wright 2020), sendo que a maioria dos cães morre da doença dentro de um ano após o diagnóstico (Michels et al. 2002a; Hume et al. 2011a).

7.1.1.2. Densidade de microvasos

Uma densidade de microvasos elevada está associada a grau histológico e de invasão mais elevados, bem como pior prognóstico (London and Thamm 2019).

7.1.1.3. Dimensões

A dimensão do MCT tem valor preditivo sobre a duração da remissão após tratamento cirúrgico ou radioterapia (Turrel et al. 1988a; Bostock et al. 1989; Gerritsen et al. 1998), sendo que massas com diâmetro máximo igual ou inferior a 3 cm apresentaram melhor prognóstico e tempo médio de sobrevida superior, comparativamente a massas com diâmetro máximo superior a 3 cm (31 e 24 meses, respetivamente) (Hahn et al. 2004).

7.1.1.4. Localização

O comportamento do MCT foi associado, historicamente, à sua localização anatómica, apresentando diferentes graus de agressividade. Os MCT localizados na região inguinal (virilhas, perivulvar, escrotal, perineal), mucosas ou junções mucocutâneas (como a trufa, mucosa oral e esclera) e leito ungueal são historicamente associados a pior prognóstico, apresentando comportamento biológico mais agressivo que os MCT noutras localizações corporais (Wright 2020).

7.1.1.5. Taxa de crescimento

As massas que apresentam taxas de crescimento elevado estão associadas a pior prognóstico (London and Thamm 2019), como evidenciado num estudo em que 83% dos animais com massas presentes num período superior a 28 semanas anteriores à cirurgia apresentaram um tempo de sobrevida mínimo de 30 semanas, comparativamente a apenas 25%, em cães que desenvolveram massas em períodos inferiores a 28 semanas (Michels et al. 2002a).

7.1.1.6. Estádio clínico

A presença de metastização linfática e a sua influência no prognóstico é um tema bastante debatido, havendo autores que sugerem que animais que apresentam metastização linfática apresentam menor intervalo de tempo de controlo da doença e tempo de sobrevida médio (Ladue et al. 1998; Thamm et al. 1999a), enquanto outros relatam não constituir um fator prognóstico negativo, desde que o linfonodo afetado seja sujeito a radioterapia (Chaffin and Thrall 2002), ou removido cirurgicamente e o cão seja sujeito a quimioterapia ou

radioterapia posteriormente (Thamm et al. 1999a; THAMM et al. 2006b; Camps-Palau et al. 2007).

7.1.1.7. Histórico de recidiva

Os MCT originários de recidivas apresentam pior prognóstico comparativamente a MCT de primeiro diagnóstico, sendo que as taxas de mortalidade podem ascender a 86-100% (Bostock 1973c; Patnaik et al. 1984e), sendo que Horta et al.(2018d), reportou uma taxa de mortalidade de 80% nestas situações, mesmo recorrendo a modalidades terapêuticas adjuvantes para controlo da doença.

7.1.1.8. Dimensão e avaliação histológica das margens cirúrgicas

Cerca de 10 a 30% dos MCT que obtiveram a classificação de margens cirúrgicas “incompletas” ou “contaminadas” recidiva localmente (Misdorp 1987; Séguin et al. 2006b; Vincenti and Findji 2017b).

7.1.1.9. Marcadores Imunohistoquímicos

O estudo com marcadores imunohistoquímicos poderá ser realizado no seguimento da análise histopatológica, em casos de diagnóstico inicial inconclusivo ou em contexto de prognóstico, de forma a auxiliar nas decisões terapêuticas (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022).

7.1.1.9.1. Proteína Ki-67

A densidade de proteína Ki-67 está diretamente relacionada com o grau histológico do MCT (Abadie et al. 1999), estando o seu aumento associado a maior risco de mortalidade devido à neoplasia, especialmente em MCT de grau II (Scase et al. 2006a). Em MCT cutâneos uma densidade de proteína Ki-67 superior a 23 células (positivas) em 5 HPF está associado a um risco acrescido de recidiva e metastização (Webster et al. 2007a).

7.1.1.9.2. Proteínas AgNOR

O valor de AgNOR está associado com o tempo de sobrevivência médio (Simoies et al. 1994a; Scase et al. 2006b), sendo que valores elevados desta proteína (valor de cut-off 2,25) estão associados a maior probabilidade de metastização (Blackwood et al. 2012a), embora este marcador não consiga prever o comportamento biológico do MCT independentemente do grau histológico (Simoies et al. 1994a; Scase et al. 2006b).

7.1.1.9.3. Índice Mitótico

O índice mitótico elevado (IM> 5 ou IM>7 figuras mitóticas em 10HPF) está associado a pior prognóstico (Romansik et al. 2007c; Elston et al. 2009b).

7.1.1.9.4. Padrão de dispersão KIT/CD117

Existem três padrões de dispersão da proteína KIT: padrão membranar (padrão de dispersão 1), padrão citoplasmático focal (padrão de dispersão 2) e padrão citoplasmático difuso (padrão de dispersão 3) (Kiupel et al. 2004b; Preziosi et al. 2004), estando os dois

últimos associados a comportamento biológico mais agressivo e, portanto, pior prognóstico (Kiupel et al. 2004b). Contudo, estudos recentes associam este desfecho negativo apenas ao padrão de dispersão 3 (Horta et al. 2018d).

7.1.1.9.5. Estatuto mutacional do Proto oncogene c-KIT

A presença de mutação neste gene está associada a pior prognóstico, com aumento da probabilidade de recidiva e metastização (Zemke et al. 2002b; Webster et al. 2007b; Horta et al. 2018d; Tamlin et al. 2020b; Brocks et al. 2021).

7.1.2. Relativos ao indivíduo

7.1.2.1. Raça, Idade e Sexo

Alguns estudos reportam uma possível associação entre comportamento biológico e a raça, sendo que Boxers e braquicéfalos de raças predispostas (como o Pug e o Bouledogue, por exemplo) tendem a desenvolver MCT de comportamento menos agressivo, sendo predominantemente de graus I e II de Patnaik, enquanto animais da raça Sharpei tendem a desenvolver MCT de comportamento biológico mais agressivo (Thamm 2013a; Mochizuki et al. 2017; Śmiech et al. 2018a).

Quanto à idade, os animais mais velhos poderão apresentar intervalos de tempo de controlo de doença mais curtos que animais mais jovens, quando tratados com radioterapia (London and Thamm 2019).

No que toca ao género, os cães machos apresentaram tempos de semivida mais curtos que fêmeas, quando tratados com protocolos de quimioterapia (London and Thamm 2019).

7.1.2.2. Presença de sinais clínicos locais e sistémicos

A presença de sinais clínicos como anorexia, vômito e melena estão mais frequentemente associados às formas viscerais e disseminadas da doença e, portanto, concedem pior prognóstico quando estão presentes (O'Keefe et al. 1987a; Pollack 1991; Hume et al. 2011b).

A presença de sinais locais, derivados também da desgranulação dos mastócitos e libertação de substâncias ativas, tais como ulceração, edema e prurido concede pior prognóstico quando presentes (Thamm et al. 1999a; Hume et al. 2011b).

7.1.2.3. Número de MCT

A influência da presença de múltiplos MCT em simultâneo, no prognóstico, é uma temática bastante debatida, sendo que alguns autores determinam que animais com MCT múltiplo apresentam pior prognóstico face a animais com MCT solitário (Thamm et al. 1999b; Mullins et al. 2006c; Murphy et al. 2006b; THAMM et al. 2006c), enquanto outros autores não relatam qualquer influência do número de massas no prognóstico (Kiupel et al. 2005; Preziosi et al. 2007a).

7.1.2.4. Resposta ao tratamento

O desenvolvimento de recidiva local após tentativa cirúrgica de excisão completa constitui também um fator de prognóstico negativo (Thamm et al. 1999c; Séguin et al. 2006c; Hume et al. 2011b; Horta et al. 2017 Nov 1).

7.2. Diferenças entre mastocitomas genitais e perineais e mastocitomas noutras localizações anatómicas

O desenvolvimento de MCT na região inguinal, nomeadamente nas virilhas, área perivulvar, escrotal e perineal é historicamente associado a um pior prognóstico, exibindo comportamento biológico mais agressivo, independentemente do grau histológico (Macy 1985; Turrel et al. 1988b; Richard W. Nelson e C. Guillermo Couto 2015; de Nardi, Dos Santos Horta, et al. 2022).

A antecipação do comportamento biológico de massas nestas localizações é um assunto muito debatido sendo, contudo, de aceitação geral que os MCT localizados nas regiões prepucial e escrotal apresentam duração de controlo da doença mais curto devido à elevada tendência de recidiva local e desenvolvimento de novos MCT (Horta et al. 2018e; Śmiech et al. 2018b), e que os MCT na região escrotal apresentam maior grau histológico e desenvolvimento precoce de metástases (Horta et al. 2018e; Śmiech et al. 2018b).

Contudo, a antecipação do comportamento biológico e prognóstico de animais com MCT nas regiões perineal e genital deverá ser realizada com precaução, com auxílio de estadiamento clínico completo e check-ups de rotina regulares, independentemente do grau histológico apresentado pelo tumor (Wright 2020).

III. INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO GENITAL E PERINEAL NO COMPORTAMENTO CLÍNICO E PROGNÓSTICO DE MASTOCITOMAS CUTÂNEOS EM CÃES

1. Introdução

O MCT é a neoplasia cutânea maligna mais frequente no cão, contabilizando 10 a 21% do total das neoplasias cutâneas nesta espécie. Esta neoplasia tem uma apresentação clínica e comportamento biológico muito variáveis, tornando o seu diagnóstico, posterior tratamento e estabelecimento de prognóstico bastante desafiantes. O prognóstico dos animais afetados por esta doença pode ser afetado por vários fatores, incluindo a localização anatômica em que o tumor se encontra, presença ou ausência de sinais de metastização regional e à distância e pelo grau histológico apresentado pelo MCT, que corresponde ao fator de prognóstico mais fiável e com maior efeito preditivo. Historicamente, é aceite e referido por vários autores que os MCT cutâneos localizados nas regiões genital e perineal apresentam comportamento biológico mais agressivo e, portanto, prognóstico mais reservado, comparativamente a mastocitomas cutâneos desenvolvidos noutras regiões anatómicas. Contudo, este conceito foi investigado apenas em dois estudos (Cahalane et al. 2004; Sfiligoi et al. 2005b). Tendo em conta esta perceção, o presente estudo foi formulado com vista a investigar a veracidade deste conceito.

2. Objetivos

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar se mastocitomas cutâneos com localização genital e perineal apresentam comportamento biológico mais agressivo e, portanto, pior prognóstico face a mastocitomas cutâneos com localização noutras regiões corporais. O objetivo secundário do trabalho foi a caracterização da amostra tendo em conta a localização dos mastocitomas.

Informações clínicas relevantes como idade, raça, sexo, porte, número de mastocitomas e dimensões dos mesmos, presença de sinais clínicos sistémicos e parâmetros diretamente associados ao prognóstico do animal, tais como caracterização histológica e imunohistoquímica da neoplasia, presença ou ausência de metástases (regionais e à distância), recidivas locais, classificação histológica das margens cirúrgicas obtidas, realização ou não de tratamento quimioterápico adjuvante ou neoadjuvante, mortalidade e tempo de sobrevivência associados foram recolhidos a partir das plataformas “qvet” e “Guruvet”.

3. Materiais e métodos

3.1. Recolha de casos

O estudo conduzido é de caráter retrospectivo, descritivo e observacional.

Numa primeira fase, a partir do arquivo de registos do Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, procedeu-se à pesquisa manual de relatórios histopatológicos e citológicos que mencionassem o diagnóstico de mastocitomas nas regiões perineal, escrotal, prepucial e parapeniana em cães e nas regiões perineal, vulvar ou perivulvar em cadelas, nas conclusões da análise, no período decorrido entre 1 de janeiro de 2011 e 31 de dezembro de 2022, constituindo estes animais o grupo experimental (Grupo A) do estudo. Simultaneamente foram pesquisados, da mesma forma, relatórios histopatológicos que mencionassem o diagnóstico de mastocitoma cutâneo em cães e cadelas, no período decorrido entre 1 de janeiro de 2018 e 31 de dezembro de 2022, constituindo estes animais o grupo controlo (Grupo B). O Grupo B incluiu cães com diagnóstico de mastocitoma cutâneo solitário em qualquer região do corpo exceto em mucosas ou na transição mucocutânea, localizações genital e perineal e outras formas neoplásicas, tais como mastocitose visceral. Os mastocitomas do grupo B foram escolhidos tendo por base uma classificação histopatológica, sob a escala de Patnaik, de grau equivalente ao grupo A (ou seja, se existirem 20 animais com o diagnóstico de mastocitoma de grau II de Patnaik no grupo A, teremos de ter um número de animais equivalente no grupo controlo, sob as mesmas condições).

A segunda fase da seleção da amostra consistiu na pesquisa e avaliação do historial clínico de cada canídeo identificado na primeira fase, com recurso aos softwares de gestão “Guruvet” e “qvvet”, utilizados no HEV-FMV.

Foram recolhidas as informações clínicas relevantes como idade, raça, sexo, porte, número de mastocitomas e dimensões dos mesmos, presença de sinais clínicos sistémicos e parâmetros diretamente associados ao prognóstico do animal, tais como caracterização histológica e imunohistoquímica da neoplasia, presença ou ausência de metástases (regionais e à distância), recidivas locais, classificação histológica das margens cirúrgicas obtidas, realização ou não de tratamento quimioterápico adjuvante ou neoadjuvante, mortalidade e tempo de sobrevivência.

Desta pesquisa e seleção (tendo por base os critérios de inclusão e exclusão) resultaram 50 animais com mastocitoma cutâneo nas regiões escrotal, prepucial, perineal, vulvar ou perivulvar e parapeniano (Grupo A) e 50 animais com mastocitoma cutâneo noutras localizações que não as referidas (Grupo B), tendo em conta os critérios de inclusão e exclusão.

