

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ESTUDO RETROSPETIVO SOBRE O PAPEL DA PATOLOGIA CUTÂNEA COMO FATOR DE
PROGNÓSTICO EM DOENTES COM MASTOCITOMA

EDUARDA MARIA SILVA FÉLIX

ORIENTADOR:
Doutor Luís Miguel Alves Carreira
TUTORA:
Dra. Elsa Maria Rodrigo Pereira

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ESTUDO RETROSPETIVO SOBRE O PAPEL DA PATOLOGIA CUTÂNEA COMO FATOR DE
PROGNÓSTICO EM DOENTES COM MASTOCITOMA

EDUARDA MARIA SILVA FÉLIX

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Rute Marina Garcia da Noiva

VOGAIS:

Doutora Ana Margarida Pedroso de Oliveira

ORIENTADOR:

Doutor Luís Miguel Alves Carreira

TUTORA:

Dra. Elsa Maria Rodrigo Pereira

2025

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Eduarda Maria Silva Félix

Título da Tese ou Dissertação: Estudo Retrospectivo Sobre o Papel da Patologia Cutânea como Fator de Prognóstico em Doentes com Mastocitoma

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

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 ULISBÓA.

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 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.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 26 de junho de 2025

Assinatura: Eduarda Maria Silva Félix

Dedicatória

Para o meu pai, José Félix de Oliveira.

*“na hora de pôr a mesa, éramos cinco:
o meu pai, a minha mãe, as minhas irmãs
e eu. depois, a minha irmã mais velha
casou-se. depois, a minha irmã mais nova
casou-se. depois, o meu pai morreu. hoje,
na hora de pôr a mesa, somos cinco,
menos a minha irmã mais velha que está
na casa dela, menos a minha irmã mais
nova que está na casa dela, menos o meu
pai, menos a minha mãe viúva. cada um
deles é um lugar vazio nesta mesa onde
como sozinho. mas irão estar sempre aqui.
na hora de pôr a mesa, seremos sempre cinco.
enquanto um de nós estiver vivo, seremos
sempre cinco.”*

José Luís Peixoto in *A Criança em Ruínas*

Saudades.

Agradecimentos

Ao Doutor Miguel Carreira, por ter desde logo aceite orientar-me. Foi uma honra observar o seu trabalho durante este Mestrado. É um exemplo de profissionalismo e dedicação à profissão médico-veterinária. Obrigada, Mestre.

À Dra. Elsa Pereira, por me receber nas suas clínicas, por me inculir um maior espírito crítico e por todos os ensinamentos durante o estágio.

Um agradecimento especial à Dra. Filipa Inácio, por me incentivar e por ter a generosidade de partilhar o seu conhecimento todos os dias.

A toda a equipa das clínicas veterinárias do grupo Elsa Pereira – Dr. Miguel Pereira, Dra. Rita Murta, enfermeira Marta Pinto, Patrícia Galhanas e Daniela Rosa – Obrigada pelo companheirismo e pelo esforço que depositam em cada caso clínico.

À minha mãe, Natividade, por nunca duvidar de mim e me ensinar a ser forte.

À Dulce, por ser a melhor irmã do mundo e ter uma paciência inesgotável.

Aos meus tios Teresa e Idalino pelo apoio incondicional durante o período mais turbulento da minha vida.

Ao André, por me mostrar o que é o amor.

À Jessica, pelo companheirismo durante o Mestrado.

Estudo Retrospectivo Sobre o Papel da Patologia Cutânea como Fator de Prognóstico em Doentes com Mastocitoma

Resumo

O mastocitoma cutâneo é um dos tumores malignos mais frequentes em canídeos. Apresenta um comportamento biológico complexo e a sua etiologia não é totalmente compreendida.

O objetivo deste estudo foi investigar se a presença de doença dermatológica prévia influencia o prognóstico de doentes com mastocitoma, estudando a sua possível correlação com o grau histológico, a metastização e a sobrevida.

A análise envolveu 33 cães com diagnóstico definitivo de mastocitoma cutâneo por análise histopatológica. A amostra foi dividida em 2 grupos de comparação: canídeos com história clínica dermatológica (n=16) e sem história clínica dermatológica (n=17). Foi ainda avaliada a perspetiva dos tutores dos doentes em estudo quanto a sinais sugestivos de dermatite atópica, tais como prurido e eritema, através da realização de um inquérito, com vista à identificação de um eventual subgrupo com doença dermatológica por diagnosticar.

Com recurso ao teste exato de Fisher, foi avaliada a associação entre a história clínica dermatológica e a idade ao diagnóstico de mastocitoma ($p=0,362$) e o grau de Kiupel ($p=0,699$).

Não foi demonstrada uma associação estatisticamente significativa entre a história dermatológica pregressa e o grau histológico do mastocitoma ($p>0,05$). A análise da associação entre os resultados do inquérito e o grau de Kiupel também não apresentou resultados estatisticamente significativos ($p>0,05$).

Palavras-chave: mastocitoma; inflamação cutânea; prognóstico; barreira cutânea; canídeo.

Retrospective Study on the Role of Skin Conditions as a Prognostic Factor in Patients with Mast Cell Tumours

Abstract

Cutaneous mast cell tumour is one of the most common malignant tumours in dogs. It has a complex biological behaviour and its aetiology is not fully understood.

The aim of this study was to investigate if the presence of previous skin conditions influences the prognosis of patients with canine mast cell tumours, studying its possible correlation with histological grade, metastization and survival.

The study involved 33 dogs with a definitive diagnosis of cutaneous mast cell tumour diagnosis by histopathological analysis. The sample was divided into 2 comparison groups: dogs with dermatological medical history (n=16) and without dermatological medical history (n=17). The perspective of the owners of the patients under study regarding signs suggestive of atopic dermatitis, such as pruritus and erythema, was also assessed by means of a survey, with the aim of identifying a possible subgroup with undiagnosed dermatological disease.

Fisher's exact test was used to assess the association between dermatological medical history and age at diagnosis of mast cell tumour ($p=0.362$) and Kiupel grade ($p=0.699$).

There was no statistically significant association between past dermatological history and the histological grade of mast cell tumour ($p>0.05$). The analysis of the association between the results of the survey and the Kiupel grade also showed no statistically significant results ($p>0.05$).

Keywords: mast cell tumour; skin inflammation; prognosis; skin barrier; canine.

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos.....	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Índice.....	vii
Lista de figuras	x
Lista de tabelas	xi
Lista de abreviaturas	xiii
Parte I. Atividades de estágio	1
Introdução ao tema de tese	3
Parte II. Revisão Bibliográfica.....	4
1 Mastócitos.....	4
1.1 Recetores de superfície	6
1.2 Mediadores de inflamação	7
1.3 Funções biológicas	8
1.4 Papel dos mastócitos no desenvolvimento tumoral	10
1.5 Papel dos mastócitos na patologia cutânea.....	11
2 Mastocitoma	12
2.1 Etiologia	12
2.2 Apresentações clínicas	13
2.2.1 Síndromes paraneoplásicas	14
2.3 Diagnóstico	15
2.3.1 Estadiamento clínico.....	15
2.3.2 Histopatologia e grau histológico	16
2.3.3 Citologia e histopatologia de linfonodo drenante	20
2.4 Fatores de prognóstico	22

2.4.1	Localização	22
2.4.2	Aspeto clínico	23
2.4.3	Idade	24
2.4.4	Raça	24
2.4.5	Sexo.....	25
2.4.6	Velocidade de crescimento e dimensão	26
2.4.7	Grau histológico.....	26
2.4.8	Metastização.....	27
2.4.9	Marcadores imunohistoquímicos e histoquímicos	27
2.4.9.1	Padrão de marcação do c-kit.....	28
2.5	Tratamento	29
2.5.1	Cirurgia	29
2.5.2	Radioterapia	30
2.5.3	Quimioterapia	30
2.5.4	Inibidores de recetores tirosina quinase	32
3	Relação entre doença cutânea e mastocitoma	33
Parte III. Trabalho experimental		34
4	Objetivos.....	34
5	Materiais e métodos.....	34
5.1	Amostragem e desenho experimental	34
5.2	Tratamento estatístico	35
6	Resultados.....	36
6.1	Caracterização da amostra.....	36
6.2	Caracterização dos tumores	38
6.2.1	Localização	38
6.2.2	Grau histológico.....	39
6.2.3	Padrão de marcação imunohistoquímica e índice proliferativo	41

6.2.4	Metastização.....	41
6.3	Tratamento	42
6.3.1	Recidiva	43
6.3.2	Tempo de sobrevida	43
6.4	Avaliação da relação entre a história clínica oncológica e o grau histológico do mastocitoma	44
6.5	Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a idade ao diagnóstico de mastocitoma	44
6.6	Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e o grau histológico do mastocitoma	45
6.7	Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a ocorrência de metastização	46
6.8	Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a sobrevida	46
6.9	Existência de doença cutânea por diagnosticar e sinais clínicos sugestivos de dermatite atópica	47
7	Discussão e Conclusão	49
8	Limitações do estudo	53
	Referências bibliográficas.....	54
	Anexos	65

Lista de figuras

Figura 1. Esquema de aplicação do sistema de classificação citológica, adaptado de Camus et al. (2016).....	Erro! Marcador não definido.
Figura 2. Esquematização da drenagem linfática para determinação do linfonodo sentinela. Retirado de Kiupel e Camus (2019).....	20
Figura 3. Gráfico de barras ilustrativo da idade ao diagnóstico (anos) consoante o género.	38
Figura 4. Caracterização dos tumores em estudo segundo a classificação histopatológica de Kiupel.....	40
Figura 5. Diagramas de extremos e quartis comparativos da idade ao diagnóstico entre os 2 grupos em estudo.	45