3.2. Critérios de inclusão e exclusão

Na segunda fase da seleção da amostra foram aplicados determinados critérios de inclusão e exclusão, de forma a tornar a amostra o mais fiável possível, e, portanto, aumentar a significância e segurança dos resultados obtidos posteriormente. Os critérios de inclusão foram:

- 1) Indivíduos da espécie canina;
- 2) Animais seguidos pela equipa médico-veterinária do HEV-FMV;
- 3) Diagnóstico de mastocitoma cutâneo nas regiões escrotal, prepucial, perineal, vulvar ou perivulvar e parapeniana;
- 4) Registos clínicos completos desde o diagnóstico inicial até ao desfecho do caso;
- 5) Terem terminado o ciclo de quimioterapia (caso tivessem realizado) há mais de 1 ano.
- 6) Terem realizado os controlos oncológicos recomendados, nos 2 anos que seguiram o término da quimioterapia adjuvante.

Por sua vez, os critérios de exclusão incluíram:

- 1) Indivíduos que não os da espécie canina;
- 2) Animais não seguidos pela equipa médico-veterinária do HEV-FMV;
- 3) Animais sem diagnóstico de mastocitoma cutâneo nas regiões genitais e perineais já mencionadas;
- 4) Animais com diagnóstico histopatológico ou citológico posterior a 31 de dezembro de 2022 ou anterior a 1 de janeiro de 2011;
- 5) Animais com outra neoplasia maligna concomitante (hemangiossarcoma, por exemplo);
- 6) Animais que apresentassem registos clínicos incompletos;
- 7) Animais com outras formas de mastocitoma que não a cutânea (visceral, por exemplo);
- 8) Animais pertencentes a tutores que, após o diagnóstico, optaram por não implementar qualquer forma de tratamento ou controlo clínico periódico, por variados motivos incluindo os financeiros;
- 9) Animais que morreram subitamente (atropelamento, por exemplo) ou foram eutanasiados por motivos não neoplásicos, antes do diagnóstico histopatológico ou citológico de mastocitoma, logo após o mesmo, ou durante o tratamento.

3.3. Parâmetros de estudo

Os dados referentes aos animais considerados aptos a ser incluídos (de ambos os grupos do estudo) foram reunidos num documento no software Microsoft® Word, onde consta o historial clínico detalhado desde o diagnóstico inicial até ao desfecho do caso, fosse ele eutanásia, morte ou alta oncológica. Estes dados foram posteriormente sintetizados num documento Excel, que continha os parâmetros a analisar.

Os dados clínicos relativos ao animal como idade, sexo, raça, porte, tamanho do pelo (quando referido ou expectável pela raça), estatuto sexual (se tinha realizado ou não esterilização cirúrgica ou química), alterações nos parâmetros sanguíneos do hemograma e painel bioquímico, presença ou ausência de síndrome paraneoplásica, indícios de patologia dermatológica crónica ou outras neoplasias concomitantes foram registados nestes documentos.

A nível da neoplasia em si, foram registados dados referentes à localização, tamanho e número de nódulos, bem como parâmetros de estadiamento como presença ou ausência de metastização regional e à distância (resultados das PAAF's de fígado, baço, linfonodos e análise de relatórios de ecografia abdominal e radiografia torácica, ou caso tivessem sido realizadas, TC das regiões abdominal e torácica) e caracterização histopatológica e imunohistoquímica (quando realizadas) da neoformação e das margens de segurança obtidas, caso tenha sido realizada extirpação da mesma.

No âmbito do tratamento foram recolhidos dados referentes à realização ou não de cirurgia, necessidade de realização de quimioterapia neoadjuvante e/ou adjuvante, número de sessões de quimioterapia realizadas, fármaco(s) quimioterápico(s) utilizado(s) e desenvolvimento de efeitos adversos no seu decurso.

Vários parâmetros foram considerados com vista à avaliação completa do prognóstico, nomeadamente através da aquisição de dados adquiridos no decurso dos controlos periódicos sugeridos pela equipa de oncologia do HEV-FMV, incluindo o desenvolvimento de recidivas locais, metástases regionais ou à distância, taxa de mortalidade e tempo de sobrevida associado (ou seja, intervalo de sobrevida desde a finalização do tratamento até ao momento da morte) e tempo de sobrevida geral, obtido através da avaliação do número de animais vivos 1 e 2 anos após o término do ciclo de quimioterapia adjuvante, considerando que após 2 anos os animais têm alta clínica pela unidade de oncologia.

3.4. Análise estatística

Os dados recolhidos foram compilados numa folha de cálculo da plataforma Microsoft Excel® 2016 e posteriormente importados e sujeitos a análises estatísticas utilizando o software jamovi® Desktop (versão 2.6.44 current). Relativamente ao agrupamento em variáveis categóricas, animais com peso corporal igual ou inferior a 10 quilogramas (Kg) foram classificados como sendo de porte pequeno, animais com pesos compreendidos entre os 10,1 e os 25 Kg foram classificados como porte médio e cães com peso igual ou superior a 25,1 Kg foram classificados como sendo de porte grande (Grandjean et al. 2006). Quanto à conformação braquicefálica, animais pertencentes a raças com esta conformação característica foram classificados como “braquicefálicos” e animais não pertencentes a este grupo de raças ou de raça indeterminada foram classificados como “não braquicefálicos”.

Numa primeira fase foi realizada a análise descritiva dos dados de forma a caracterizar a amostra quanto a fatores relativos ao indivíduo (analisando as variáveis idade, sexo, estatuto sexual, raça e porte), fatores relativos à neoplasia em si (analisando as variáveis tamanho, número e localização neoplásicas e a presença ou ausência de síndrome paraneoplásica associada) e fatores relativos ao estadiamento da doença (analisando os dados relativos a evidência de metastização abdominal e torácica (com auxílio de ecografia abdominal, radiografia torácica e/ou TC torácica e/ou abdominal) e presença ou ausência de mastocitose hepatoesplênica, confirmada através de PAAF hepática e esplênica). De forma a investigar uma possível associação entre apresentar conformação braquicefálica e o grau histológico de malignidade apresentado pelos mastocitomas cutâneos, foi realizado um teste de Qui-quadrado (χ^2) de independência.

Numa segunda fase foi realizada uma análise de sobrevivência multivariada de regressão de Cox de forma a avaliar os fatores que poderiam influenciar a sobrevivência de cães diagnosticados com mastocitoma cutâneo, incluindo o fator localização (genital e perineal versus localizações anatómicas exibidas pelo grupo controlo) e fatores clínico patológicos, em função do tempo. Foi ainda realizada uma estatística descritiva de forma a analisar a distribuição da mortalidade em função do grupo, grau histológico (considerando a escala de graduação de Patnaik) e localização da neoplasia.

Por último, foi realizada uma análise de sobrevivência, utilizando as curvas de Kaplan-Meier e a análise de regressão de Cox univariada, de forma a comparar o tempo até à ocorrência do evento, entre os grupos controlo e experimental, culminando com uma análise por pontos no tempo ou “time-point analysis”, com vista a verificar o impacto da neoplasia sobre a sobrevivência dos indivíduos em momentos específicos ao longo do tempo, considerando como limite temporal do estudo os 730 dias após finalização da quimioterapia adjuvante, quando aplicável.

Para todas as análises realizadas foram considerados estatisticamente significativos todos os resultados que apresentaram um nível de significância estatístico (p) inferior a 0.05, ou seja, $p < 0,05$.

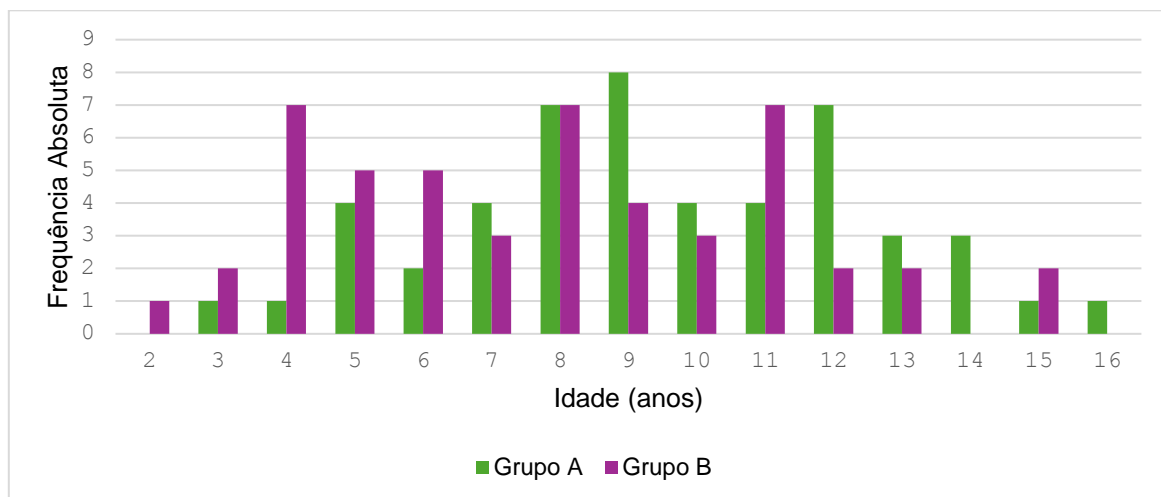
4. Resultados

4.1. Caracterização da amostra

4.1.1. Fatores relativos ao indivíduo

Com base nos critérios de inclusão e exclusão discriminados na secção 2.2. foi constituída uma amostra de 100 canídeos, sendo que 50 animais pertenceram ao grupo A e os restantes 50 animais pertenceram ao grupo B. A idade média ao diagnóstico foi de $9,50 \pm 3,01$ e $7,82 \pm 3,27$ anos e a mediana de 9 e 8 anos, para os grupos A e B, respetivamente. A idade mais representada foi os 9 anos (16%) e a menos representada a dos 2 anos de idade (0%) no caso do Grupo A, sendo que o Grupo B apresentou sobre representação dos 4, 8 e 11 anos (14%) e sub-representação dos 14 e 16 anos de idade (0%), num intervalo que abrangeu todas as idades entre os 2 e 16 anos.

Gráfico 2: Frequência absoluta das idades da amostra populacional em estudo.



Dos 100 animais constituintes da amostra, 43 eram fêmeas (43%) e 57 eram machos (57%). A maioria das fêmeas era ovariectomizada (35/43), contrariamente ao observado nos cães machos, em que a maioria era inteiro (41/57).

Tabela 3: Frequências absoluta e relativa do sexo e estatuto sexual dos animais da amostra.

Sexo e Status Sexual	Grupo	n	% do Total	% acumulada
F	B	30	30,0	30,0
	A	13	13,0	43,0
M	B	20	20,0	63,0
	A	37	37,0	100,0
Fi	B	5	5,0	5,0
	A	2	2,0	7,0
OVH	B	25	25,0	32,0
	A	11	11,0	43,0
Mi	B	12	12,0	55,0
	A	27	27,0	82,0
Mc	B	8	8,0	90,0
	A	10	10,0	100,0

Legenda: F (Fêmea); M (Macho); Fi (Fêmea inteira); Mc (Macho castrado); Mi (Macho inteiro); OVH (fêmea ovariectomizada); n (frequência absoluta).

O estudo contou com a contribuição de animais de uma grande variedade de raças, sendo que 23 eram de raça indeterminada/indefinida (23%) e 77 eram de raça pura (77%). A raça mais representada foi o Retriever do Labrador (33%), seguido do Boxer (10%), Buldogue Francês (5%) e Pug (5%), sendo que as restantes raças apresentaram uma distribuição muito semelhante, com sub-representação de várias raças, como por exemplo o Kyi-Leo (1%), Setter Irlandês (1%), Sharpei (1%) e Cão da Serra da Estrela (1%). Não foram verificadas diferenças significativas na distribuição de raças entre os Grupos A e B.

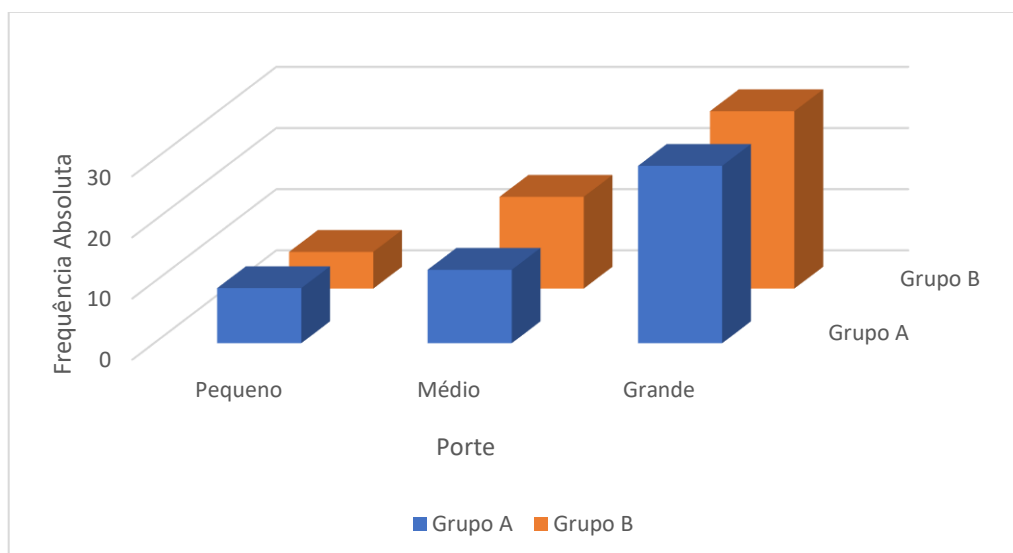
Tabela 4: Frequências absoluta e relativa das raças representadas na amostra populacional.