Lista de tabelas

Tabela 1. Estadiamento de mastocitomas segundo a OMS, adaptado de London e Thamm (2020).....	15
Tabela 2. Classificação histopatológica de mastocitomas em canídeos, adaptado de Patnaik et al. (1984)	17
Tabela 3. Classificação histopatológica de mastocitomas em canídeos, segundo Kiupel et al. (2011). Adaptado de Soberano e Nardi (2020).....	19
Tabela 4. Critérios citológicos para determinação de metastização de mastocitoma em linfonodos regionais, adaptado de Krick et al. (2009).....	21
Tabela 5. Sistema de classificação histopatológica para avaliação de metastização linfonodal em mastocitomas de canídeos, adaptado de Weishaar et al. (2014).....	22
Tabela 6. Protocolos quimioterápicos mais utilizados, adaptado de Soberano e Nardi (2020).....	31
Tabela 7. Protocolo combinado de vimblastina, toceranib e prednisolona, segundo Olsen et al. (2018).....	33
Tabela 8. Estatística descritiva da amostra em estudo.	37
Tabela 9. Caracterização clínica dos tumores em estudo segundo a localização.	39
Tabela 10. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da raça do canídeo.	40
Tabela 11. Distribuição do padrão de marcação imunohistoquímica em função do grau histopatológico de Kiupel.....	41
Tabela 12. Distribuição do índice proliferativo em função do grau histopatológico de Kiupel.	41
Tabela 13. Distribuição da metastização em função do grau histológico de Kiupel.	42
Tabela 14. Localização da metastização na população em estudo.....	42
Tabela 15. Tratamento realizado na população em estudo.....	42
Tabela 16. Localização de recidiva na população em estudo.	43
Tabela 17. Distribuição do tempo de sobrevida aos 12 e 24 meses em função do grau histológico de Kiupel.....	43
Tabela 18. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da história clínica oncológica.	44
Tabela 19. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da história clínica dermatológica.	45

Tabela 20. Ocorrência de metastização em função da história clínica dermatológica.	46
Tabela 21. Distribuição do tempo de sobrevivência aos 12 e 24 meses em função do grau histológico de Kiupel.....	47
Tabela 22. Distribuição das respostas obtidas no grupo 3 do inquérito realizado. ...	47
Tabela 23. Distribuição das respostas obtidas no grupo 3 do inquérito realizado em função da história clínica dermatológica.....	48
Tabela 24. Distribuição das regiões anatómicas assinaladas no grupo 3 do inquérito pelos tutores dos cães sem história clínica dermatológica.	49

Lista de abreviaturas

ADN – Ácido DesoxirriboNucleico

AgNOR – Regiões organizadoras nucleolares argirófilas (*Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions*)

BMCMC – Mastócitos derivados da medula óssea cultivados in vitro (*Bone Marrow-derived Cultured Mast Cells*)

CCNU – Lomustina (*CyclohexylChloroethylNitrosUrea*)

C-kit – Recetor tirosina quinase (*CD117 Tyrosine-protein Kinase*)

CSC – Células estaminais do cancro (*Cancer Stem Cells*)

CTMC – Mastócitos do tecido conjuntivo (*Connective Tissue Mast Cells*)

DA – Dermatite atópica

DAMP – Padrões moleculares associados a perigo (*Danger-Associated Molecular Patterns*)

DLT – Toxicidade de dose limite (*Dose-Limiting Toxicity*)

FcεRI – Recetor de alta afinidade para a região Fc da IgE (*high-affinity receptor for the Fc Region of Immunoglobulin E*)

FcεRII – Recetor de baixa afinidade para a região Fc da IgE (*low-affinity receptor for the Fc Region of Immunoglobulin E*)

FcγR – Recetor para a região Fc da IgG (*receptor for the Fc Region of Immunoglobulin G*)

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular 1 (*InterCellular Adhesion Molecule*)

IgE – Imunoglobulina E (*Immunoglobulin E*)

IgG – Imunoglobulina G (*Immunoglobulin G*)

IL – Interleucina (*InterLeukin*)

ITD – Duplicação interna em tandem (*Internal Tandem Duplication*)

IV – Via intravenosa (*IntraVenous*)

Gy – Gray

LFA-1 – Antígeno associado à função leucocitária 1 (*Lymphocyte Function-associated Antigen*)

LTA – Ácido lipoteicóico (*LipoTeichoic Acid*)

LTB₄ – Leucotrieno B₄ (*LeukoTriene B₄*)

MC_C – Mastócitos quimase (*Mast Cell Chymase*)

MC_T – Mastócitos triptase (*Mast Cell Tryptase*)

MC_{TC} – Mastócitos triptase-quimase (*Mast Cell Tryptase-Chymase*)

MHC-II – Complexo maior de histocompatibilidade classe II (*Major Histocompatibility Complex class II*)

MMC – Mastócitos das mucosas (*Mucosal Mast Cells*)

MMP-9 – Metaloproteinase 9 da matriz (*Matrix MetalloProteinase-9*)

MRGPRX2 – Recetor X2 MAS-relacionado acoplado à proteína G (*MAS-Related G Protein coupled Receptor X2*)

NGF – Fator de crescimento nervoso (*Nerve Growth Factor*)

OMS – Organização mundial de saúde

ORR – Taxa de resposta geral (*Overall Response Rate*)

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PAMP – Padrões moleculares associados a agentes patogénicos (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*)

PCNA – Antígeno nuclear de proliferação celular (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*)

PCR – Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

PGE2 – Prostaglandina E2 (*ProstaGlandin E2*)

PO – Via *per os*

PRR – Recetores de reconhecimento de padrões (*Pattern Recognition Receptors*)

p53 – Proteína 53 (*Protein 53*)

q – Cada

rRNA – Ácido ribonucleico ribossomal (*Ribosomal RiboNucleic Acid*)

SCF – Fator de célula estaminais (*Stem Cell Factor*)

SCFR – Recetor de fator de células estaminais (*Stem Cell Factor Receptor*) ou c-kit

SID – Uma vez por dia

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

Th – Linfócito T *helper* (*T Helper cell*)

TKI – Inibidores dos recetores tirosina quinase (*Tyrosine Kinase Inhibitors*)

TLR – *Toll Like Receptor*

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alpha*)

Toxina δ – Toxina delta (*δ -Toxin*)

VCOG-CTCAE – *Veterinary Cooperative Oncology Group Common Terminology Criteria for Adverse Effects*

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGFR – Recetor para o fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*)

Parte I. Atividades de estágio

A presente dissertação decorre do estágio curricular do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. O mesmo teve lugar nas clínicas veterinárias do grupo Elsa Pereira, concretamente, na Clínica Veterinária Elsa Pereira, em Alfragide, e no Centro Veterinário de Alvalade.

Desde o dia 1 de outubro de 2019 até 16 de março de 2020, a autora teve a oportunidade de contactar diretamente com a profissão, acompanhada e instruída pela diretora clínica e tutora Dra. Elsa Pereira, bem como pelo restante corpo clínico – Dra. Filipa Inácio, Dra. Rita Murta, Dr. Miguel Pereira, enfermeira Marta Pinto e auxiliares Patrícia Galhanas e Daniela Palhares.

As atividades realizadas englobaram consultas de medicina preventiva a canídeos e felídeos, nas quais foi dada ênfase aos protocolos de vacinação e desparasitação, identificação eletrónica, preenchimento de boletins de sanidade e passaportes.

No âmbito da Medicina Interna, a autora constatou a importância da anamnese e técnica de entrevista empregue, participando no exame de estado geral, eventuais contensões, colheitas sanguíneas, execução de fluidoterapia e administração de fármacos. Em todos os momentos o enfoque foi o de estimular o espírito crítico e a autonomia, discutindo diagnósticos diferenciais e consultando variadas fontes bibliográficas que suportassem o diagnóstico definitivo e concordante atuação.

A escolha e interpretação de exames complementares, tais como painéis bioquímicos e hemogramas, foi outra das tarefas efetuadas. A autora familiarizou-se ainda com a execução de radiografias digitais. Contudo, de entre os diversos meios de diagnóstico, ressalta-se o serviço de ecografia abdominal de referência, onde houve o privilégio de treinar continuamente o entendimento das imagens obtidas. Pontualmente, também assistiu a ecocardiografias e ecocardiogramas.

No serviço de Cirurgia, a autora participou na admissão dos animais, confirmando o cumprimento dos requisitos pré-cirúrgicos, na cateterização venosa, na administração de pré-medicação seguida de indução, na entubação endotraqueal e na tricotomia e preparação asséptica da área de incisão cirúrgica. Teve como principais funções a de anestesista e circulante. Nas cirurgias eletivas, por vezes atuou como ajudante de cirurgião. As intervenções mais frequentes foram: ovariohisterectomia, orquiectomia, destartarização e extração dentária, rinoplastia e palatectomia a laser de CO₂, nodulectomia, mastectomia e esplenectomia. A principal responsabilidade foi a de monitorizar e medicar os doentes no recobro pós-cirúrgico e quaisquer animais em internamento. A aluna praticou igualmente a

comunicação aos tutores do fim das cirurgias, a escrita e transmissão de notas de alta e acompanhou as consultas de seguimento, com reavaliação de suturas, pensos e extração de pontos.

A cargo da autora ficou também o acondicionamento de amostras para análise citológica e histopatológica, com a respetiva requisição devidamente preenchida. De entre elas, surgiram relatórios histopatológicos cujo diagnóstico de mastocitoma veio permitir a inclusão de doentes no estudo que doravante se apresenta.

De evidenciar a oportunidade de comparecer em várias palestras, nomeadamente no XVI Congresso Internacional Veterinário Montenegro – um gesto de incentivo à formação contínua que merece estima.

Introdução ao tema de tese

Atualmente, 50% dos cães com mais de 10 anos de idade morre de cancro (Śmiech et al. 2019; Estrada et al. 2020) verificando-se o mesmo nos gatos (Estrada et al. 2020).

No cão, cerca de 30% do total de tumores tem origem na pele, enquanto que no gato esse valor decresce para 20% (Estrada et al. 2020).

Os mastocitomas apresentam uma incidência relativa de 16,8% (Kiupel and Camus 2019; Hauk and Oblack 2020), no mesmo nível do registado para o gato, com um valor de 16,49% (Sabattini and Bettini 2019; Hauk and Oblack 2020).

De acordo com Hanahan (2022), as células cancerígenas são dotadas de 10 características adquiridas ao longo do processo de tumorigénese, assente em quatro pilares – a instabilidade genética, a reprogramação epigenética não mutacional, os microbiomas polimórficos dos tecidos e o estado inflamatório crónico do indivíduo: 1) assegurar autonomamente a proliferação celular; 2) escapar à ação de genes supressores de crescimento; 3) resistir à morte celular; 4) possuir potencial replicativo ilimitado; 5) induzir a angiogénese; 6) ativar a invasão tecidual e a metastização; 7) reprogramar o metabolismo energético; 8) contornar a destruição imunitária; 9) dotar-se de capacidade de promoção tumoral a partir das suas células senescentes e 10) desbloquear a plasticidade fenotípica.

Atualmente é aceite a existência de células estaminais do cancro (CSC – *Cancer Stem Cells*), conceito que veio derrubar a noção de que uma neoplasia se limita a um conjunto de células cancerígenas, homogéneas e independentes do meio envolvente (Hanahan and Weinberg 2011). Definidas como uma subpopulação de células neoplásicas, as CSC caracterizam-se pelo seu potencial replicativo ilimitado, idêntico às células estaminais do tecido de origem. É a partir das mesmas que ocorre a diferenciação celular, de onde provém a multiplicidade de células que constitui um tumor (Hanahan and Weinberg 2011), com um impacto importante na metastização e na manutenção da doença (Pang and Argyle 2015).

Porém, o modelo CSC e a teoria clássica do modelo estocástico da oncogénese não se anulam mutuamente. Antes, eles complementam-se na medida em que a heterogeneidade genética de qualquer neoplasia é independente da diferenciação de CSC, devendo-se às mutações acumuladas ao longo das sucessivas e rápidas mitoses da progressão tumoral (Pang and Argyle 2015).

Em oncologia veterinária, a identificação de mutações no recetor de fator de células estaminais (SCFR – *Stem Cell Factor Receptor*), isto é, no recetor tirosina quinase (c-kit) de mastocitomas de canídeos, veio evidenciar a componente genética da doença e a sua

implicação no prognóstico (Hauk and Oblack 2020), como discutido adiante no presente documento em maior detalhe.

Enquanto interface com o exterior, a pele sofre uma constante renovação celular ao interagir com estímulos mecânicos e químicos. Uma disfunção na barreira cutânea tem como consequência a penetração de alergénios, substâncias irritantes ou microrganismos, passíveis de perturbar a homeostase e desencadear processos inflamatórios (Yang et al. 2020).

Se, por um lado, a inflamação é considerada uma resposta antitumoral, por outro, exerce um efeito paradoxal na progressão da doença, ao recrutar moléculas bioativas até ao seu microambiente. Exemplo disso é a chamada de fatores de crescimento, facilitadores da proliferação celular (Hanahan and Weinberg 2011).

Esta associação entre inflamação e neoplasia pode ocorrer por uma de duas vias: a intrínseca ou a extrínseca. A primeira deriva de mutações em oncogenes e genes supressores tumorais, as quais originam células cancerígenas que por sua vez produzem mediadores inflamatórios, detetados no microambiente tumoral. Neste cenário, não existem estados inflamatórios pré-existentes (Mantovani et al. 2008). Pelo contrário, a segunda tem por base a presença inicial de estados inflamatórios ou infecciosos, potenciando o risco de cancro. Ambas confluem até ao mesmo ponto: a promoção de inflamação tumoral persistente (Mantovani et al. 2008).

Dentro da mesma linha de pensamento, coloca-se a hipótese de a inflamação cutânea crónica fomentar o aparecimento ou a recidiva de mastocitomas, a qual dá assim o mote para o presente trabalho desenvolvido como tese de mestrado integrado em medicina veterinária.

Parte II. Revisão Bibliográfica

1 Mastócitos

Com origem na medula óssea, as células estaminais CD34+ constituem os precursores hematopoiéticos dos mastócitos (Lin et al. 2006). Ao atingirem a circulação sanguínea, os mastócitos imaturos deslocam-se rapidamente para o tecido conjuntivo ou mucosas, onde sofrem maturação (Kumar and Sharma 2010; Soberano and Nardi 2020). Com uma vida útil entre semanas a meses (Galli et al. 2011), têm como principais órgãos-alvo a pele, os pulmões e o trato gastrointestinal, podendo, eventualmente, serem identificados na região paracortical dos linfonodos (Soberano and Nardi 2020).

Dentro de um mesmo órgão, a distribuição de mastócitos varia. Por exemplo, no caso da pele saudável de canídeos, verifica-se um maior número ao nível do pavilhão auricular e da pele interdigital. Em todas as regiões analisadas, a contagem é significativamente mais elevada na derme superficial, quando comparada com a derme profunda (Auxilia and Hill 2000). De acordo com Noviana et al. (2001, 2004), tanto no cão como no gato, a densidade de mastócitos cutâneos é superior na derme e na junção dermoepidérmica.

Comparativamente ao cão, o gato apresenta um número de mastócitos na derme do pavilhão auricular muito superior (Noviana et al. 2001). Em relação aos linfonodos, os valores obtidos são equiparáveis entre as espécies (Noviana et al. 2001).

No que respeita à morfologia, os mastócitos são células redondas, com núcleo esférico ou ovoide. O seu citoplasma é rico em inúmeros grânulos, cuja metacromasia é um traço distintivo (Soberano and Nardi 2020). Esta deve-se à presença de proteases e proteoglicanos no seu interior (Kumar and Sharma 2010). Assim, os grânulos assumem uma tonalidade púrpura com a coloração rápida de Romanowsky (Albanese 2017a) e roxa com azul de toluidina (Albanese 2017b), entre outros.

O processo de maturação caracteriza-se pela presença constante do Complexo Fator de células estaminais (SCF - *Stem Cell Factor*) (Kumar and Sharma 2010).

O complexo SCF representa a ligação entre o c-kit (também apelidado de CD117) e o fator de crescimento SCF (Kiupele et al. 2004). Em mastócitos normais, a expressão da proteína c-kit ocorre, sobretudo, como recetor membranar à superfície celular (Kiupele et al. 2004). O c-kit é codificado pelo proto-oncogene c-kit (Kiupele and Camus 2019; Brocks et al. 2020).

Quanto ao SCF, é um fator essencial à sobrevivência dos mastócitos, secretado por diferentes células, nomeadamente fibroblastos, células do estroma e células endoteliais (Jamur 2011).

Apesar do complexo SCF ser um elemento crítico para a proliferação e diferenciação celular, existem outros, visto que o fenótipo do mastócito maduro é influenciado pelo microambiente onde o mesmo se encontra (Jamur 2011). A interleucina (IL – *InterLeukin*) 3, IL-4, IL-6 e IL-9 e o fator de crescimento nervoso (NGF – *Nerve Growth Factor*) têm, igualmente, um papel regulador (London and Seguin 2003; Jamur 2011). É esta dinâmica no fenótipo que explica a chamada “heterogeneidade dos mastócitos” (Noviana et al. 2001), patente nos seus locais de migração (Jamur 2011). Assim, faz-se a distinção entre mastócitos do tecido conjuntivo (CTMC – *Connective Tissue Mast Cells*) e das mucosas (MMC – *Mucosal Mast Cells*) (Jamur 2011).

1.1 Recetores de superfície

Os mastócitos apresentam à superfície diversos recetores, entre eles como já referido, o c-kit, o recetor para o fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR – *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*) (Abraham and St. John 2010), recetores para neuropéptidos (Lin and London 2010) e um conjunto de recetores de reconhecimento de padrões (PRR – *Pattern Recognition Receptors*) (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020), onde se incluem o recetor de alta afinidade para a região Fc da IgE (FcεRI – *high-affinity receptor for the Fc Region of Immunoglobulin E*), o recetor de baixa afinidade para a região Fc da IgE (FcεRII – *low-affinity receptor for the Fc Region of Immunoglobulin E*) (Lin et al. 2006; Abraham and St. John 2010), os *toll like receptors* (TLR) e os recetores de proteínas do complemento, entre outros (Abraham and St. John 2010; Katsoulis-Dimitriou et al. 2020).

Os FcεRI e FcεRII estabelecem ligação com a imunoglobulina E (IgE – *Immunoglobulin E*) de antígenos ambientais ou parasitários, aquando da exposição inicial aos mesmos – Fase de sensibilização (Snyder 2013). Posteriormente, perante uma segunda exposição, decorre a ligação cruzada de duas ou mais IgEs à superfície dos mastócitos (Snyder 2013), resultando na ativação e desgranulação dos mastócitos, com a libertação de mediadores inflamatórios (Snyder 2013). Existem ainda recetores para a região Fc da imunoglobulina G (FcγR – *receptor for the Fc Region of immunoglobulin G*; IgG – *Immunoglobulin G*) (Abraham and St. John 2010).

A ativação de mastócitos através dos recetores FcεR é apelidada de hipersensibilidade tipo I (Snyder 2013). Apesar de ser este o meio clássico de ativação, existem outros mecanismos aptos a estimulá-la, tais como anti-inflamatórios não esteróides (AINES), estímulos físicos (ex: traumatismo), diversos mediadores químicos (ex: IL-8) (Lin et al. 2006; Snyder 2013), neuropéptidos (ex: substância P), bactérias, parasitas e vírus (Abraham and St. John 2010). Dependendo da via de ativação, são libertados padrões distintos de mediadores (Galli et al. 2011). De forma geral está implícita a desgranulação, contudo, é possível que ocorra somente a secreção de mediadores secundários (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020).

De entre os recetores de superfície estimuladores, destacam-se ainda os TLRs, capazes de reconhecer agentes infecciosos ou produtos deles derivados, através dos apelidados padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMP – *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). Atuam também na deteção de produtos endógenos, como células necrosadas, pelos padrões moleculares associados a perigo (DAMP – *Danger-Associated Molecular Patterns*) (Kumar and Sharma 2010; Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). Vários TLRs são expressos conforme o fenótipo dos mastócitos (Kumar

and Sharma 2010). Se ativados em simultâneo com os recetores FcεRI, pode observar-se um efeito sinérgico na produção de citocinas pelos mastócitos (Abraham and St. John 2010).