Raça	Grupo	Contadores	% do Total	% acumulada
Barbado da Terceira	B	0	0,0	0,0
	A	1	1,0	1,0
Beagle	B	2	2,0	3,0
	A	0	0,0	3,0
Boerboel	B	1	1,0	4,0
	A	0	0,0	4,0
Boston Terrier	B	0	0,0	4,0
	A	1	1,0	5,0
Bouvier Bernois	B	1	1,0	6,0
	A	0	0,0	6,0
Boxer	B	4	4,0	10,0
	A	6	6,0	16,0
Bouledogue Francês	B	3	3,0	19,0
	A	2	2,0	21,0
Bull Terrier	B	2	2,0	23,0
	A	0	0,0	23,0
Cane Corso	B	1	1,0	24,0
	A	0	0,0	24,0
Caniche	B	1	1,0	25,0
	A	1	1,0	26,0
Golden Retriever	B	2	2,0	28,0
	A	2	2,0	30,0
Jack Russel	B	1	1,0	31,0
	A	1	1,0	32,0
Kyi-Leo	B	0	0,0	32,0
	A	1	1,0	33,0
Retriever do Labrador	B	17	17,0	50,0
	A	16	16,0	66,0
Pitbull Terrier	B	0	0,0	66,0
	A	1	1,0	67,0
Pug	B	2	2,0	69,0

Raça	Grupo	Contadores	% do Total	% acumulada
SRD	A	3	3,0	72,0
	B	10	10,0	82,0
Cão da Serra da Estrela	A	13	13,0	95,0
	B	1	1,0	96,0
Setter irlandês	A	0	0,0	96,0
	B	1	1,0	97,0
Sharpei	A	0	0,0	97,0
	B	0	0,0	97,0
Yorkshire Terrier	A	1	1,0	98,0
	B	1	1,0	99,0
	A	1	1,0	100,0

Relativamente ao porte, existiu uma sobrerrepresentação de indivíduos de porte grande (58%), comparativamente a animais de porte médio e pequeno (27% e 15%, respetivamente).

Gráfico 3: Frequência absoluta do porte dos Grupos A e B.



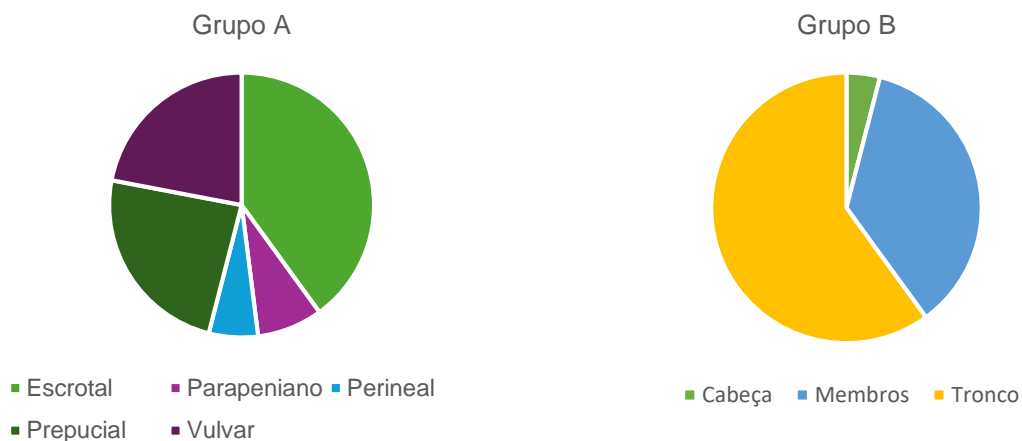
4.1.2. Fatores relativos à neoplasia

O mastocitoma múltiplo (2 ou mais neofomações) foi observado em 8% dos animais, tendo sido verificado apenas no Grupo A. Em 92% dos animais foi diagnosticado mastocitoma solitário (apenas uma neofomação). Os nódulos presentes exibiram uma grande variabilidade

de dimensões, com uma média de comprimento do eixo maior de 2,04 centímetros (cm), num intervalo que se estende dos 0,2 aos 8,0 cm. As dimensões mais observadas nos grupos B e A foram 2,0 e 1,0 cm, respetivamente, sendo que em 6% dos casos o tamanho da neoformação não foi documentado na ficha clínica do animal e/ ou análise histopatológica da peça tumoral.

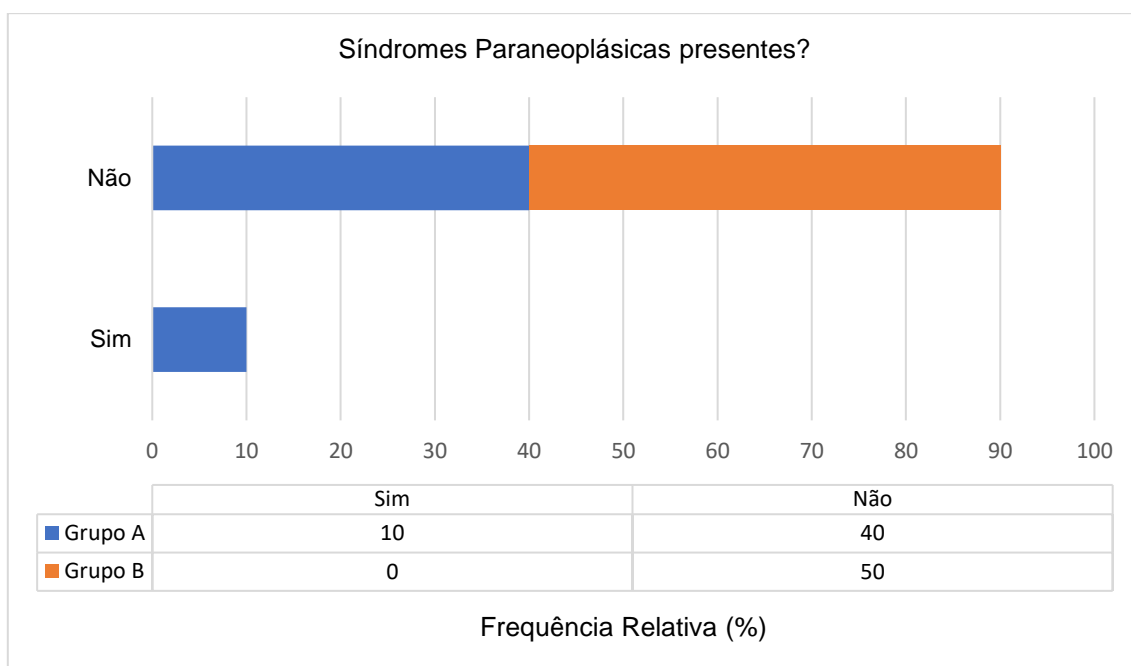
No Grupo A e no que diz respeito à localização da lesão, 20 animais apresentaram mastocitoma com localização escrotal (40%), 4 apresentaram mastocitomas parapeniano (8%), 3 apresentaram mastocitomas perineal (6%) e 12 e 11 animais apresentaram mastocitomas na região prepucial (24%) e vulvar (22%), respetivamente. Dos 50 animais que constituíram o Grupo B, 4% (n=2) apresentaram lesões na cabeça, 36% (n=18) apresentaram lesões na região dos membros e 60% (n=30) apresentaram lesões no tronco.

Gráfico 4: Frequência relativa da localização neoplásica nos indivíduos constituintes dos grupos A e B.



Aquando do momento do diagnóstico, só no Grupo A foi verificado a presença de síndromes paraneoplásicas em 10 animais, o que corresponde a 10% da população total. Entre as síndromes mais associadas estão sinais clínicos do foro gastrointestinal, incluindo hematoquézia (1%), diarreia (1%) e vômito (1%) isolados e combinados (3%), sinais dermatológicos (incluindo prurido generalizado e um descontrolo da dermatite atópica controlada até à data) em 3% dos casos e sinais inespecíficos (incluindo prostração, letargia e anorexia) em 1% dos casos.

Gráfico 5: Frequência relativa da presença e ausência de síndromes paraneoplásicas, quando do diagnóstico inicial.



4.1.3. Fatores relativos ao estadiamento

Entre os animais que realizaram estadiamento clínico da doença, 4 (8%) animais pertencentes ao Grupo A e 3 (6%) animais do Grupo B apresentaram evidência de metastização na cavidade abdominal, comprovada por ultrassonografia e/ou TC. A metastização estava presente nos órgãos do sistema linfático (na totalidade dos casos), incluindo nos linfonodos ilíaco medial esquerdo em 2 (2%) indivíduos, ilíaco medial e inguinal esquerdo em 1 (1%) caso, ilíacos mediais bilateralmente em 3 (3%) casos e inguinais (bilateralmente) simultaneamente com ilíaco medial direito em 1 (1%) caso. Dos 100 animais, 84 (84%) não apresentaram evidências de metastização abdominal e 9 (9%) não realizaram este passo de estadiamento. A nível de metastização hepatoesplénica, 1 animal (1%) animal do grupo experimental e 2 (2%) animais do grupo controlo apresentaram mastocitose hepática, enquanto 1 (1%) animal do primeiro grupo apresentou mastocitose esplénica, equivalentemente ao segundo grupo (n=1; FR=1%), evidenciados pela realização de PAAF ecoguiada de fígado e baço. Dos 100 animais, 48 (48%) não apresentou evidências de metastização hepática e 49 (49%) não realizou este passo do estadiamento, enquanto 47 (47%) dos animais não apresentou metastização esplénica e 51 (51%) não realizou PAAF ecoguiada de baço, entre os quais 1 (1%) animal não o fez por ter realizado esplenectomia previamente.

A nível da cavidade torácica, não existiu evidência de metastização nos 87 animais submetidos a RX (radiografia) ou TC torácico e em 13 animais não foram realizados estes exames.

4.1.4. Associação entre braquicefalia da raça e grau histológico

Não existiu associação significativa entre as variáveis consideradas (neste caso, as variáveis “Raça braquicefálica” e “Grau de Patnaik”), pois o valor do χ^2 , para 2 graus de liberdade, foi de 0,381, e o valor de p foi equivalente a 0,827, ou seja, $p \geq 0,05$. Os valores observados e esperados, para cada célula da tabela de contingência, foram semelhantes, e os resíduos ajustados permaneceram dentro dos limites aceitáveis (nenhum valor excedeu ± 2), o que reforça a ausência de diferenças significativas. Estes resultados indicam que, na amostra populacional estudada, cães de raça braquicefálica não apresentaram mastocitomas de grau histológico inferior ou superior e, portanto, características histológicas mais benignas ou malignas, tendo por base a escala de classificação histológica analisada (neste caso, escala de Patnaik), comparativamente aos cães de raça não braquicefálica.

Tabela 5: Tabelas de contingência com os valores observados, esperados e totais de graus de Patnaik agrupados pela categoria de braquicefalia da raça.

Raça braquicefálica		Grau de Patnaik			Total
		I	II	III	
N	Observado	28	19	30	77
	Esperado	29.26	18.48	29.26	77.0
S	Observado	10	5	8	23
	Esperado	8.74	5.52	8.74	23.0
Total	Observado	38	24	38	100
	Esperado	38	24	38	100

Legenda: N (Não braquicefálica); S (Raça braquicefálica).

Tabela 6: Teste de Qui-quadrado de independência, aplicado aos valores exibidos na tabela 5.

	Valor	gl	p
χ^2	0.381	2	0.827
N	100		

Legenda: χ^2 (Qui-quadrado); gl (graus de liberdade); p (p-value ou nível de significância estatística observado); N (frequência absoluta).

Tabela 7: Post Hoc Test (Teste dos resíduos ajustados).

Raça braquicefálica	Grau de Patnaik		
	I	II	III
N	-0.235	0.120	0.136
S	0.417	-0.225	-0.254

Legenda: N (Não braquicefálica); S (Raça braquicefálica).

4.2. Fatores relativos ao prognóstico

4.2.1. Influência multifatorial no prognóstico do doente

O único fator estatisticamente associado a um pior prognóstico foi o desenvolvimento de metástases após o tratamento (evidenciado pela realização de exames imagiológicos de controlo) (HR = 54.01; IC95% = 3.79–769.16; $p=0.003$), sugerindo um risco de morte cerca de 54 vezes superior em comparação com os cães que não desenvolvem metástases. No que diz respeito à localização da neoplasia, nenhuma das localizações anatómicas analisadas, incluindo escroto, região parapeniana, períneo, prepúcio e vulva, demonstrou associação significativa com o tempo de sobrevivência ($p > 0.05$ em todos os casos), apesar de algumas apresentarem hazard ratios superiores a 1.

As restantes variáveis analisadas, como grupo (experimental versus controlo), o grau histológico (utilizando a classificação nas escalas de Kiupel e Patnaik), padrão de dispersão da proteína KIT, desenvolvimento de recidiva local, classificação histológica das margens cirúrgicas (obtidas após extirpação da massa), realização (ou não) de quimioterapia e índice proliferativo, não se revelaram significativamente associadas ao prognóstico ($p>0.05$ em todos os casos na análise multivariada), na presente amostra populacional.

O modelo demonstrou uma boa capacidade preditiva do risco (com uma concordância de 0.840) e valor de R^2 de 0.208 (ou seja, o modelo explica cerca de 20,8% da variabilidade no tempo de sobrevivência dos animais), o que revela um desempenho razoável da análise, influenciado pela quantidade elevada de variáveis não observadas.

Tabela 8: Análise de sobrevivência multivariada de regressão de Cox.