1.2 Mediadores de inflamação

Ainda que divididos em CTMC e MMC (Jamur 2011), os mastócitos são identificados perto de vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos (Abraham and St. John 2010; Snyder 2013). As localizações observadas não são aleatórias, mas sim um posicionamento estratégico para a sinalização atempada de infeções (Abraham and St. John 2010). Através dos seus mediadores inflamatórios, os mastócitos interagem com outros elementos do sistema imunitário, quer os mais próximos como as células dendríticas, quer os mais distantes nos gânglios linfáticos (Abraham and St. John 2010).

Os mediadores dividem-se em primários e secundários. Os primeiros constituem os pré-formados, armazenados nos grânulos citoplasmáticos, libertados em minutos após a desgranulação (Abraham and St. John 2010). Incluem-se a histamina (decorrente da ligação cruzada de IgEs) (Lin et al. 2006), a serotonina, a adenosina, fatores quimiotáticos, proteases, heparina e outros proteoglicanos (Snyder 2013).

No segundo grupo encontram-se as citocinas (ex: IL-4; fator de necrose tumoral alfa – TNF-α – *Tumor Necrosis Factor Alpha*), metabolitos do ácido araquidónico produzidos pelas vias da ciclo-oxigenase ou lipo-oxigenase (isto é, eicosanóides, entre eles leucotrienos e prostaglandinas), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF – *Vascular Endothelial Growth Factor*) (Ng 2010) e fatores ativadores de plaquetas (Snyder 2013; Soberano and Nardi 2020), decorrentes do processo de síntese *de novo*, que demora minutos a horas (Abraham and St. John 2010).

Uma vez mais, o conjunto de mediadores produzido é influenciado pelo fenótipo dos mastócitos em causa, bem como da sua localização anatómica e microambiente (London and Seguin 2003). Contudo, de acordo com Abraham e St. John (2010), a resposta dos mastócitos é ainda mais elegante, uma vez que durante uma infeção ativa, modulam em tempo útil o seu fenótipo, alterando a transcrição dos mediadores primários. Isto significa que após a resolução, os mastócitos procuram prevenir reinfeções – como se de células de memória se tratassem. Na realidade, há um reconhecimento crescente do papel dos mastócitos na resposta imunitária adaptativa por parte de diversos autores (Abraham and St. John 2010; Kumar and Sharma 2010; Galli et al. 2011; Gri et al. 2012; Katsoulis-Dimitriou et al. 2020).

1.3 Funções biológicas

Contrariamente à dos mastócitos de humanos e ratos, a biologia dos mastócitos de canídeos continua em grande medida por clarificar (Lin et al. 2006). Os mastócitos normais caninos podem ser reproduzidos em laboratório, com base em mastócitos derivados da medula óssea cultivados *in vitro* (BMCMC – *Bone Marrow-derived Cultured Mast Cells*) (Lin et al. 2006). A possibilidade de recorrer a BMCMC para o estudo destas células é importante, visto que na maioria das investigações a informação obtida provém de linhas de mastócitos tumorais, que não refletem forçosamente as funções de mastócitos normais (Lin et al. 2006). De modo geral, os BMCMC de canídeos partilham mais características com os de humanos do que com os de ratos (Lin et al. 2006).

De acordo com Noviana et al. (2004), os mastócitos caninos *in vivo* apresentam 3 populações, conforme as protéases presentes nos grânulos: mastócitos triptase (MC_T), mastócitos quimase (MC_C) e mastócitos triptase-quimase (MC_{TC}). Estes últimos encontram-se, principalmente, na pele (Noviana et al. 2001; Noviana et al. 2004). Os BMCMC obtidos no trabalho de Lin et al. (2006) foram, na sua maioria, MC_{TC} – de onde se afere que os BMCMC *in vitro* se assemelham aos mastócitos cutâneos.

Os mastócitos felinos *in vivo* englobam de forma idêntica os 3 subtipos mencionados, com os MC_{TC} a predominar ao nível do pavilhão auricular, baço e língua (Noviana et al. 2001). Já os MC_{TC} caninos predominam ao nível do pavilhão auricular, língua, fígado, baço e pulmão (Noviana et al. 2004).

As funções da triptase e da quimase não estão totalmente esclarecidas. Reconhece-se que participam na promoção e modulação da inflamação cutânea (Noviana et al. 2001). Segundo Ng (2010), ambas colaboram na cicatrização de feridas, estando a triptase em particular envolvida ao longo de todo o processo. Estimula a proliferação de fibroblastos, a síntese e deposição de colagénio na matriz extracelular e induz, por fim, a contração actínica da ferida. Tanto a quimase como a triptase promovem ainda a angiogénese (Komi et al. 2020).

De facto, os mastócitos possuem inúmeras funções, quer inflamatórias, quer imunológicas. São parte integrante da imunidade inata, habitualmente associados a reações alérgicas e infeções. São responsáveis por reforçar a quimiotaxia local de neutrófilos, eosinófilos (Galli et al. 2011; Katsoulis-Dimitriou et al. 2020) e células dendríticas, através da secreção de TNF- α e IL-1 (Kumar and Sharma 2010).

Nas reações inflamatórias, a libertação de histamina conduz à vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, com consequente edema. As suas ações são intensificadas pelo fluxo de TNF (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020), o qual também contribui para a formação e estabilização de coágulos (Komi et al. 2020).

Enquanto impulsionadores da resposta imunitária adaptativa, os mastócitos atuam de 4 formas diferentes. De entre elas, destaca-se a capacidade de influenciar remotamente a hipertrofia de linfonodos regionais, por meio da histamina e principalmente de TNF (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). No estudo *in vitro* de McLachlan et al. (2003), níveis consideráveis de TNF foram rapidamente registados em linfonodos regionais, após ativação mastocitária à periferia. O facto do TNF apresentar um tempo de semivida curto *in vivo* e de existir uma distância significativa entre o local de inflamação e respetivo linfonodo, intriga, ainda hoje, os investigadores sobre a capacidade do TNF sobreviver à degradação (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). Presume-se que este efeito indireto na linfadenomegália se deva ao armazenamento de TNF nos grânulos, libertados pelos mastócitos de forma intacta, sem recurso à desgranulação, como observado em vários estudos *in vivo* (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020).

Outro modo pelo qual os mastócitos influenciam a imunidade adaptativa é através da promoção da migração de células dendríticas, não só ao local de infeção, como também ao linfonodo regional no seguimento de ativação mediada por IgE (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). De acordo com o estudo *in vivo* em ratos de Dudeck et al. (2019), durante a inflamação cutânea do pavilhão auricular e no seguimento da desgranulação mastocitária, as células dendríticas dérmicas captam grânulos intactos. Estes só sofrem degradação quando já transportados até ao linfonodo regional, ainda dentro das células dendríticas dérmicas. Em resultado, estas últimas vêem a sua migração e maturação facilitadas. Além do mais, a sua capacidade de iniciar a síntese de células T (*T-cell priming*) é instigada (Dudeck et al. 2019).

A interação com células dendríticas durante a inflamação cutânea também é vantajosa para os mastócitos, já que a partir das primeiras, adquirem o complexo maior de histocompatibilidade classe II (MHC-II – *Major Histocompatibility Complex class II*) e tornam-se aptos a ativar linfócitos *T helper* (Th) (CD4+) por meio de apresentação de antigénios (Dudeck et al. 2017). Dado que as células dendríticas têm de se ausentar do tecido cutâneo afetado até aos linfonodos drenantes, acredita-se que estas trocas moleculares com os mastócitos tenham como intuito prepará-los para manter a linha de defesa e integridade da barreira cutânea. Note-se que este “contacto célula a célula” não é arbitrário e aumenta com a inflamação cutânea persistente (Dudeck et al. 2017).

Assim, o terceiro modo de ação prende-se com a ativação direta de linfócitos T (Katsoulis-Dimitriou et al. 2020). Pela secreção de IL-4, os mastócitos conduzem a uma resposta imunitária do tipo Th2 (Mekori and Metcalfe 1999) – aquela a que são comumente associados (Abraham and St. John 2010). Em conjunto com a IL-13, a IL-4 promove a síntese de IgE pelos linfócitos B (Mekori and Metcalfe 1999).

Em alternativa, a ativação e proliferação de linfócitos Th pode ter origem na ligação do antígeno associado à função leucocitária 1 (LFA-1 – *Lymphocyte Function-associated Antigen*) (Gri et al. 2012) à molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1 – *InterCellular Adhesion Molecule 1*), expressa à superfície dos mastócitos (Mekori and Metcalfe 1999). Por conseguinte, há desgranulação e libertação de citocinas (Mekori and Metcalfe 1999).

Na revisão de Abraham and St. John (2010), reconhece-se que em paralelo, o sistema imunitário adaptativo possui um mecanismo de retroalimentação capaz de regular as funções dos mastócitos durante um processo inflamatório. Exemplo disso é o aumento da secreção *in vitro* de TNF e histamina perante o contacto com células T.

Efetivamente, existe uma interação bidirecional entre os mastócitos e as restantes células presentes no microambiente. Se, por um lado, tal significa que o fenótipo dos mastócitos pode ser alterado pelos sinais secundários recebidos das células vizinhas, por outro, daí se depreende que os mastócitos “orquestram a resposta imunológica geral” (Gri et al. 2012; Katsoulis-Dimitriou et al. 2020).

1.4 Papel dos mastócitos no desenvolvimento tumoral

Na literatura científica, os mastócitos são apontados como auxiliares na iniciação e progressão de vários tipos de tumores (Ribatti et al. 2018), graças aos seus mediadores, designadamente a heparina, a histamina, a metaloproteinase 9 da matriz (MMP-9 – *Matrix MetalloProteinase-9*) e vários fatores de crescimento, como o VEGF. Todos estes favorecem fenótipos angiogénicos (Coussens and Werb 2001).

Giantin et al. (2012) comprovou, com recurso a imunohistoquímica, que a expressão de MMP-9 e VEGF-A está correlacionada com o grau histológico e a malignidade do mastocitoma cutâneo em canídeos.

Os mastocitomas cutâneos e subcutâneos expressam VEGFR2 (Thompson et al. 2016). Em mastocitomas subcutâneos recidivantes, existe uma correlação positiva significativa entre a expressão de VEGFR2 e os seus níveis de fosforilação (da Silva et al. 2017). Após a extirpação cirúrgica, os doentes com elevados níveis de VEGFR2 apresentaram intervalos de tempo livre de doença menores, o que é sugestivo de que a ativação de VEGFR2 está envolvida na fisiopatologia de mastocitomas subcutâneos caninos (da Silva et al. 2017).

Ranieri et al. (2003) avaliou o papel da angiogénese na progressão do mastocitoma cutâneo e constatou que existe maior densidade microvascular em mastocitomas de alto grau de malignidade. A principal conclusão tirada deste estudo foi a de que existe uma correlação

significativa entre a densidade de mastócitos e a densidade microvascular em mastocitomas indiferenciados, isto é, de grau III de Patnaik et al. (1984). No entanto, esta correlação não se verificou nos mastocitomas intermédios (grau II) e bem diferenciados (grau I). Assim, entende-se que os mastócitos se acumulam no microambiente tumoral e têm uma participação ativa no processo de angiogénese.

1.5 Papel dos mastócitos na patologia cutânea

Nas reações de hipersensibilidade, os mastócitos libertam mediadores pruriginosos. A histamina é, de longe, o mais reconhecido (Wang et al. 2020). Porém, à luz da evidência científica atual, admite-se cada vez mais que o prurido crónico advém de outros mecanismos efetores dos mastócitos (Wang et al. 2020). Exemplo disso é o uso do composto 48/80 em inúmeros estudos com recurso a ratos de laboratório, cuja injeção intradérmica provoca uma forte e rápida ativação mastocitária (Wang et al. 2020). Embora este efeito seja há muito tempo reconhecido, apenas recentemente se descobriu o seu mecanismo: a ativação mediada pelo recetor X2 MAS-relacionado acoplado à proteína G (MRGPRX2 – *MAS-Related G Protein coupled Receptor X2*), presente à superfície de mastócitos humanos (Wang et al. 2020) e de mastócitos caninos (Hamamura-Yasuno et al. 2020). Estes últimos expressam-se nos CTMC da derme das pálpebras, abdómen, bochechas e escroto (Hamamura-Yasuno et al. 2020).

Nos restantes mediadores pruriginosos, inserem-se a prostaglandina E2 (PGE2), o leucotrieno B4 (LTB4) e a triptase (Wang et al. 2020).

A investigação de Gschwandtner et al. (2013) deu como comprovada a existência de ligação entre mastócitos e defeitos na barreira cutânea, tendo a histamina um papel significativo, já que conduz à diminuição da expressão de proteínas importantes na integridade das *tight junctions*.

A mastocitose cutânea, uma proliferação anormal de mastócitos na derme, foi relatada num cachorro com 3 semanas de idade, da raça Jack Russell Terrier. Todos os múltiplos nódulos de mastócitos bem diferenciados sofreram regressão espontânea até às 27 semanas de idade do animal. O caso foi equiparado à urticária pigmentosa em crianças (Davis et al. 1992). Outro caso de mastocitose cutânea foi diagnosticado num cão, macho, castrado, com 3 anos de idade, arraçado de Labrador Retriever. O doente apresentava, no abdómen, numerosas e pequenas pápulas, pruriginosas e não pigmentadas que, posteriormente, se disseminaram para o tórax e face anterior da coxa, com prurido persistente. Após 20 semanas, as cerca de 100 lesões permaneciam estáveis, tendo-se confirmado não existirem mutações no c-kit (Pariser and Gram 2015).

2 Mastocitoma

2.1 Etiologia

A etiologia do mastocitoma em cães permanece em grande parte uma incógnita. No passado, alguns casos foram associados a inflamação cutânea crônica ou a substâncias irritantes aplicadas na pele (Govier 2003; London and Thamm 2020). No entanto, a epidemiologia do mastocitoma em cães não sustenta a hipótese de um carcinogénico tópico (London and Thamm 2020).

Uma etiologia vírica foi sugerida a partir de transplantação de células tumorais em cães de laboratório (Lombard and Monoley 1959 e Nielson and Cole 1961 citados por London and Thamm 2020), mas carece de evidência inequívoca (London and Thamm 2020).

As causas melhor fundamentadas são genéticas e contemplam mutações no proto-oncogene c-kit, detetadas em vários mastocitomas cutâneos (Kiupel et al. 2004). Inúmeras investigações procuraram examinar diferentes tipos de mutações e exões, com a prevalência de mutações a oscilar largamente entre 8,5% e 72,3% (Brocks et al. 2020). Todavia, é do consenso científico que a mutação com duplicação interna em tandem (ITD – *Internal Tandem Duplication*) na região codificadora da justamembrana (exão 11) é a mais comum (Brocks et al. 2020) e de notória importância, visto que ativa o c-kit, ainda que na ausência de SCF, o que leva à desregulação da transdução de sinal e pode clarificar a transformação neoplásica dos mastócitos (Kiupel et al. 2004; Letard et al. 2008).

No estudo de Letard et al. (2008), 26,2% dos cães com mastocitoma cutâneo possui mutações no c-kit, sendo a maioria delas (64%) no exão 11 e uma porção menor mas significativa (34%) nos exões 8 e 9. Apenas 1 animal apresentava mutações no exão 17 (2%). Resultados pertinentes, pois contrapõem-se à distribuição de mutações c-kit em medicina humana (Letard et al. 2008). Mais recentemente, Kiupel e Camus (2019) afirmam que as mutações nos exões 8 e 9 representam menos de 5% do total de mutações c-kit.

Mutações no gene supressor tumoral codificador da proteína 53 (p53 – *Protein 53*) foram também identificadas em mastocitomas cutâneos de canídeos (Ginn et al. 2000; Vozdova et al. 2019). Porém, não foi estabelecida correlação com o prognóstico (Ginn et al. 2000; Vozdova et al. 2019).

O trabalho de Ohmori et al. (2008) identificou, a partir de uma linha celular de mastócitos tumorais, a existência de proliferação neoplásica independente de mutações c-kit, pelo que existirão mecanismos alternativos capazes de regular a progressão tumoral.

2.2 Apresentações clínicas

Os mastocitomas de canídeos apresentam comportamentos biológicos altamente variáveis (Kiupel et al. 2004).

A apresentação clínica mais comum consiste num nódulo solitário na derme, cuja aparência macroscópica é extremamente dúbia, pois tanto se assemelha a uma massa elevada sem pêlo acompanhada por eritema, como a erupções cutâneas nodulares ou inchaço difuso. Com menor frequência, o nódulo é subcutâneo (Kiupel and Camus 2019).

O comportamento biológico varia de benigno, com um nódulo pequeno, possivelmente presente há meses e de crescimento lento; a altamente agressivo, verificando-se um crescimento rápido, com o nódulo a atingir grandes dimensões e a tornar-se ulcerado, provocando inflamação local (London and Thamm 2020).

Com a manipulação física de um mastocitoma, constata-se a formação subsequente de eritema – o conhecido sinal de Darier (Govier 2003). Este fenómeno resulta da desgranulação mastocitária com libertação de substâncias vasoativas, como a histamina e heparina. Podem, também, formar-se pápulas nos tecidos circundantes (Govier 2003).

No cão, a maioria dos mastocitomas é de localização cutânea. Ainda assim, está descrita a forma visceral (Pollack et al. 1991 citado por Govier 2003).

Moirano et al. (2018) concluíram no seu estudo com uma amostra de 40 cães com mastocitoma na forma visceral que 88% dos casos possuíam um mastocitoma cutâneo primário. Os restantes 12% tinham um mastocitoma visceral primário. 50% do total de animais apresentou sinais sistémicos de doença, sendo eles, por ordem decrescente de prevalência, letargia, anorexia, vômito, diarreia, hematemese, hematoquémia e melena. Todos os cães com mastocitoma visceral primário apresentaram sinais sistémicos (Moirano et al. 2018), resultantes da desgranulação de mastócitos (Govier 2003; Moirano et al. 2018).

A forma visceral é rara e contempla o baço, fígado e/ou medula óssea, com possível envolvimento de linfonodos distantes do tumor primário e eventual mastocitémia. O prognóstico é grave, com uma mediana de tempo de sobrevida entre 16-117 dias (Moirano et al. 2018).

À semelhança do mastocitoma visceral primário, a doença do trato respiratório primária também é rara (London and Seguin 2003).

É importante referir que, mesmo com um comportamento indolente por vários anos, qualquer mastocitoma cutâneo pode vir a apresentar uma progressão súbita e metastizar,

pelo que não deve ser desvalorizado (Soberano and Nardi 2020). A metastização ocorre por via linfática, atingindo os linfonodos regionais, baço, fígado, pele e medula óssea (Soberano and Nardi 2020).

Os mastocitomas cutâneos apresentam-se como um nódulo solitário ou múltiplos tumores dérmicos (Mullins et al. 2006). A fisiopatologia desta apresentação multicêntrica continua ainda por esclarecer. Enquanto alguns autores colocam a hipótese de se tratar de tumores distintos, que surgem de modo independente, sem relação entre si (mastocitomas *de novo*) (Mullins et al. 2006), outros defendem que consiste numa metastização atípica. Um estudo demonstrou, através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR – *Polymerase Chain Reaction*), uma origem clonal para dois casos de mastocitomas cutâneos múltiplos, com localizações anatómicas diferentes e com desenvolvimentos espaçados por anos (Zavodovskaya et al. 2004). Os ensaios PCR comprovaram a presença de mutações ITD no exão 11 do c-kit e a sequenciação genómica revelou a sua natureza idêntica, abrangendo pares de bases iguais (Zavodovskaya et al. 2004).