Variável dependente		total	HR (univariável)	HR (multivariável)
Grupo	B	23 (57.5)	-	-
	A	17 (42.5)	1.41 (0.75-2.64, p=0.283)	1.38 (0.62-3.09, p=0.426)
Grau de Kiupel	alto	6 (15.0)	-	-
	baixo	34 (85.0)	0.79 (0.33-1.89, p=0.602)	2.21 (0.48-10.26, p=0.309)
Grau de Patnaik	I	23 (57.5)	-	-
	II	11 (27.5)	1.05 (0.51-2.16, p=0.889)	1.26 (0.60-2.64, p=0.574)
	III	6 (15.0)	1.28 (0.52-3.14, p=0.590)	NA (NA-NA, p=NA)
Padrão de dispersão da proteína KIT	1	24 (60.0)	-	-
	1e 2	1 (2.5)	14.92 (1.52-146.42, p=0.020)	0.86 (0.04-18.54, p=0.923)
	2	6 (15.0)	0.96 (0.39-2.36, p=0.934)	0.74 (0.20-2.72, p=0.654)
	3	9 (22.5)	2.01 (0.93-4.33, p=0.076)	2.23 (0.47-10.52, p=0.312)
Classificação histológica das margens cirúrgicas após extirpação neoplásica	Contaminadas	1 (2.5)	-	-
	Inconclusivo	0 (0.0)	NA (NA-NA, p=NA)	NA (NA-NA, p=NA)
	Limpas	39 (97.5)	1.20 (0.16-8.70, p=0.806)	1.41 (0.14-14.01, p=0.768)
Desenvolvimento de metástases (detetadas por ecografia ou TC abdominal + Rx ou TC torax)	N	36 (90.0)	-	-
	S	4 (10.0)	66.60 (7.13-621.92, p<0.001)	54.01 (3.79-769.16, p=0.003)
Desenvolvimento de recidiva local	N	39 (97.5)	-	-
	S	1 (2.5)	23.62 (2.09-266.85, p=0.011)	0.76 (0.04-16.26, p=0.858)
Fez quimioterapia para mastocitoma?	N	23 (57.5)	-	-
	S	17 (42.5)	1.40 (0.75-2.63, p=0.289)	1.11 (0.36-3.41, p=0.850)
Localização	Cabeça	1 (2.5)	-	-
	Escroto	4 (10.0)	1.88 (0.21-16.84, p=0.572)	1.70 (0.16-17.95, p=0.660)
	Membro	8 (20.0)	1.14 (0.14-9.09, p=0.904)	0.96 (0.11-8.11, p=0.972)
	Parapeniano	1 (2.5)	28.34 (1.27-633.31, p=0.035)	0.84 (0.02-35.10, p=0.927)
	Perineal	3 (7.5)	1.40 (0.15-13.49, p=0.770)	1.75 (0.14-22.17, p=0.666)
	Prepúcio	8 (20.0)	1.30 (0.16-10.39, p=0.805)	1.04 (0.11-9.75, p=0.971)
	Tronco	14 (35.0)	1.00 (0.13-7.60, p=1.000)	0.95 (0.12-7.59, p=0.963)

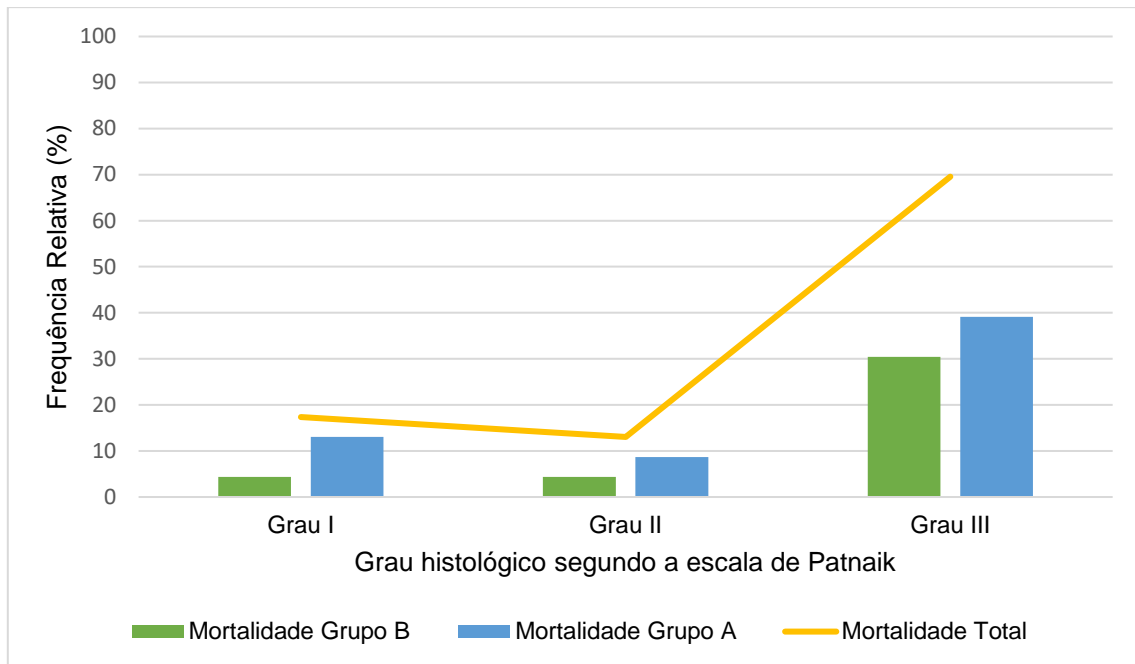
Variável dependente		total	HR (univariável)	HR (multivariável)
	Vulva	1 (2.5)	1.00 (0.06-15.99, p=1.000)	1.00 (0.06-15.99, p=1.000)
Índice proliferativo	baixo	21 (70.0)	-	-
	elevado	5 (16.7)	2.39 (0.22-26.37, p=0.478)	1.28 (0.00-Inf, p=1.000)
	moderado	2 (6.7)	0.00 (0.00-Inf, p=0.999)	1.72 (0.00-Inf, p=1.000)
	muito baixo	1 (3.3)	0.00 (0.00-Inf, p=0.999)	0.90 (0.00-Inf, p=1.000)
	muito elevado	1 (3.3)	10.11 (0.92-111.54, p=0.059)	273024231635.51 (0.00-Inf, p=1.000)

Legenda: HR (Hazard Ratio); p (p-value ou nível de significância estatística observado); NA (não aplicável); N (Não); S (Sim); Inf (infinito).

4.2.2. Distribuição da mortalidade por grupo, grau histológico e localização

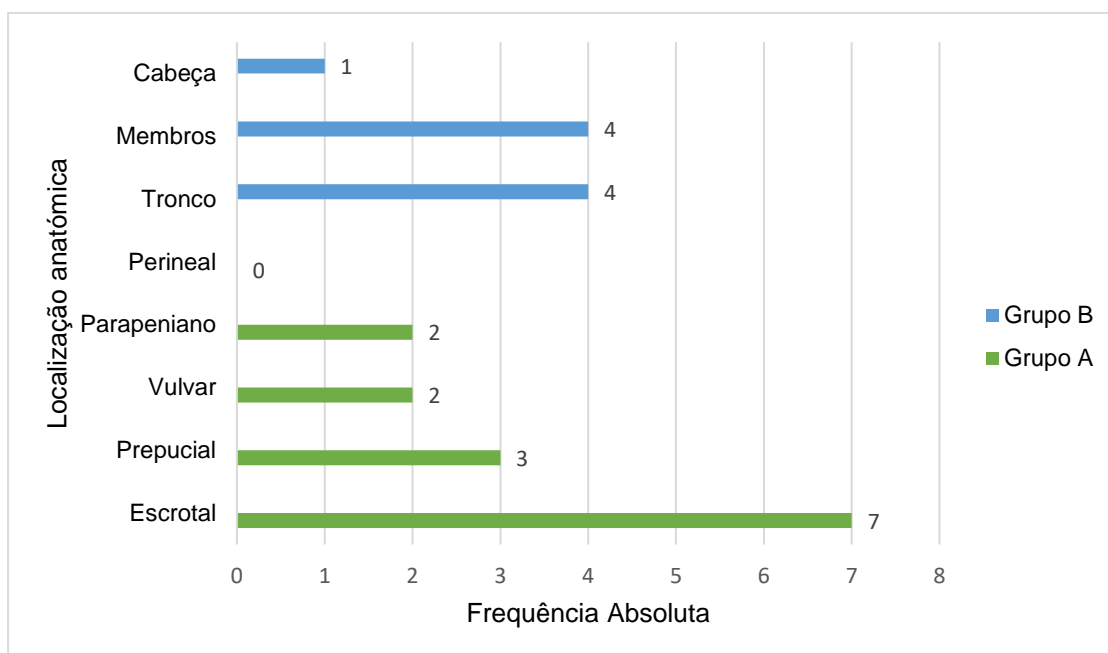
Dos 50 animais pertencentes ao Grupo B, apenas 9 (18%) morreram devido aos efeitos diretos ou indiretos do mastocitoma, comparativamente aos 14 (28%) animais pertencentes ao grupo experimental, que morreram pelo mesmo motivo. Em ambos os grupos foi verificado que mastocitomas de grau III (na escala de Patnaik) apresentaram maior mortalidade (39,13% no grupo experimental e 30,43% no grupo controlo), e mastocitomas de grau II apresentaram menor mortalidade (8,7% no grupo experimental e 4,34% no grupo controlo).

Gráfico 6: Frequência relativa da mortalidade, por grupo e grau histológico.



No que diz respeito à mortalidade dentro do Grupo A, animais que apresentaram mastocitoma na região escrotal exibiram maior mortalidade (50%, n=7), face à mortalidade exibida pelos animais com mastocitoma prepucial (21,42%, n=3), vulvar e parapeniano (14,28%, n=2 em cada) e perineal (0%, n=0), entre os 14 animais (28%) que morreram devido aos efeitos diretos ou indiretos da neoplasia. No Grupo B, animais com mastocitomas na região do tronco e membros apresentaram maior e igual mortalidade (44,4%, n=4 em cada) e aqueles com neoplasia na cabeça apresentaram mortalidade mais baixa (11,11%, n=1), entre os 9 animais (18%) que morreram devido aos efeitos diretos ou indiretos da neoplasia.

Gráfico 7: Frequência absoluta da mortalidade associada à localização anatômica da neoplasia.



4.3. Comparação do prognóstico entre os dois grupos

4.3.1. Análise de Sobrevivência

Observou-se um número maior de eventos (ou seja, do acontecimento que ambicionamos estudar, que neste caso é a morte devido a mastocitoma cutâneo em cães) no Grupo A ($n = 14$) em comparação com o Grupo B ($n = 9$), e o número de indivíduos censurados (ou seja, os indivíduos que não experienciaram o evento definido, durante o período de tempo estudado) foi superior no Grupo B ($n = 41$) relativamente ao Grupo A ($n = 36$). Com base nas estimativas do modelo, o número de eventos observado e esperado diferiu ligeiramente em ambos os grupos ($n=10,7$ no Grupo A e $n=12,3$ no Grupo B), sugerindo que o número de eventos observados foi inferior no Grupo B e superior no Grupo A.

Tabela 9: Sumário dos eventos.

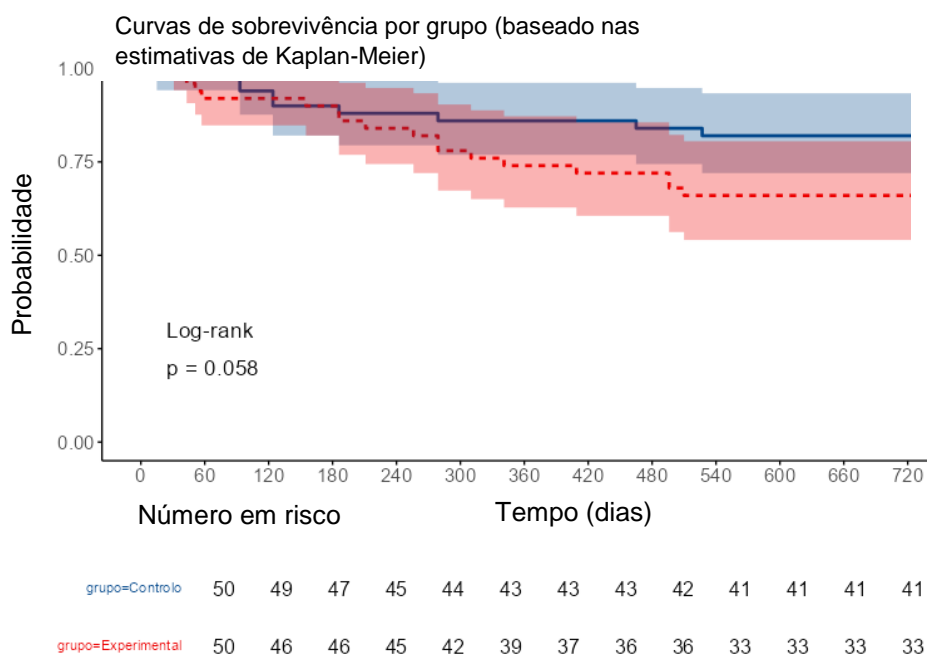
Grupo	N	Censurados	Observados	Esperados
B	50	41	9	12.3
A	50	36	14	10.7

Legenda: N (frequência absoluta).

A mediana do tempo de sobrevivência foi de 730 dias para ambos os grupos. No entanto, para os animais do Grupo A não foi possível calcular o intervalo de confiança de 95% para a mediana devido à elevada censura presente.

A análise de Kaplan-Meier revelou uma diferença não significativa entre as curvas de sobrevivência dos dois grupos (teste de log-rank: $\chi^2 (1) = 2.03$, $p = 0.154$). As curvas de sobrevivência estimadas pelo método de Kaplan-Meier (**Gráfico 6**) evidenciam uma tendência de menor probabilidade de sobrevivência, ao longo do tempo, nos animais do Grupo A, especialmente a partir dos 360 dias, em que a curva (linha vermelha tracejada) apresenta uma descida mais acentuada, embora as diferenças entre os grupos não tenham atingido significância estatística ($p = 0.058$).

Gráfico 8: Curvas de Sobrevivência de Kaplan-Meier.