Na literatura, o mastocitoma cutâneo multicêntrico representa 11% a 14% dos casos (Mullins et al. 2006).

2.2.1 Síndromes paraneoplásicas

Diversas síndromes paraneoplásicas estão relacionadas com mastocitomas em cães, designadamente a ulceração gastrointestinal (Fox et al. 1990).

Em cães portadores de mastocitoma cutâneo, 35% (Fox et al. 1990) a 83% apresentavam ulceração gastrointestinal (Howard et al. 1969).

Com efeito, os mastócitos tumorais contêm 25 a 50 vezes mais histamina do que o normal (Soberano and Nardi 2020). A sua libertação aquando da desgranulação provoca a estimulação dos recetores H2 das células parietais do estômago, resultando numa maior secreção de ácido clorídrico (Ishiguro et al. 2003). Deste modo, a mucosa gástrica torna-se espessa, podendo desenvolver-se desde uma gastrite crónica, com o doente a apresentar uma perda de peso e anorexia, e até uma ulceração gastrointestinal (Soberano and Nardi 2020).

O estudo preliminar de Ishiguro et al. (2003) sugere que a monitorização da concentração plasmática de histamina pode ser uma ferramenta útil para vigiar a progressão tumoral, em especial de mastocitomas de alto grau.

Outras síndromes englobam atraso na cicatrização de feridas, deiscência de suturas (Soberano and Nardi 2020), prolongamento dos tempos de coagulação (O’Keefe et al. 1987), especialmente aquando da extirpação cirúrgica, e choque hipotensivo (muito raro) (Ende and Auditore 1964 citado por Howard et al. 1969).

2.3 Diagnóstico

2.3.1 Estadiamento clínico

Perante um diagnóstico de mastocitoma cutâneo canino, é recomendado o médico veterinário inteirar-se da extensão da doença, através do estadiamento proposto pela organização mundial de saúde (OMS) (Tabela 1) (London and Thamm 2020). Esta classificação é preditiva do prognóstico (Horta et al. 2018).

Tabela 1. Estadiamento de mastocitomas segundo a OMS, adaptado de London e Thamm (2020)

Estadio	Descrição
0	Um tumor excisado incompletamente da derme, identificado histopatologicamente, sem envolvimento de linfonodo regional a. Sem sinais sistémicos b. Com sinais sistémicos
I	Um tumor confinado à derme, sem envolvimento de linfonodo regional a. Sem sinais sistémicos b. Com sinais sistémicos
II	Um tumor confinado à derme, com envolvimento de linfonodo regional a. Sem sinais sistémicos b. Com sinais sistémicos
III	Múltiplos tumores dérmicos; tumores muito infiltrativos com ou sem envolvimento de linfonodo regional a. Sem sinais sistémicos b. Com sinais sistémicos
IV	Qualquer tumor com metastização à distância, incluindo envolvimento da medula óssea ou sangue periférico

Contudo, os estadios II e III da OMS geram interrogações na comunidade científica, na medida em que o diagnóstico de metastização linfática é difícil, para além da indefinição em torno da relevância da apresentação de múltiplos tumores, sobretudo quando o linfonodo

regional não se encontra comprometido (Horta et al. 2018). Na realidade, diversos estudos relatam que tumores múltiplos não têm pior prognóstico (Mullins et al. 2006), em comparação com um tumor único com o mesmo grau histológico (Murphy et al. 2006).

Embora muito difundido, o estadiamento não possui uma interpretação clara, pois um mastocitoma múltiplo é inicialmente classificado no estadio III, mas, se um novo tumor vier a desenvolver-se, este último deve ser “classificado de forma independente” (Owen 1980 citado por Murphy et al. 2006), o que pode significar uma nova apreciação, por exemplo, no estadio I (Murphy et al. 2006). Assim, o estadiamento nesta doença não é posto em prática tal como projetado de início (Murphy et al. 2006).

2.3.2 Histopatologia e grau histológico

A maioria dos mastocitomas são identificáveis por PAAF, mas a distinção entre cutâneo e subcutâneo requer a análise histopatológica (Kiupel and Camus 2019). Intitula-se mastocitoma cutâneo aquele que se localiza em qualquer lugar da derme e que pode estender-se para a epiderme ou para a subcutis. O termo mastocitoma subcutâneo é reservado ao tumor que se localiza por inteiro na subcutis e é rodeado por tecido adiposo (Kiupel and Camus 2019).

Existem 3 sistemas de classificação histopatológica (Camus et al. 2016), destacando-se 2: o de Patnaik et al. (1984), amplamente usado até 2011, e o de Kiupel et al. (2011) (Şmiech et al. 2018).

O sistema de Patnaik et al. (1984) diferencia o mastocitoma em 3 graus tumorais, sendo o grau I o mais benigno. Esta classificação apoia-se em características histomorfológicas, nomeadamente: extensão do envolvimento; celularidade e morfologia celular; índice mitótico; reação estromal (Patnaik et al. 1984). A descrição microscópica de cada grau encontra-se resumida na tabela 2.

Tabela 2. Classificação histopatológica de mastocitomas em canídeos, adaptado de Patnaik et al. (1984)

Grau de Patnaik	Descrição microscópica
I – Bem diferenciado	Neoplasia confinada à derme e espaços interfoliculares; Mastócitos bem diferenciados, dispostos em filas ou pequenos grupos, separados por fibras de colagénio maduras; células redondas e monomórficas, com citoplasma abundante; limites citoplasmáticos distintos; grânulos intracitoplasmáticos de tamanho médio; núcleos redondos com cromatina condensada; figuras mitóticas ausentes.
II – Intermédio	Neoplasia moderadamente a altamente celular, com infiltração da derme profunda ou subcutis; células moderadamente pleomórficas, dispostas em grupos, com estroma fibrovascular fino; mastócitos tumorais redondos ou ovóides; a maioria possui citoplasma distinto, com grânulos finos; outros possuem citoplasma indistinto, com grânulos de tamanho grande e hiper cromáticos; núcleos redondos a indentados com cromatina difusa e nucléolos únicos; raras células binucleadas; figuras mitóticas raras (0 a 2 por campo); áreas de edema difuso e necrose.
III – Anaplástico, indiferenciado	Neoplasia altamente celular, com invasão da subcutis e tecidos profundos; mastócitos tumorais redondos, ovóides ou fusiformes, pleomórficos e de tamanho médio, dispostos de modo compacto; citoplasma indistinto com grânulos finos ou pouco óbvios; núcleos vesiculados redondos com um ou mais nucléolos proeminentes; células binucleadas são comuns; muitas células gigantes e multinucleadas dispersas; figuras mitóticas comuns (3 a 6 por campo); edema, hemorragia e necrose comuns.

À semelhança do de Patnaik et al. (1984), o sistema de Bostock (1973) determina 3 graus, mas na ordem inversa, sendo menos intuitivo (Bostock 1973 citado por Sledge et al. 2016). De forma sintética, o grau I de (Patnaik et al. 1984) corresponde a um mastocitoma

bem diferenciado, com mastócitos tumorais de núcleo regular, sem figuras mitóticas e com numerosos grânulos metacromáticos. Já o grau III de Patnaik et al. (1984) é atribuído a um tumor altamente indiferenciado, com núcleos disformes, muitas figuras mitóticas e poucos grânulos citoplasmáticos, sendo o mais agressivo. O grau II de Patnaik et al. (1984) é o intermédio entre estes dois tipos (Zemke et al. 2002).

A principal fraqueza desta classificação é precisamente a predominância de mastocitomas de grau II, cujo valor prognóstico é ambíguo (Kiupel et al. 2011). Segundo o estudo original de Patnaik et al. (1984), doentes com mastocitomas de grau II têm uma probabilidade de sobrevivência até 5 anos de cerca de 50%. Adicionalmente, verificou-se variabilidade inter-observador (Northrup et al. 2005), com uma concordância entre patologistas veterinários de 75% no diagnóstico de grau III e de menos de 64% no diagnóstico de graus I e II (Kiupel et al. 2011). Outra crítica apontada é referente aos critérios de atribuição do grau III, em específico, o número de figuras mitóticas, que, por ser alto (3 a 6 por campo), leva à exclusão de alguns tumores provavelmente agressivos (Kiupel et al. 2011).

Assim, Kiupel et al. (2011) propôs um novo sistema de graduação histopatológica, com o intuito não só de aumentar a concordância inter-observador, como também de prever com maior exatidão tumores de comportamento biológico agressivo (Kiupel and Camus 2019). Deste modo, os mastocitomas cutâneos de canídeos dividem-se em baixo ou alto grau (tabela 3) (Kiupel et al. 2011).

Tabela 3. Classificação histopatológica de mastocitomas em canídeos, segundo Kiupel et al. (2011). Adaptado de Soberano e Nardi (2020)

Característica	Baixo grau	Alto grau *
Figuras mitóticas	Até 6 figuras mitóticas em 10 campos (ampliação de 400x)	7 ou mais figuras mitóticas em 10 campos (ampliação de 400x)
Células multinucleadas	Até 2 células multinucleadas em 10 campos (ampliação de 400x)	3 ou mais células multinucleadas (3 ou mais núcleos) em 10 campos (ampliação de 400x)
Núcleos bizarros (forma irregular, presença de indentações e segmentações)	Até 2 núcleos bizarros em 10 campos (ampliação de 400x)	3 ou mais núcleos bizarros em 10 campos (ampliação de 400x)
Cariomegália (núcleos duas vezes maiores do que o esperado)	Menos de 10% das células neoplásicas	10% ou mais das células neoplásicas

*Apenas um critério é suficiente para classificar como de alto grau; os diferentes parâmetros são avaliados após seleção dos campos com maior atividade mitótica ou maior grau de anisocariose.

De acordo com o estudo inicial, aproximadamente 90% dos mastocitomas são de baixo grau (Kiupel et al. 2011). Quando equiparadas as duas classificações, na mesma coorte de 162 cães portadores de mastocitoma, 13,1% foram classificados grau I, 60,6% grau II e 26,3% grau III de Patnaik et al. (1984). Todos os tumores grau I e grau III foram classificados como de baixo e alto grau de Kiupel et al. (2011), respetivamente. De entre os mastocitomas de grau II, 85,6% eram baixo grau e 14,4% alto grau (Stefanello et al. 2015). Diante destes resultados, depreende-se que o sistema de Kiupel et al. (2011) é capaz de detetar um subgrupo de tumores mais agressivo (Stefanello et al. 2015).

Até hoje, nenhum sistema de gradação histopatológica apresenta 100% de exatidão na previsão de agressividade. Ainda assim, a classificação de Kiupel et al. (2011) é a que possui maior valor prognóstico na previsão de metastização e mortalidade, sendo superior a identificar cães que necessitam de terapêutica adicional após a cirurgia (Stefanello et al. 2015; Kiupel and Camus 2019). A sua concordância entre patologistas veterinários é de 96,8% (Kiupel et al. 2011) e é, atualmente, o método padrão para a determinação do grau histológico (Sledge et al. 2016).

2.3.3 Citologia e histopatologia de linfonodo drenante

A disseminação metastática tem como via inicial mais comum a drenagem linfática do tumor primário (Worley 2014). Nesse sentido, antes da extirpação cirúrgica, a PAAF do linfonodo drenante para avaliação citológica é sempre recomendável. É pertinente recordar que nem sempre o linfonodo mais próximo do tumor primário é aquele que o drena, isto é, o linfonodo regional nem sempre corresponde ao linfonodo sentinela, conforme a figura 2 (Kiupel and Camus 2019).

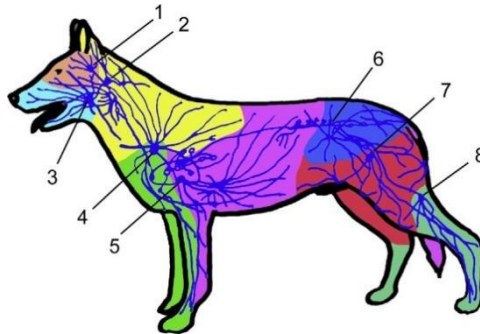


Figura 1. Esquematização da drenagem linfática para determinação do linfonodo sentinela. Retirado de Kiupel e Camus (2019)

Linfonodos: 1 – parotídeo; 2 – submandibular; 3 – retrofaríngeo; 4 – pré-escapular; 5 – axilar; 6 – ilíaco; 7 – inguinal; 8 – poplíteo.

Com efeito, em 42–63% dos cães com mastocitoma cutâneo o linfonodo sentinela é diferente do linfonodo regional (Worley 2014; Ferrari et al. 2020), um dos fatores que permite concluir que a metastização linfática é subestimada (Worley 2014).

Na tabela 4, estão expostos os critérios citológicos de Krick et al. (2009) para determinação de envolvimento metastático.

Tabela 4. Critérios citológicos para determinação de metastização de mastocitoma em linfonodos regionais, adaptado de Krick et al. (2009)

Interpretação	Descrição microscópica
Normal	Não são visíveis mastócitos
Hiperplasia reativa	Mais de 50% de pequenos linfócitos com uma população mista de prolinfócitos, linfoblastos, células plasmáticas e/ou pouco a moderado número de macrófagos, neutrófilos e eosinófilos e/ou raros mastócitos individuais
Metastização possível	Pelo menos uma lâmina apresenta dois a três focos de mastócitos em agregados de duas a três células
Metastização provável	Pelo menos uma lâmina apresenta mais de três focos de mastócitos em agregados de duas a três células e/ou dois a cinco focos de mastócitos em agregados de mais de três células
Metastização certa	Pelo menos uma lâmina apresenta desvanecimento de tecido linfoide por mastócitos e/ou presença de agregados de mastócitos pouco diferenciados com pleomorfismo, anisocitose, anisocariose e/ou granulação diminuída ou variável e/ou mais de cinco focos de mastócitos em agregados de mais de três células

De acordo com os critérios citológicos de Krick et al. (2009) para determinação de envolvimento metastático, os linfonodos classificam-se em 5 categorias: linfonodo normal; linfonodo hiperplásico reativo; metastização possível; metastização provável; e metastização certa. Classificações de metastização possível ou provável são áreas cinzentas, de pouco valor prognóstico. A citologia não diferencia mastócitos neoplásicos de não neoplásicos, baseando-se, essencialmente, no número e na disposição destas células em agregados (Kiupel and Camus 2019).

Para uma melhor caracterização, é necessária a avaliação histopatológica (Kiupel and Camus 2019), seguindo as diretrizes propostas por Weishaar et al. (2014) (tabela 5).

Tabela 5. Sistema de classificação histopatológica para avaliação de metastização linfonodal em mastocitomas de canídeos, adaptado de Weishaar et al. (2014)

Classificação	Crítérios histopatológicos	Interpretação
HN0 *	Nenhum a raros mastócitos (0-3) dispersos e individualizados nos seios linfáticos (subcapsular, paracortical ou medular), por campo (amplificação de 400x); ou não preenche os critérios para outra classificação.	Não metastático
HN1	Mais de 3 mastócitos individualizados nos seios linfáticos (subcapsular, paracortical ou medula), em um mínimo de 4 campos (ampliação de 400x), salvo indicação em contrário.	Pré-metastático
HN2	Agregados de mastócitos (≥ 3 células associadas) nos seios linfáticos (subcapsular, paracortical ou medular) ou camadas sinusoidais de mastócitos.	Metastização inicial
HN3	Rutura ou desvanecimento da arquitetura nodal normal por discretos focos, nódulos, camadas ou massas evidentes de mastócitos.	Metastização evidente

*HN é a sigla para linfonodo (*Histologic Node*)

Weishaar et al. (2014) classifica o linfonodo em HN0 (não metastático), HN1 (pré-metastático), HN2 (metastização inicial) ou HN3 (metastização evidente). Apenas a classificação HN3 constitui um indicador de prognóstico importante (Kiupel and Camus 2019).

A citologia de linfonodos para detecção de metástases de mastocitoma apresentou uma sensibilidade de 68,7-75% (Ku et al. 2017; Fournier et al. 2018). Foi, também, detetada uma discrepância superior a 25% entre as conclusões da citologia e da histopatologia (Ku et al. 2017). Ainda mais preocupante é a constatação de que a proporção de casos clinicamente negativos e histopatologicamente positivos varia entre 10% a 50% (Sabattini et al. 2021).

2.4 Fatores de prognóstico

2.4.1 Localização

Como mencionado anteriormente, o mastocitoma na forma visceral apresenta prognóstico grave (Moirano et al. 2018).

Os mastocitomas cutâneos podem localizar-se em qualquer região corporal, sendo detetados com maior frequência no tronco (50-60%), membros (25-40%) e cabeça e pescoço (10%) (Welle et al. 2008).

Mastocitomas localizados nas áreas inguinal/prepucial, escrotal, perineal, subungueal, focinho e outras junções mucocutâneas têm pior prognóstico (Thamm et al. 2006a; Hillman et al. 2010; Şmiech et al. 2018).

Este pior prognóstico pode estar relacionado com uma resseção cirúrgica incompleta, considerando que a execução da cirurgia e obtenção de margens limpas podem estar dificultadas (Şmiech et al. 2018).

Segundo Hillman et al. (2010), 59% (26/44) dos cães com mastocitomas localizados no focinho, nomeadamente na mucosa oral (mucosa bucal; gengiva; língua; região sublingual), na junção mucocutânea (lábios inferiores; lábios superiores; comissura labial) e na região perioral do focinho (isto é, localizados perto da margem do lábio, mas sem envolvimento do próprio) apresentavam já, à data do diagnóstico, metástases no linfonodo submandibular. O tempo de sobrevivência médio destes doentes foi de 14 meses, valor significativamente menor em comparação com aqueles sem metástases linfonodais.

No cão, o mastocitoma representa 8% dos tumores malignos que afetam os dígitos (Wobeser et al. 2007).

Embora incomum, os mastocitomas podem localizar-se na conjuntiva, sendo o risco de recidiva local baixo e o prognóstico favorável (Fife et al. 2011).

A maioria dos mastocitomas subcutâneos não são agressivos, com taxas de recidiva local de 8% (24/306 cães) e metastização de 4% (13/306 cães) (Thompson et al. 2011).

2.4.2 Aspeto clínico

Os mastocitomas possuem apresentações clínicas variáveis. Em 30% dos casos, tornam-se ulcerados (Nardi et al. 2022), fator este associado a um pior prognóstico (Mullins et al. 2006).

Relativamente à apresentação multicêntrica, a sua influência sobre a sobrevida do doente é alvo de debate (Murphy et al. 2006, Mullins et al. 2006, Kiupel et al. 2005). Com efeito, o cenário de mastocitoma múltiplo é desafiante, havendo casos relatados de mastocitomas múltiplos de baixo grau histopatológico, porém com reconhecido comportamento agressivo, pela metastização já presente no momento do diagnóstico (de Nardi et al. 2022).

2.4.3 Idade

Não há predisposição de idade conhecida para o aparecimento de mastocitoma cutâneo (Kiupel and Camus 2019), variando entre 1 ano e 14 anos, com uma idade média de 7,2 anos (Kiupel et al. 2005), sendo a maioria dos casos diagnosticada entre os 7,5 e os 9 anos de idade (Welle et al. 2008; O'Connell and Thomson 2013).

Um estudo apresenta associação estatística relevante entre a idade e o grau tumoral (Śmiech et al. 2018). O risco de desenvolvimento de mastocitoma de alto grau aumenta com a idade, atingindo o seu valor máximo no grupo de cães com idades compreendidas entre 11-16 anos. Já o risco de desenvolvimento de mastocitoma de baixo grau é maior em cães com 4-6 anos de idade, diminuindo no grupo mais velho, com idade superior a 11 anos (Śmiech et al. 2018). O mesmo se verificou para o sistema de graduação de Patnaik et al. (1984), à exceção de tumores de grau intermédio, os quais não foram associados à idade (Mochizuki et al. 2017).