O teste log-rank indicou que não houve diferença significativa entre as curvas de sobrevivência dos dois grupos ($\chi^2 = 2.03$; $p = 0.154$). Ainda assim, uma análise adicional com o gráfico de Kaplan-Meier evidenciou uma tendência marginal ($p = 0.058$) para a significância, sugerindo que uma possível diferença clínica poderá não ter atingido significância estatística devido à dimensão da amostra.

Tabela 10: Teste Log-rank (análise das diferenças).

Teste	χ^2	gl	p
Log-rank	2.03	1	0.154

Legenda: χ^2 (Qui-quadrado); gl (graus de liberdade); p (p-value ou nível de significância estatística observado).

A análise de regressão de Cox univariada corroborou esta ausência de significância estatística ao evidenciar um hazard ratio (HR) de 1.29 (IC95%: 0.87–1.91; p = 0.209) para o Grupo A em comparação com o Grupo B, indicando uma tendência para maior risco (1,29 vezes superior) de ocorrência do evento no primeiro grupo, embora sem atingir significância estatística.

Tabela 11: Análise de Regressão de Cox univariada.

Variável Explicativa	Estratificação	Total	HR (Univariável)
Grupo	B	50 (50.0)	-
	A	50 (50.0)	1.29 (0.87-1.91, p=0.209)

Legenda: HR (hazard ratio); p (p-value ou nível de significância estatística observado).

Por fim, apesar da ausência de significância estatística global, a análise por pontos no tempo mostrou uma tendência para menor sobrevivência nos animais do Grupo A, ao longo do tempo, após a conclusão (ou diagnóstico, no caso de não terem realizado quimioterapia adicional) da quimioterapia adjuvante, sendo que aos 180 dias, a probabilidade de sobrevivência foi idêntica entre os grupos (90%, IC 95%: 82%–99%). No entanto, aos 360 dias, a sobrevivência estimada atingiu o valor de 86% no Grupo B e de 74% no Grupo A. Esta diferença aumentou aos 540 dias (82% versus 66%, respectivamente), sendo que no fim do período de seguimento (730 dias) a taxa de sobrevivência estimada foi de 82% no Grupo B e 66% no Grupo A.

Tabela 12: Sobrevivência estimada aos 1 e 2 anos após conclusão (ou não) da quimioterapia adjuvante.

Grupo	Tempo (dias)	Número em risco (n)	Número de eventos (n)	Sobrevivência relativa (%)	IC 95%	
					Mínimo	Máximo
B	180	45	5	90.0%	82.1%	98.7%
B	360	43	2	86.0%	76.9%	96.2%
B	540	41	2	82.0%	72.0%	93.4%
B	730	41	0	82.0%	72.0%	93.4%
A	180	45	5	90.0%	82.1%	98.7%
A	360	37	8	74.0%	62.8%	87.2%
A	540	33	4	66.0%	54.1%	80.5%
A	730	33	0	66.0%	54.1%	80.5%

Legenda: n (frequência absoluta); IC (intervalo de confiança).

5. Discussão

O mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas malignas mais comuns na espécie canina, representando cerca de 11 a 27% deste grupo neoplásico cutâneo (Dorn et al. 1968; Priester 1973b; Cohen et al. 1974). Na literatura é sugerido, por múltiplos autores, que mastocitomas cutâneos que se desenvolvem nas regiões perineal, inguinal, escrotal e prepucial apresentam comportamento biológico mais agressivo e, portanto, maior taxa de recidiva e tempo de sobrevida mais reduzido, comparativamente a mastocitomas cutâneos que se desenvolvem noutras localizações anatómicas que não as referidas (O'Keefe et al. 1987b; Moriello and Rosenthal 1990; O'Keefe 1990b; Rogers 1996c; London and Thamm 2019). Contudo, a falta de evidência científica e estudos direcionados para verificar a sua veracidade, atribuem cariz anedótico aos factos mencionados (Sfiligoi et al. 2005b). O presente estudo teve como principal objetivo comparar as taxas de mortalidade e tempos de sobrevida associados a mastocitomas cutâneos desenvolvidos nas regiões perineal e genital *versus* mastocitomas cutâneos desenvolvidos noutras localizações anatómicas, e teve como objetivos secundários a análise do impacto de diversos fatores no prognóstico da doença, assim como a caracterização da amostra populacional em estudo.

No presente estudo existiu uma grande variabilidade no fator idade, sendo que os animais pertencentes ao Grupo A apresentaram em média 9,50 anos e os do Grupo B apresentaram em média 7,82 anos, o que está de acordo com o estudo de Wright ZM (2020), no qual a média de idade dos animais na altura do diagnóstico foi de 8,2 anos de idade. Este tipo de neoplasia é mais comum em animais adultos e seniores, apesar de já terem sido observados vários casos de mastocitoma cutâneo em animais jovens (Wright ZM, 2020). No nosso estudo, a grande maioria dos animais diagnosticados tinha uma idade compreendida entre os 8 e os 9 anos (FR= 26%; 26/100), num intervalo que abrangeu todas as idades entre os 2 e os 16 anos.

Na nossa amostra, verificou-se que a distribuição entre os sexos foi semelhante, sendo que 43% eram do sexo feminino (43/100) e 57% eram do sexo masculino (57/100), o que é concordante com o facto de não haver predisposição sexual para esta neoplasia (London and Thamm 2019; Wright 2020; de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). No que diz respeito ao estatuto sexual, as cadelas eram, na sua grande maioria, ovariectomizadas (35/43) contrariamente aos machos, que eram na sua grande maioria inteiros (41/57). Segundo White et al (2011), as fêmeas ovariectomizadas apresentam risco mais elevado de desenvolvimento de mastocitoma, sendo especulado o efeito potencialmente protetor anti-neoplásico conferido pelas hormonas sexuais.

Contrariamente ao observado no estudo de London et al (2019), no qual a maioria dos animais diagnosticados com esta neoplasia é de raça indefinida/ indeterminada, no presente estudo a maioria dos animais era de raça definida (FR=77%; 77/100). Este facto poderá ser

explicado pela crescente tendência na aquisição de animais de raça “pura” em detrimento de animais de raça indeterminada. De entre as raças representadas na amostra, existiu uma sobrerrepresentação de indivíduos pertencentes à raça Retriever do Labrador (33%) e raças braquicefálicas, como Boxer (10%), Bouledogue Francês (5%) e Pug (5%), o que está de acordo com a bibliografia consultada, que refere uma possível predisposição genética destas raças para o desenvolvimento de mastocitomas cutâneos (Peters 1969b; Patnaik et al. 1984g; Bostock 1986d; Rothwell et al. 1987e; White et al. 2011c).

O presente estudo verificou uma sobre representação de cães de porte grande (58%) em detrimento de porte médio (27%) e pequeno (15%), semelhantemente ao verificado por White et al (2011), que justificou esta tendência pelo possível efeito protetor conferido pelos baixos níveis e pelo haplótipo comum de IGF-1 (insulin-like growth factor 1) nas raças de porte pequeno, bem como pela sua maior longevidade (Chase et al. 2009).

O mastocitoma ocorre mais frequentemente na forma solitária (Pelt et al. 1986c; Mullins et al. 2006e), sendo esta a forma diagnosticada em 92% dos animais do nosso estudo. No nosso estudo, 8% dos animais apresentaram mastocitoma múltiplo, sendo este facto apenas verificado no Grupo A, comparativamente à prevalência de 11 a 14% reportada por Pelt et al. (1986c) e Mullins et al. (2006e). O mastocitoma pode adquirir várias conformações e dimensões, o que torna desafiador o seu correto diagnóstico (London and Thamm 2019). No presente estudo existiu uma grande variabilidade na dimensão, sendo que a maioria dos mastocitomas apresentou dimensões de eixo maior de 1,0 e 2,0 cm, no intervalo de 0,2 a 8,0cm. Quanto à localização, é reportado por diversos autores que 50% dos mastocitomas cutâneos estão localizados no tronco e região inguino-perineal, 40% nos membros e 10% nas regiões da cabeça e pescoço (London and Thamm 2019; de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Relativamente aos mastocitomas do Grupo A, podemos observar que 20% tinham localização escrotal, 4% tinham localização parapeniana/inguinal, 3% perineal e 12 e 11% tinham localização prepucial e vulvar, respetivamente. Estes resultados são ligeiramente diferentes dos observados no estudo de Sfiligoi et al. (2005), que em 37 cães machos, verificou que 14% tinham mastocitoma no escroto, 19% no prepúcio, 35% na região inguinal e 32% na região perineal. As discrepâncias observadas nas frequências relativas mencionadas poderão ser explicadas pela elevada seletividade exercida no processo de pesquisa de casos do Grupo A, e pela maior amostragem do estudo conduzido por Sfiligoi et al. (2005).

Secundariamente ao desenvolvimento de neofomações cerca de 50% dos animais afetados exibem sinais clínicos associados à desgranulação dos mastócitos neoplásicos e subsequente libertação de histamina e aminas vasoativas, sendo os efeitos gastrointestinais mais comumente observados (Welle et al. 2008f; Thamm 2013b; Daleck 2016). No momento do diagnóstico, foi verificado que 10% dos animais apresentaram síndromes paraneoplásicas

e 90% não apresentaram alterações. Dos 10% que apresentaram sinais clínicos associados à doença, a maioria deles apresentou sinais do foro GI, incluindo hematoquézia (1%), diarreia (1%) e vômito (1%) isolados e combinados (3%), 3% apresentaram alterações dermatológicas (incluindo prurido generalizado e descontrolo de dermatite atópica controlada medicamente) e 1% apresentou sintomatologia inespecífica, incluindo prostração, letargia e anorexia. O registo reduzido de sinais clínicos, no estudo realizado, poderá ser justificado pela não valorização, por parte dos tutores, de sinais clínicos inespecíficos apresentados pelo animal, que poderão até ser considerados frequentes na rotina diária, levando a que não sejam relatados nos momentos de consulta médica.

Idealmente, o processo de estadiamento deve ser conduzido em todos os casos de mastocitoma, de forma a avaliar a extensão da doença e guiar planos terapêuticos, bem como permitir um prognóstico mais preciso (Thamm 2013b; Daleck 2016). A probabilidade de metastização varia em função da classificação histológica do tumor (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022), sendo que deverá ser prestada atenção redobrada aquando da avaliação do fígado, baço e linfonodos satélites, devido à capacidade de disseminação linfática característica deste tipo de neoplasia (Tuohy et al. 2009b). Aquando do estadiamento, apenas 8% dos animais pertencentes ao Grupo A e 6% dos animais do Grupo B apresentaram evidências de metastização abdominal, evidenciadas pela realização de ecografia ou TC, sendo que na globalidade dos casos a metastização ocorreu por via linfática. No que diz respeito à avaliação ultrassonográfica do baço e fígado, Book et al. (2011) verificaram uma baixa sensibilidade deste método, no âmbito da deteção de metástases, sendo de 43 e 0% no primeiro e segundo caso, respetivamente, salientando a importância da realização de PAAF ecoguiada ou biópsia destes órgãos, para fins de estadiamento. No presente estudo, apenas 3 e 2% dos animais apresentou evidência citológica de metastização hepática e esplénica, respetivamente. No entanto, metade dos animais em estudo não realizou este passo do estadiamento (49% dos animais não realizou PAAF hepática e 51% não realizou PAAF esplénica). Aquando da pesquisa de metástases pulmonares, através da realização de radiografia ou TC, nenhum dos 87 animais submetidos a este passo apresentou evidências de metastização, o que está de acordo com a literatura, que afirma que o desenvolvimento de metástases pulmonares é raro e esporadicamente reportado, apesar de ser sempre recomendada a sua pesquisa (Wright 2020).

A elevada incidência desta neoplasia em determinadas raças caninas sugere uma possível suscetibilidade genética (Peters 1969c). Curiosamente, apesar de cães do grupo Bouledogue apresentarem elevada predisposição para o desenvolvimento de mastocitomas, é aceite, de forma geral, que estes apresentam menor agressividade (Bostock 1986e; McNiel et al. 2006), em contraste com os mastocitomas em cães da raça Shar Pei (Reynolds et al. 2019). No presente estudo, foi explorada uma possível associação entre o fator de

braquicefalia das raças representadas na amostra (nomeadamente as do grupo Bouledogue) e a classificação histológica, segundo a escala de Patnaik e, portanto, agressividade biológica exibida pelo tumor. No nosso estudo, não foi observada uma associação significativa entre estas duas variáveis, significando que, na amostra representada, cães de raças braquicefálicas não apresentaram diferenças na classificação histológica dos tumores, comparativamente a cães de raças não braquicefálicas, o que está de acordo com os resultados apresentados num estudo recente (Catarino et al. 2025).

O mastocitoma apresenta uma elevada variabilidade de comportamentos biológicos, podendo apresentar reduzido potencial metastático ou elevada agressividade biológica, culminando em metastização e morte (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). A classificação histológica do tumor é considerada o fator de prognóstico mais fiável e consistente, embora não consiga prever o comportamento biológico do tumor em todos os casos (Bostock 1973d; Patnaik et al. 1984h; Simoes et al. 1994b; Murphy et al. 2004d). Numa pequena percentagem de casos, London and Thamm (2019) observaram uma associação entre a morte do animal e mastocitomas bem a moderadamente diferenciados (graus I e II de Patnaik, respetivamente), salientando a importância da avaliação de vários fatores de prognóstico em conjunto com as características individuais de cada caso, de forma a estabelecer um prognóstico mais preciso e guiar de forma mais eficaz o plano terapêutico (London and Seguin 2003c).

No presente estudo, foi realizada uma análise multivariada de regressão de Cox de forma a avaliar o valor prognóstico de diferentes variáveis clínicas, histopatológicas e terapêuticas na sobrevivência dos animais incluídos na amostra. Apesar de várias variáveis terem sido testadas, apenas o desenvolvimento de metástases após o tratamento demonstrou uma associação significativa com o risco de morte, destacando-se como principal fator independente de pior prognóstico. O desenvolvimento de metástases após o tratamento foi associado a um risco de morte cerca de 54 vezes superior (HR = 54.01; IC95%: 3.79–769.16; $p = 0.003$), o que está de acordo com o observado por Blackwood et al. (2012a) e Sabbatini et al. (2015b). O desenvolvimento de metástases regionais (em linfonodos loco regionais ou nos linfonodos satélite) ou distantes (possível em todos os órgãos das cavidades torácica e abdominal, mas mais comum no fígado, baço e medula óssea) é consistentemente descrita como um dos principais indicadores de prognóstico reservado em mastocitomas em cães, particularmente nos de grau elevado ou com mutações no gene c-kit (Blackwood et al. 2012a; Sabbatini et al. 2015b). As restantes variáveis analisadas não apresentaram significância estatística no modelo multivariado, embora algumas tenham apresentado tendência para um pior prognóstico. Um exemplo é o padrão de dispersão 3 da proteína KIT, que apresentou um HR de 2.23 (IC95%: 0.47–10.52; $p = 0.312$), sendo que na literatura consultada este padrão de dispersão citoplasmático difuso, que resulta de alterações funcionais na via de sinalização do KIT, está associado a maior agressividade do comportamento tumoral, estando associado

a pior prognóstico em vários estudos (Webster et al. 2007c; Kiupel et al. 2011e). Esta falta de significância poderá ser explicada pela reduzida amostra populacional e pela elevada quantidade de animais (FR=60%) em que não foi realizada a análise imunohistoquímica. A caracterização do índice mitótico como “muito elevado” também apresentou um HR muito elevado, embora não tenha atingido o limiar de significância estatística considerado (HR= 10.11; IC95%= 0.92-111.54; p=0.059), sendo que estudos anteriores revelaram que índices mitóticos elevados estão associados a maior taxa de recidiva e menor tempo de sobrevivência e, portanto, pior prognóstico (Preziosi et al. 2007b; Elston et al. 2009c; Kiupel et al. 2011e; Thompson, Pearl, et al. 2011; Thompson, Yager, et al. 2011c). Neste estudo, esta discrepância verificada poderá dever-se à reduzida amostra populacional (69% dos animais não realizaram esta análise) e escassez de resultados extremos (o índice mitótico referido foi apenas verificado num caso), o que retira robustez à análise estatística efetuada. Simultaneamente, variáveis habitualmente consideradas relevantes no mastocitoma em cães, como a classificação histológica do tumor (nas escalas de Kiupel e Patnaik), classificação histológica das margens cirúrgicas após excisão da massa (particularmente a presença de margens contaminadas), a administração (ou não) de quimioterapia adjuvante e a localização anatómica do tumor, não se revelaram fatores prognósticos independentes na análise realizada, o que sugere que, nesta amostra, o seu efeito não foi suficientemente pronunciado para se revelarem significantes na análise multivariada. Este facto poderá ser justificado por uma baixa variabilidade entre os subgrupos, número reduzido do evento de interesse (morte devido a mastocitoma canino) ou a uma distribuição equilibrada entre os dois grupos (controlo e experimental). Por fim, é importante salientar que a ausência de dados moleculares, como a pesquisa de mutações no gene c-kit, pode ter condicionado a avaliação de alguns dos fatores biológicos mais relevantes no comportamento tumoral.

Adicionalmente, foi realizada uma análise descritiva com o objetivo de comparar a mortalidade entre os dois grupos do estudo, de forma a explorar a possível influência dos fatores grau histológico (segundo a escala de Patnaik) e localização do tumor. Esta análise evidenciou diferenças importantes, como a mortalidade relativa, que foi superior no Grupo A (FR=38.8%) comparativamente ao Grupo B (FR=18%). Esta discrepância poderá ser explicada por um perfil biológico mais agressivo, menor resposta à terapêutica implementada ou maior grau histológico, exibidos pelos tumores do Grupo A. De facto, mastocitomas de grau III estiveram associados à maior taxa de mortalidade (39,13% no Grupo A e 30,43% no Grupo B), enquanto mastocitomas de grau II estiveram associados a menor taxa de mortalidade (8,7% no Grupo A e 4,34% no Grupo B). Tais resultados são corroborados pela literatura consultada, que refere que mastocitomas moderadamente diferenciados (grau II) apresentam comportamento menos agressivo, comparativamente a mastocitomas pouco diferenciados

(grau III), sendo que apenas 5 a 22% dos primeiros metastiza, enquanto os segundos estão associados a uma taxa de metastização de 55 a 95%, constituindo um prognóstico menos favorável (de Nardi, dos Santos Horta, et al. 2022). Apesar disto, era expectável que mastocitomas de grau I apresentassem a menor taxa de mortalidade, contrariamente aos de grau II, o que poderá ser explicado por um estágio mais elevado ao diagnóstico ou até mesmo por escolhas e crenças pessoais dos tutores em não prosseguir com tratamento direcionado à neoplasia. A localização anatómica do tumor também poderá ter influenciado a mortalidade, sendo que no Grupo A os tumores localizados na região escrotal estiveram associados a maior taxa de mortalidade (FR=50%), seguido dos prepuciais (FR=21,42%), vulvares (FR=14,28%) e parapenianos (FR=14,28%), contrastando com os perineais, que não estiveram associados a nenhuma morte. Estas diferenças podem estar relacionadas com a complexidade cirúrgica das localizações genitais, proximidade a estruturas críticas e maior dificuldade em obter margens cirúrgicas amplas, aspetos já reconhecidos na literatura como condicionantes de prognóstico (Michels et al. 2002b; Romansik et al. 2007d; Horta et al. 2018f). No Grupo B os tumores localizados no tronco e membros estiveram associados a maior taxa de mortalidade (FR=44,4% em ambos), contrastando com os 11,11% apresentados pelos mastocitomas localizados na cabeça. Estes resultados contrariam o verificado por estudos anteriores, que apontam para um pior prognóstico dos mastocitomas localizados na região cefálica devido às limitações cirúrgicas (Fulcher et al. 2006b). Esta discrepância poderá ser explicada por uma maior extensão tumoral, recidivas ou características histológicas associadas aos tumores em si.

De forma a atingir o objetivo principal do estudo, foi realizada uma análise de sobrevivência comparada entre os dois grupos, que revelou diferenças, embora não significativas. O número de eventos de interesse (morte devido a mastocitoma em cães) foi superior no Grupo A (n=14) comparativamente ao Grupo B (n=9), embora o número de indivíduos censurados (ou seja, aqueles que não atingiram o evento até ao final do período de seguimento estabelecido) tenha sido superior no Grupo B (n=41 versus n=36), o que poderá ser explicado pela maior longevidade ou menor incidência do evento, neste grupo. A mediana de sobrevivência, para ambos os grupos, foi de 730 dias, embora este valor não tenha sido calculado tendo por base um intervalo de confiança de 95%, no Grupo A, o que poderá ser explicado por uma censura elevada e sobrevivência prolongada em parte da amostra, levando a uma menor robustez estatística e limitações na precisão da estimativa. O número de eventos observado foi superior ao número de eventos esperado (n=14 versus n=10,7), no Grupo A, contrariamente ao verificado no Grupo B, em que existiu um menor número de eventos observado comparativamente ao número de eventos esperado (n=9 versus n=12,3), o que sugere um maior risco de mortalidade no Grupo A.

A análise de Kaplan-Meier evidenciou uma tendência para menor probabilidade de sobrevivência do Grupo A, ao longo do tempo, especialmente a partir dos 360 dias após o fim da quimioterapia (ou apenas excisão), altura a partir da qual a curva apresenta uma descida mais acentuada, apesar de o teste de Log-rank não ter detetado diferenças significativas entre os grupos ($\chi^2 = 2.03$; $p = 0.154$), o que poderá ser explicado pelo tamanho reduzido da amostra ou número limitado de eventos, diminuindo o poder estatístico da análise e dificultando a percepção de diferenças reais. Apesar disto, o valor de p marginal observado na análise por pontos no tempo ($p=0.058$) sugere que uma diferença clínica relevante possa estar presente, embora o valor não tenha atingido o valor de significância estatística considerado.

A tendência verificada pela análise de Kaplan-Meier foi corroborada pela análise de regressão de Cox univariada, ao apresentar um HR de 1,29 (IC95%: 0,87–1,91; $p = 0,209$), indicando um risco 29% superior de ocorrência do evento (óbito relacionado com o mastocitoma) no Grupo A, embora novamente sem significância estatística. A amplitude do intervalo de confiança, que inclui a unidade, reforça a necessidade de cautela na interpretação destes resultados, embora a magnitude do HR não possa ser negligenciada do ponto de vista clínico.

Por fim, foi realizada uma análise das curvas de sobrevivência por pontos no tempo, que reforçou a tendência verificada nas duas análises já mencionadas. A análise por pontos no tempo consistiu na estimativa da probabilidade de sobrevivência ao longo dos 2 anos (730 dias) que sucederam o fim da quimioterapia adjuvante (no caso de ter sido realizada) ou a excisão cirúrgica do tumor, tendo por base 4 pontos temporais (180, 360, 540 e 730 dias). Aos 180 dias, a probabilidade de sobrevivência foi semelhante entre os dois grupos (90%), facto que se alterou posteriormente a partir dos 360 dias, momento em que se verificou uma maior separação entre as curvas (86% de probabilidade de sobrevivência no Grupo B versus 74% no Grupo A). Esta diferença agravou aos 540 dias (82% versus 66%) e prolongou-se até ao fim do período de seguimento e, portanto, ponto temporal dos 730 dias, com probabilidades de sobrevivência estimadas de 82% e 66% para o Grupo B e A, respetivamente. Estes dados ilustram que, apesar da ausência de significância estatística global, a intervenção aplicada (morte devido a mastocitoma) no Grupo A poderá estar associada a um padrão de sobrevivência inferior, ao longo do tempo.

Globalmente, a análise de sobrevivência realizada não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos, sugerindo que animais com mastocitomas cutâneos localizados nas regiões genital e/ou perineal não apresentam maior probabilidade de morte devido aos efeitos diretos e indiretos da neoplasia e, portanto, pior prognóstico, comparativamente a mastocitomas cutâneos localizados noutras regiões corporais. Os

resultados obtidos no presente estudo vão de encontro aos resultados obtidos em dois estudos prévios (Cahalane et al. 2004; Sfiligoi et al. 2005b). Apesar da falta de significância global da análise, existem indícios de relevância clínica, sendo recomendada a realização de estudos com maior poder estatístico e análise multivariada, com tamanho de amostra mais elevado e com menor prevalência de dados censurados, de forma a clarificar se estas tendências são atribuíveis à intervenção (morte devido a mastocitoma), a fatores tumorais (grau histológico, localização, metastização, marcadores imunohistoquímicos) ou a outras variáveis de confusão não controladas no presente modelo.

5.1. Limitações e perspectivas futuras

O estudo apresentado teve várias limitações associadas, maioritariamente relacionadas com o tamanho reduzido da amostra e com a grande dispersão dos dados, levando à dificuldade acrescida na perceção de diferenças reais nos resultados, e à diminuição da robustez e poder estatístico das análises realizadas. Este tamanho reduzido da amostra foi agravado pela elevada seletividade aplicada na recolha e seleção dos casos, sendo que animais com percurso clínico noutros estabelecimentos veterinários ou documentação incompleta do percurso clínico até ao fim do período de seguimento estabelecido foram excluídos da análise. Outra limitação foi o elevado número de dados censurados, devido a poucos indivíduos terem atingido o evento de interesse e à elevada sobrevivência dos animais, levando a que muitos não exibissem o evento até ao fim do período de seguimento estabelecido. Também devem ser referidas limitações associadas ao processo de recolha e seleção dos casos, em que os relatórios das análises histopatológicas e citológicas não se encontravam armazenadas numa base digital, mas em papel, arquivadas em dossiers, levando a lapsos ocasionais aquando da arquivação de relatórios nos mesmos, e à não anexação de resultados nas fichas clínicas dos animais nos softwares de gestão consultados (“qvet” e “guruvet”). Por fim, devido à mudança do software utilizado no HEV-FMV, alguns dados mais recentes e grande parte dos dados anteriores a 2016 não migraram da plataforma antiga (“Guruvet”) para a plataforma nova (“qvet”), levando à exclusão de casos devido a escassez de dados.

Estudos futuros com maior tamanho da amostra, realização de análise multivariada e inclusão de mais biomarcadores moleculares são necessários de forma a confirmar ou não o verdadeiro impacto dos vários fatores analisados, no prognóstico do canídeo com mastocitoma cutâneo.

6. Conclusão

Os resultados apresentados neste estudo sugerem que o grau histológico e localização anatômica apresentados pela neoplasia têm impacto no prognóstico do doente, devendo ser considerados na estratificação do risco e decisão terapêutica individualizada, e que tumores localizados nas regiões perineal e genital poderão apresentar um prognóstico mais reservado, embora sejam necessários mais estudos que corroborem este resultado. O prognóstico do animal não deverá, portanto, ser estabelecido apenas com base na localização apresentada pelo mastocitoma, mas pela avaliação conjunta das várias características clínicas e patológicas associadas a cada caso, de forma a estabelecer um prognóstico mais preciso, e melhor guiar a escolha entre as opções terapêuticas disponíveis, garantindo indiretamente, também, o aumento da confiança depositada pelo tutor na sua relação com o médico veterinário assistente.

7. Referências bibliográficas

Abadie JJ, Amardeilh MA, Delverdier ME. 1999. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 215(11):1629–34.

Arendt ML, Melin M, Tonomura N, Koltookian M, Courtay-Cahen C, Flindall N, Bass J, Boerkamp K, Megquir K, Youell L, et al. 2015. Genome-Wide Association Study of Golden Retrievers Identifies Germ-Line Risk Factors Predisposing to Mast Cell Tumours. *PLoS Genet.* 11(11):e1005647. doi:10.1371/journal.pgen.1005647.

Berlato D, Bulman-Fleming J, Clifford CA, Garrett L, Intile J, Jones P, Kamstock DA, Liptak JM, Pavuk A, Powell R, et al. 2021a. Value, Limitations, and Recommendations for Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Vet Pathol.* 58(5):858–863. doi:10.1177/03009858211009785.

Berlato D, Murphy S, Laberke S, Rasotto R. 2018. Comparison of minichromosome maintenance protein 7, Ki67 and mitotic index in the prognosis of intermediate Patnaik grade cutaneous mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol.* 16(4):535–543. doi:10.1111/vco.12412.

Berlato D, Murphy S, Monti P, Stewart J, Newton JR, Flindall A, Maglennon GA. 2015. Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.* 13(2):143–150. doi:10.1111/vco.12029.

Blackwood L, Murphy S, Buracco P, De Vos JP, De Fornel-Thibaud P, Hirschberger J, Kessler M, Pastor J, Ponce F, Savary-Bataille K, et al. 2012a. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Oncol.* 10(3). doi:10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x.

Block G, Clarke K, Salisbury S, DeNicola D. 1995. Total laryngectomy and permanent tracheostomy for treatment of laryngeal rhabdomyosarcoma in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 31(6):510–513. doi:10.5326/15473317-31-6-510.

Book AP, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R, Mattoon J. 2011. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 52(5):548–554. doi:10.1111/j.1740-8261.2011.01839.x.

Bostock DE. 1973a. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *Journal of Small Animal Practice.* 14(1):27–40. doi:10.1111/j.1748-5827.1973.tb06891.x.

Bostock DE. 1986a. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *British Veterinary Journal.* 142(1):1–19. doi:10.1016/0007-1935(86)90002-3.

Bostock DE, Crocker J, Harris K, Smith P. 1989. Nucleolar organiser regions as indicators of post-surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumours. *Br J Cancer.* 59(6):915–8. doi:10.1038/bjc.1989.193.

Boyle GM, D'Souza MMA, Pierce CJ, Adams RA, Cantor AS, Johns JP, Maslovskaya L, Gordon VA, Reddell PW, Parsons PG. 2014. Intra-Lesional Injection of the Novel PKC Activator EBC-46 Rapidly Ablates Tumors in Mouse Models. *PLoS One.* 9(10):e108887. doi:10.1371/journal.pone.0108887.

Brocks BAW, Bertram CA, Bartel A, Kirpensteijn J, Collins-Webb A, Catlin C, Thaiwong T, Kiupel M. 2021. Internal Tandem Duplication of Exon 8 of *c-kit* Is Associated With Longer Total Survival in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol.* 58(2):315–324. doi:10.1177/0300985820973463.

- Brodey RS. 1970. Canine and feline neoplasia. *Adv Vet Sci Comp Med.* 14:309–54.
- Burton JH, Venable RO, Vail DM, Williams LE, Clifford CA, Axiak-Bechtel SM, Avery AC, Thamm DH. 2015. Pulse-Administered Toceranib Phosphate Plus Lomustine for Treatment of Unresectable Mast Cell Tumors in Dogs. *J Vet Intern Med.* 29(4):1098–1104. doi:10.1111/jvim.13573.
- Cahalane AK, Payne S, Barber LG, Duda LE, Henry CJ, Mauldin GE, Frimberger AE, Cotter SM, Moore AS. 2004. 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.* 225(3):401–408. doi:10.2460/javma.2004.225.401.
- Camps-Palau MA, Leibman NF, Elmslie R, Lana SE, Plaza S, McKnight JA, Risbon R, Bergman PJ. 2007a. Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997–2004). *Vet Comp Oncol.* 5(3):156–167. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00125.x.
- Camus MS, Priest HL, Koehler JW, Driskell EA, Rakich PM, Ilha MR, Krimer PM. 2016. Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Vet Pathol.* 53(6):1117–1123. doi:10.1177/0300985816638721.
- Cartagena-Albertus JC, Moise A, Moya-García S, Cámara-Fernández N, Montoya-Alonso JA. 2019. Presumptive primary intrathoracic mast cell tumours in two dogs. *BMC Vet Res.* 15(1):204. doi:10.1186/s12917-019-1950-5.
- Catarino J, Pinello K, Niza-Ribeiro J, Santos J, Payan-Carreira R, Reis J, Faísca P. 2025. Exploring canine mast cell tumors: An investigation into demographic characteristics, and grading system analysis from a pathology lab data (2019–2021). *Prev Vet Med.* 236:106416. doi:10.1016/j.prevetmed.2025.106416.
- Chaffin K, Thrall DE. 2002. Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 43(4):392–395. doi:10.1111/j.1740-8261.2002.tb01023.x.
- Chase K, Jones P, Martin A, Ostrander EA, Lark KG. 2009. Genetic Mapping of Fixed Phenotypes: Disease Frequency as a Breed Characteristic. *Journal of Heredity.* 100(Supplement 1):S37–S41. doi:10.1093/jhered/esp011.
- Cohen D, Reif JS, Brodey RS, Keiser H. 1974. Epidemiological analysis of the most prevalent sites and types of canine neoplasia observed in a veterinary hospital. *Cancer Res.* 34(11):2859–68.
- Daleck CR; DNAB. 2016. *Oncologia em cães e gatos.* Rio de Janeiro, Brazil.
- Daly M, Sheppard S, Cohen N, Nability M, Moussy A, Hermine O, Wilson H. 2011. Safety of Masitinib Mesylate in Healthy Cats. *J Vet Intern Med.* 25(2):297–302. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0687.x.
- Davies DR, Wyatt KM, Jardine JE, Robertson ID, Irwin PJ. 2004. Vinblastine and Prednisolone as Adjunctive Therapy for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *J Am Anim Hosp Assoc.* 40(2):124–130. doi:10.5326/0400124.
- DiBernardi L. 2020. Approach to the Cancer Patient. In: *Clinical Small Animal Internal Medicine.* Wiley. p. 1197–1204.
- Dickinson PJ, McEntee MC, Lipsitz D, Keel K, Lecouteur RA. 2001. Radiation induced vertebral osteosarcoma following treatment of an intradural extramedullary spinal cord tumor in a dog. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 42(5):463–470. doi:10.1111/j.1740-8261.2001.tb00971.x.

Dobson JM, Scase TJ. 2007a. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice*. 48(8):424–431. doi:10.1111/j.1748-5827.2007.00366.x.

Donnelly L, Mullin C, Balko J, Goldschmidt M, Krick E, Hume C, Brown DC, Sorenmo K. 2015a. Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Vet Comp Oncol*. 13(1):70–76. doi:10.1111/vco.12021.

Dorn CR, Taylor DO, Schneider R, Hibbard HH, Klauber MR. 1968. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *J Natl Cancer Inst*. 40(2):307–18.

Downing S, Chien MB, Kass PH, Moore PF, London CA. 2002. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *Am J Vet Res*. 63(12):1718–1723. doi:10.2460/ajvr.2002.63.1718.

Ehrhart NP. 2020. Biopsy and Sentinel Lymph Node Mapping Principles. In: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier. p. 158–163.

Elling H, Ungemach FR. 1982. Sexual hormone receptors in canine mast cell tumour cytosol. *J Comp Pathol*. 92(4):629–630. doi:10.1016/0021-9975(82)90016-0.

Elston LB, Sueiro FAR, Cavalcanti JN, Metze K. 2009a. Letter to the Editor: The Importance of the Mitotic Index as a Prognostic Factor for Survival of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Validation Study. *Vet Pathol*. 46(2):362–364. doi:10.1354/vp.46-2-362.

Endicott MM, Charney SC, McKnight JA, Loar AS, Barger AM, Bergman PJ. 2007a. Clinicopathological findings and results of bone marrow aspiration in dogs with cutaneous mast cell tumours: 157 cases (1999–2002)*. *Vet Comp Oncol*. 5(1):31–37. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00115.x.

Ferrari R, Marconato L, Buracco P, Boracchi P, Giudice C, Iussich S, Grieco V, Chiti LE, Favretto E, Stefanello D. 2018. The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. *Vet Comp Oncol*. 16(4):505–510. doi:10.1111/vco.12408.

Finnie JW, Bostock DE. 1979a. Skin neoplasia in dogs. *Aust Vet J*. 55(12):602–604. doi:10.1111/j.1751-0813.1979.tb07068.x.

Finora K, Leibman NF, Fettman MJ, Powers BE, Hackett TA, Withrow SJ. 2006. Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and of dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Vet Comp Oncol*. 4(3):178–183. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00107.x.

Fossum TW. 2019. *Small Animal Surgery*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier, Inc.

Friedrichs KR, Young KM. 2019. Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology. In: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier. p. 126–145.

Fulcher RP, Ludwig LL, Bergman PJ, Newman SJ, Simpson AM, Patnaik AK. 2006a. Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 228(2):210–215. doi:10.2460/javma.228.2.210.

Gaspar TB, Henriques J, Marconato L, Queiroga FL. 2018. The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs—insight into a modern cancer field. *Vet Comp Oncol*. 16(1):2–11. doi:10.1111/vco.12309.

Geiger T; NN; W. 2005. Clinical Management of Mast Cell Tumors in Dogs. *Compendium*. 27(Oncology).

Gerritsen RJ, Teske E, Kraus JS, Rutteman GR. 1998. Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *Veterinary Quarterly*. 20(1):28–31. doi:10.1080/01652176.1998.9694832.

Ginn PE, Fox LE, Brower JC, Gaskin A, Kurzman ID, Kubilis PS. 2000. Immunohistochemical Detection of p53 Tumor-Suppressor Protein is a Poor Indicator of Prognosis for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol*. 37(1):33–39. doi:10.1354/vp.37-1-33.

Govier SM. 2003. Principles of treatment for mast cell tumors. *Clin Tech Small Anim Pract*. 18(2):103–106. doi:10.1053/svms.2003.36624.

Guedes AG, Rudé EP, Rider MA. 2006. Evaluation of histamine release during constant rate infusion of morphine in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 33(1):28–35. doi:10.1111/j.1467-2995.2005.00218.x.

Hahn KA, King GK, Carreras JK. 2004. Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987–1998). *J Am Vet Med Assoc*. 224(1):79–82. doi:10.2460/javma.2004.224.79.

Hahn KA, Legendre AM, Shaw NG, Phillips B, Ogilvie GK, Prescott DM, Atwater SW, Carreras JK, Lana SE, Ladue T, et al. 2010. Evaluation of 12- and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *Am J Vet Res*. 71(11):1354–1361. doi:10.2460/ajvr.71.11.1354.

Hahn KA, Ogilvie G, Rusk T, Devauchelle P, Leblanc A, Legendre A, Powers B, Leventhal PS, Kinet J -P., Palmerini F, et al. 2008. Masitinib is Safe and Effective for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med*. 22(6):1301–1309. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0190.x.

Halsey CHC, Thamm DH, Weishaar KM, Burton JH, Charles JB, Gustafson DL, Avery AC, Ehrhart EJ. 2017. Expression of Phosphorylated KIT in Canine Mast Cell Tumor. *Vet Pathol*. 54(3):387–394. doi:10.1177/0300985816688943.

Hampel JM, Cheuk N, Barbosa MMP, Fan TM. 2024. The promise of immunotherapeutic strategies to advance cancer treatment in pet dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 262(12):1583–1593. doi:10.2460/javma.24.08.0532.

Harper A, Blackwood L. 2017. Toxicity and response in cats with neoplasia treated with toceranib phosphate. *J Feline Med Surg*. 19(6):619–623. doi:10.1177/1098612X16643124.

Hayes A, Adams V, Smith K, Maglennon G, Murphy S. 2007. Vinblastine and prednisolone chemotherapy for surgically excised grade III canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol*. 5(3):168–176. doi:10.1111/j.1476-5829.2007.00135.x.

Hergt F, von Bomhard W, Kent MS, Hirschberger J. 2016a. Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Vet Clin Pathol*. 45(3):477–483. doi:10.1111/vcp.12387.

Horta R, Giuliano A, Lavallo G, Costa M, de Araújo R, Constantino-Casas F, Dobson J. 2017 Nov 1. Clinical, histological, immunohistochemical and genetic factors associated with measurable response of high-risk canine mast cell tumours to tyrosine kinase inhibitors. *Oncol Lett*. doi:10.3892/ol.2017.7323.

Horta RS, Lavallo GE, Costa MP, Moura LL, Marcinowska A, Araújo RB. 2017. Outcome of adjuvant chemotherapy with lomustine, vinblastine and chlorambucil on

management of canine mast cell tumour of high to intermediate risk. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 69(6):1426–1436. doi:10.1590/1678-4162-9172.

Horta RS, Lavallo GE, Monteiro LN, Souza MCC, Cassali GD, Araújo RB. 2018a. Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Vet Pathol.* 55(2):212–223. doi:10.1177/0300985817747325.

Hume CT, Kiupel M, Rigatti L, Shofer FS, Skorupski KA, Sorenmo KU. 2011a. Outcomes of Dogs with Grade 3 Mast Cell Tumors: 43 Cases (1997–2007). *J Am Anim Hosp Assoc.* 47(1):37–44. doi:10.5326/JAAHA-MS-5557.

Ishiguro T, Kadosawa T, Takagi S, Kim G, Ohsaki T, Bosnakovski D, Okumura M, Fujinaga T. 2003. Relationship of Disease Progression and Plasma Histamine Concentrations in 11 Dogs with Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med.* 17(2):194–198. doi:10.1111/j.1939-1676.2003.tb02433.x.

Isotani M, Ishida N, Tominaga M, Tamura K, Yagihara H, Ochi S, Kato R, Kobayashi T, Fujita M, Fujino Y, et al. 2008. Effect of Tyrosine Kinase Inhibition by Imatinib Mesylate on Mast Cell Tumors in Dogs. *J Vet Intern Med.* 22(4):985–988. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.00132.x.

Itoh T, Kojimoto A, Uchida K, Chambers J, Sshii H. 2021a. Long-term postsurgical outcomes of mast cell tumors resected with a margin proportional to the tumor diameter in 23 dogs. *Journal of Veterinary Medical Science.* 83(2):230–233. doi:10.1292/jvms.20-0281.

Iwata N, Ochiai K, Kadosawa T, Takiguchi M, Umemura T. 2000. Canine Extracutaneous Mast-cell Tumours Consisting of Connective Tissue Mast Cells. *J Comp Pathol.* 123(4):306–310. doi:10.1053/jcpa.2000.0420.

Jaffe MH, Hosgood G, Taylor HW, Kerwin SC, Hedlund CS, Lopez MK, Davidson JR, Miller DM, Paranjpe M. 2000. Immunohistochemical and Clinical Evaluation of p53 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol.* 37(1):40–46. doi:10.1354/vp.37-1-40.

Jensen AL. 2009. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*, 3rd ed. The Veterinary Journal. 182(1):136. doi:10.1016/j.tvjl.2009.04.001.

Jones PD, Campbell JE, Brown G, Johannes CM, Reddell P. 2021. Recurrence-free interval 12 months after local treatment of mast cell tumors in dogs using intratumoral injection of tigilanol tiglate. *J Vet Intern Med.* 35(1):451–455. doi:10.1111/jvim.16018.

Kiupel M, Webster JD, Bailey KL, Best S, DeLay J, Detrisac CJ, Fitzgerald SD, Gamble D, Ginn PE, Goldschmidt MH, et al. 2011a. Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Vet Pathol.* 48(1):147–155. doi:10.1177/0300985810386469.

Kiupel M, Webster JD, Kaneene JB, Miller R, Yuzbasiyan-Gurkan V. 2004a. The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol.* 41(4):371–377. doi:10.1354/vp.41-4-371.

Kiupel M, Webster JD, Miller RA, Kaneene JB. 2005. Impact of Tumour Depth, Tumour Location and Multiple Synchronous Masses on the Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series A.* 52(6):280–286. doi:10.1111/j.1439-0442.2005.00726.x.

Kry KL, Boston SE. 2014. Additional Local Therapy With Primary Re-Excision or Radiation Therapy Improves Survival and Local Control After Incomplete or Close Surgical Excision of Mast Cell Tumors in Dogs. *Veterinary Surgery.* 43(2):182–189. doi:10.1111/j.1532-950X.2014.12099.x.

Ku C -K., Kass PH, Christopher MM. 2017. Cytologic–histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. *Vet Comp Oncol.* 15(4):1206–1217. doi:10.1111/vco.12256.

Lachowicz JL, Post GS, Brodsky E. 2005. A phase I clinical trial evaluating imatinib mesylate (Gleevec) in tumor-bearing cats. *J Vet Intern Med.* 19(6):860–4. doi:10.1892/0891-6640(2005)19[860:apicte]2.0.co;2.

Ladue T, Klein MK. 2001. Toxicity criteria of the veterinary radiation therapy oncology group. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 42(5):475–476. doi:10.1111/j.1740-8261.2001.tb00973.x.

Ladue T, Price GS, Dodge R, Page RL, Thrall DE. 1998. Radiation therapy for incompletely resected canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology & Ultrasound.* 39(1):57–62. doi:10.1111/j.1740-8261.1998.tb00326.x.

Lederer K, Ludewig E, Hechinger H, Parry AT, Lamb CR, Kneissl S. 2015. Differentiation between inflammatory and neoplastic orbital conditions based on computed tomographic signs. *Vet Ophthalmol.* 18(4):271–275. doi:10.1111/vop.12197.

van Lelyveld S, Warland J, Miller R, Maw H, Foale R, Goodfellow M, Dobson J. 2015. Comparison between Ki-67 index and mitotic index for predicting outcome in canine mast cell tumours. *Journal of Small Animal Practice.* 56(5):312–319. doi:10.1111/jsap.12320.

Léveillé R, Partington BP, Biller DS, Miyabayashi T. 1993. Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). *J Am Vet Med Assoc.* 203(3):413–5.

London C, Mathie T, Stingle N, Clifford C, Haney S, Klein MK, Beaver L, Vickery K, Vail DM, Hershey B, et al. 2012. Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia[®]) in solid tumours. *Vet Comp Oncol.* 10(3):194–205. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00275.x.

London CA. 2009a. Tyrosine Kinase Inhibitors in Veterinary Medicine. *Top Companion Anim Med.* 24(3):106–112. doi:10.1053/j.tcam.2009.02.002.

London CA, Galli SJ, Yuuki T, Hu Z-Q, Helfand SC, Geissler EN. 1999. Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp Hematol.* 27(4):689–697. doi:10.1016/S0301-472X(98)00075-7.

London CA, Malpas PB, Wood-Follis SL, Boucher JF, Rusk AW, Rosenberg MP, Henry CJ, Mitchener KL, Klein MK, Hintermeister JG, et al. 2009a. Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. *Clinical Cancer Research.* 15(11):3856–3865. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1860.

Macy DW. 1985. Canine Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 15(4):783–803. doi:10.1016/S0195-5616(85)50036-4.

Marconato L, Bettini G, Giacoboni C, Romanelli G, Cesari A, Zatelli A, Zini E. 2008. Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. *J Vet Intern Med.* 22(4):1001–1007. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0128.x.

Masserdotti C, Bertazzolo W. 2016. Cytologic features of hepatic fibrosis in dogs: a retrospective study on 22 cases. *Vet Clin Pathol.* 45(2):361–367. doi:10.1111/vcp.12352.

McCaw DL, Miller MA, Ogilvie GK, Withrow SJ, Brewer WG, Klein MK, Bell FW, Anderson SK. 1994. Response of Canine Mast Cell Tumors to Treatment With Oral Prednisone. *J Vet Intern Med.* 8(6):406–408. doi:10.1111/j.1939-1676.1994.tb03259.x.

McNiel EA, Prink AL, O'Brien TD. 2006. Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Vet Comp Oncol.* 4(1):2–8. doi:10.1111/j.1476-5810.2006.00085.x.

Mellanby RJ, Herrtage ME, Chantry J, Dobson JM. 2003. Sarcoma development after radiotherapy in two dogs. *Vet Comp Oncol.* 1(2):113–119. doi:10.1046/j.1476-5829.2003.00014.x.

Meyer DJ. 2010. The Liver. In: *Canine and Feline Cytology.* Elsevier. p. 226–248.

Michels GM, Knapp DW, DeNicola DB, Glickman N, Bonney P. 2002a. Prognosis Following Surgical Excision of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors With Histopathologically Tumor-Free Versus Nontumor-Free Margins: A Retrospective Study of 31 Cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 38(5):458–466. doi:10.5326/0380458.

Miller J, Campbell J, Blum A, Reddell P, Gordon V, Schmidt P, Lowden S. 2019a. Dose Characterization of the Investigational Anticancer Drug Tigilanol Tiglate (EBC-46) in the Local Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *Front Vet Sci.* 6. doi:10.3389/fvets.2019.00106.

Milovancev M, Townsend KL, Tuohy JL, Gorman E, Bracha S, Curran KM, Russell DS. 2020. Long-term outcomes of dogs undergoing surgical resection of mast cell tumors and soft tissue sarcomas: A prospective 2-year-long study. *Veterinary Surgery.* 49(1):96–105. doi:10.1111/vsu.13225.

Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay J-R, Billard V, Geertsen PF, Rudolf Z, O'Sullivan GC, Marty M. 2006. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: Instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. *European Journal of Cancer Supplements.* 4(11):14–25. doi:10.1016/j.ejcsup.2006.08.003.

Misdorp W. 1987. Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumour types in dogs and cats. *Veterinary Quarterly.* 9(3):279–286. doi:10.1080/01652176.1987.9694113.

Miyoshi N, Tojo E, Oishi A, Fujiki M, Misumi K, Sakamoto H, Kameyama K, Shimizu T, Yasuda N. 2002. Immunohistochemical Detection of P-Glycoprotein (PGP) and Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP) in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Journal of Veterinary Medical Science.* 64(6):531–533. doi:10.1292/jvms.64.531.

Moriello KA, Rosenthal RC. 1990. Clinical Approach to Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 20(4):1163–1190. doi:10.1016/S0195-5616(90)50090-X.

Mullins MN, Dernell WS, Withrow SJ, Ehrhart EJ, Thamm DH, Lana SE. 2006a. Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998–2004). *J Am Vet Med Assoc.* 228(1):91–95. doi:10.2460/javma.228.1.91.

Murphy S, Sparkes AH, Blunden AS, Brearley MJ, Smith KC. 2006a. Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Record.* 158(9):287–291. doi:10.1136/vr.158.9.287.

Murphy S, Sparkes AH, Brearley MJ, Smith KC, Blunden AS. 2004a. Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *Veterinary Record.* 154(24):743–746. doi:10.1136/vr.154.24.743.

Musser ML, Jones PD, Goodson TL, Roof E, Johannes CM. 2024. Response to tigilanol tiglate in dogs with mast cell tumors. *J Vet Intern Med.* 38(6):3162–3169. doi:10.1111/jvim.17211.

Nakaichi M, Takeshita Y, Okuda M, Nakamoto Y, Itamoto K, Une S, Sasaki N, Kadosawa T, Takahashi T, Taura Y. 2007. Expression of the MDR1 Gene and P-Glycoprotein in Canine Mast Cell Tumor Cell Lines. *Journal of Veterinary Medical Science*. 69(2):111–115. doi:10.1292/jvms.69.111.

De Nardi AB, Costa MT, Amorim RL, Vasconcelos RO, Dagli MLZ, Rocha NS, Torres Neto R, Grandi F, Alessi AC, Magalhães GM, et al. 2018. Brazilian consensus for the diagnosis, treatment and prognosis of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Investigação*. 17(1). doi:10.26843/investigacao.v17i1.1837.

North SM, Banks TA. 2009. The human–animal bond and why veterinary oncology is important. In: *Small Animal Oncology*. Elsevier. p. 1–3.

Nykamp S, Randall E. 2019. Diagnostic Imaging in Oncology. In: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier. p. 113–125.

O'Connell K, Thomson M. 2013. Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. *Vet Comp Oncol*. 11(1):51–62. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00301.x.

Olsen JA, Thomson M, O'Connell K, Wyatt K. 2018a. Combination vinblastine, prednisolone and toceranib phosphate for treatment of grade II and III mast cell tumours in dogs. *Vet Med Sci*. 4(3):237–251. doi:10.1002/vms3.106.

P. Spugnini E, Azzarito T, Fais S, Fanciulli M, Baldi A. 2015. Electrochemotherapy as First Line Cancer Treatment: Experiences from Veterinary Medicine in Developing Novel Protocols. *Curr Cancer Drug Targets*. 16(1):43–52. doi:10.2174/156800961601151218155340.

Patnaik AK, Ehler WJ, MacEwen EG. 1984a. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Vet Pathol*. 21(5):469–474. doi:10.1177/030098588402100503.

Patnaik AK, MacEwen EG, Black AP, Luckow S. 1982. Extracutaneous Mast-Cell Tumor in the Dog. *Vet Pathol*. 19(6):608–615. doi:10.1177/030098588201900603.

Pelt DR, Fowler JD, Leighton FA. 1986a. Multiple cutaneous mast cell tumors in a dog: a case report and brief review. *Can Vet J*. 27(7):259–63.

Peters JA. 1969a. Canine mastocytoma: excess risk as related to ancestry. *J Natl Cancer Inst*. 42(3):435–43.

De Ridder T, Reddell P, Jones P, Brown G, Campbell J. 2021. Tigilanol Tiglate-Mediated Margins: A Comparison With Surgical Margins in Successful Treatment of Canine Mast Cell Tumours. *Front Vet Sci*. 8. doi:10.3389/fvets.2021.764800.

Scase TJ, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A, Murphy S. 2006a. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Intern Med*. 20(1):151–8. doi:10.1892/0891-6640(2006)20[151:cmctco]2.0.co;2.

Sfiligoi G, Rassnick KM, Scarlett JM, Northrup NC, Gieger TL. 2005a. Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990–2001). *J Am Vet Med Assoc*. 226(8):1368–1374. doi:10.2460/javma.2005.226.1368.

Spugnini EP, Fais S, Azzarito T, Baldi A. 2017. Novel Instruments for the Implementation of Electrochemotherapy Protocols: From Bench Side to Veterinary Clinic. *J Cell Physiol*. 232(3):490–495. doi:10.1002/jcp.25505.

Spugnini EP, Fanciulli M, Citro G, Baldi A. 2012. Preclinical Models in Electrochemotherapy: The Role of Veterinary Patients. *Future Oncology*. 8(7):829–837. doi:10.2217/fon.12.64.

Spugnini EP, Melillo A, Quagliuolo L, Boccellino M, Vincenzi B, Pasquali P, Baldi A. 2014. Definition of Novel Electrochemotherapy Parameters and Validation of their in Vitro and in Vivo Effectiveness. *J Cell Physiol*. 229(9):1177–1181. doi:10.1002/jcp.24548.

Thamm D. 2007. Mast Cell Tumors. In: Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. Elsevier. p. 402–424.

Thamm DH. 2013a. Miscellaneous tumors: Hemangiosarcoma. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 5th ed.

Thamm DH, Mauldin EA, Vail DM. 1999a. Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor--41 cases (1992-1997). *J Vet Intern Med*. 13(5):491–7. doi:10.1892/0891-6640(1999)013<0491:pavcfc>2.3.co;2.

Thamm DH, Turek MM, Vail DM. 2006a. Outcome and Prognostic Factors Following Adjuvant Prednisone/Vinblastine Chemotherapy for High-Risk Canine Mast Cell Tumour: 61 Cases. *Journal of Veterinary Medical Science*. 68(6):581–587. doi:10.1292/jvms.68.581.