Nos mastocitomas subcutâneos, o intervalo de idades varia entre 1 ano e 5 meses até 18 anos. A idade média ao diagnóstico foi de 8 anos e 2 meses. A mediana correspondeu a 8 anos (Thompson et al. 2011).

2.4.4 Raça

Segundo o estudo retrospectivo de Śmiech et al. (2019), cuja amostra inclui 550 cães, as raças mais predispostas ao desenvolvimento de mastocitoma são as Shar-Pei, Boxer, American Staffordshire Terrier, Labrador Retriever, Bulldog Francês e Golden Retriever. Resultados semelhantes foram demonstrados por Warland and Dobson (2013). De entre as mesmas, a raça Boxer é a que possui maior risco de desenvolver mastocitomas (Welle et al. 2008; Mochizuki et al. 2017).

No que se refere aos mastocitomas múltiplos, Boxers, Pugs, Weimaraners, Golden Retrievers e Shar-Peis são raças predispostas (Welle et al. 2008).

Quanto à relação entre raça e grau histológico, Śmiech et al. (2019) identificou os Shar-Peis e American Staffordshire Terriers como as raças com maior risco de desenvolver mastocitomas de alto grau. Já os Boxers, Bulldogs franceses, Labrador Retrievers e Golden Retrievers apresentaram maior propensão para tumores de baixo grau (Śmiech et al. 2019).

De facto, raças com relação filogenética ao Bulldog têm predisposição ao aparecimento de mastocitoma e em idade mais jovem (Mochizuki et al. 2017). Porém, esta

predisposição genética não coincide, forçosamente, com o comportamento biológico do mastocitoma, que é, regra geral, mais benigno, comparativamente a outras raças (Mochizuki et al. 2017). No Boxer é particularmente evidente a frequente incidência de mastocitoma de baixo grau (Mochizuki et al. 2017; Śmiech et al. 2019). Não obstante, o Boxer possui um risco aproximadamente 3 vezes mais elevado de desenvolver mastocitomas de alto grau, comparativamente a outras raças (Mochizuki et al. 2017).

Embora surjam em cães de raça cruzada (Fife et al. 2011), os mastocitomas têm maior incidência nas raças acima mencionadas, facto este plausível, pois o cruzamento seletivo acarreta um risco genético acrescido de desenvolvimento de cancro (Mochizuki et al. 2017).

2.4.5 Sexo

A maioria das investigações não revela a existência de predisposição de sexo para o desenvolvimento de mastocitoma (Shoop et al. 2015; Kiupel and Camus 2019). No trabalho de Śmiech et al. (2019), nenhuma das seis raças estudadas – Shar-Pei, Boxer, American Staffordshire Terrier, Labrador Retriever, Bulldog Francês e Golden Retriever – apresentou predisposição de género.

Num estudo que analisou 9375 diagnósticos definitivos de mastocitoma cutâneo, verificou-se que é ligeiramente mais provável que mastocitomas em cães machos sejam de alto grau, comparativamente em fêmeas. Quando avaliado o estado reprodutivo, esta tendência manteve-se e aferiu-se, ainda, que machos inteiros têm maior risco de possuir mastocitomas de alto grau (Mochizuki et al. 2017).

Quando submetidos a quimioterapia, os machos apresentam um menor tempo de sobrevivência, comparativamente às fêmeas (Gerritsen et al. 1998).

No caso específico da raça Vizsla, tanto machos como fêmeas esterilizados possuem um risco 2 a mais de 4 vezes maior de desenvolver mastocitoma e em idade mais jovem, comparativamente a animais inteiros (Zink et al. 2014).

Outro estudo indica que fêmeas esterilizadas têm maior risco de desenvolver mastocitomas cutâneos múltiplos (Mullins et al. 2006).

Considerando que não foram encontrados recetores de estrogénio em mastocitomas (Larsen e Grier 1982 citados por Smith 2014) e a disparidade de resultados entre estudos, é requerida mais investigação acerca do eventual papel das hormonas sexuais no aparecimento e na malignidade do mastocitoma em cães (Mochizuki et al. 2017). Como notado por Belanger et al. (2017), um maior risco de mastocitoma associado à esterilização pode apenas refletir a

correlação entre o avançar da idade e a maior prevalência de cancro, em virtude da maior longevidade de animais castrados.

2.4.6 Velocidade de crescimento e dimensão

Historicamente, a velocidade de crescimento é considerada um fator de prognóstico, na medida em que um tumor presente por um longo período, sem alterações significativas, possui melhor prognóstico (Bostock 1973).

A dimensão do mastocitoma é também um fator relevante. Tumores com mais de 3 cm de diâmetro estão associados a um pior prognóstico (Pizzoni et al. 2018).

2.4.7 Grau histológico

O grau histológico continua a ser o fator de prognóstico mais importante (Şmiech et al. 2018). O tempo médio de sobrevivência para doentes com mastocitoma de baixo grau é superior a 2 anos. Em cães com mastocitoma de alto grau, esse valor reduz-se a menos de 4 meses (Kiupel et al. 2011).

Mastocitomas de alto grau de Kiupel et al. (2011) possuem uma associação significativa com risco acrescido e mais rápido de recidiva e de metastização e, conseqüentemente, aumento de mortalidade.

Seguindo a abordagem histológica de Patnaik et al. (1984), cães com mastocitomas de grau I, II e III apresentam taxas de sobrevivência até aos 1500 dias (~ 4 anos) de 93%, 44% e 6%, respetivamente (Patnaik et al. 1984). Outro estudo aponta 278 dias (~ 9 meses) como o tempo de sobrevivência médio de portadores de mastocitoma indiferenciado submetidos a cirurgia (tempo de *follow-up* médio de 557 dias) (Murphy et al. 2004). Em doentes com tumor de grau III é 50 vezes mais provável a morte associada ao mastocitoma, comparativamente àqueles com grau I (Mochizuki et al. 2017).

Ainda assim, uma pequena percentagem de mastocitomas de baixo grau apresenta um comportamento biológico agressivo, não detetável por nenhuma das duas classificações histológicas (Moirano et al. 2018). Por outras palavras, mastocitomas de baixo grau podem, ocasionalmente, apresentar metástases nos linfonodos ou à distância, aquando da instituição do tratamento (Bae et al. 2020).

No que respeita aos mastocitomas múltiplos, não há uma associação significativa com o grau histológico (Murphy et al. 2006; Kiupel et al. 2011) e a maioria dos estudos não aponta para um pior prognóstico (Mullins et al. 2006; Murphy et al. 2006). Diferentemente, dois

estudos sugerem menor tempo de sobrevivência no caso de mastocitoma múltiplo, relativamente a mastocitoma solitário (Kiupel et al. 2005; Preziosi et al. 2007).

2.4.8 Metastização

O trabalho de Murphy et al. (2004) indica que 1% dos mastocitomas bem diferenciados, 6% dos mastocitomas intermédios e 19% dos mastocitomas indiferenciados sofre recidiva local.

Na espécie canina, estima-se que menos de 10% dos mastocitomas bem diferenciados possam tornar-se agressivos, metastizando para os linfonodos e vísceras, ou sofrendo disseminação cutânea. Já 5-22% dos mastocitomas moderadamente diferenciados tem potencial de metastizar (de Nardi et al. 2022)

A meta-análise de Bae et al. (2020) revela que cães com mastocitomas de baixo grau com metastização à distância possuem um tempo de sobrevivência menor (mediana de 194 dias), comparativamente àqueles com o mesmo grau histológico e metastização linfonodal (mediana de 637 dias). Nestes últimos, a linfadenectomia é benéfica, pois prolonga o tempo de sobrevida dos doentes de 247 dias para 637 dias (Bae et al. 2020).

Nos casos de mastocitomas indiferenciados, 55% a 95% sofre metastização (de Nardi et al. 2022).

2.4.9 Marcadores imunohistoquímicos e histoquímicos

Cada marcador descreve diferentes aspetos da proliferação celular (Kiupel and Camus 2019). A proteína Ki-67 é um marcador da fração de crescimento, situada no núcleo das células, que só está presente nas células ativas no ciclo, não existindo nas células em repouso (Kiupel and Camus 2019). Scase et al. (2006) já comprovava que níveis mais elevados de Ki-67 são preditivos de menor tempo de sobrevida. Segundo Webster et al. (2007), as contagens de Ki-67 apresentam correlação positiva com as taxas de incidência e de recidivas local e distante, bem como de mortalidade.

As regiões organizadoras nucleolares argirófilas (AgNOR – *ArGyrophilic Nucleolar Organizer Regions*) são os locais de transcrição de ácido ribonucleico ribossomal (rRNA – *Ribosomal RiboNucleic Acid*) que, pela estreita relação com proteínas nucleares, são identificáveis em cortes histológicos com uma coloração à base de prata (Bostock et al. 1989). Quanto maior o número e menor o tamanho de AgNOR, maior é o aumento na velocidade de progressão do ciclo. Logo, as AgNOR são um marcador de taxa de proliferação (Kiupel and

Camus 2019). Contagens elevadas de AgNOR têm uma associação significativa com o aumento de recidivas e mortalidade (Scase et al. 2006; Webster et al. 2007).

A avaliação combinada de Ki-67 com AgNOR (índice Ag67) é a abordagem mais precisa para interpretar a taxa de proliferação e é um indicador de prognóstico importante nos mastocitomas cutâneos caninos, conseguindo prever um comportamento biológico agressivo (Webster et al. 2007; Sledge et al. 2016).

Ao contrário da Ki-67 e das AgNOR, a contagem mitótica não necessita de colorações especiais para marcação, sendo suficiente o recurso a hematoxilina-eosina (Sledge et al. 2016). No entanto, a contagem mitótica não reflete completamente a fração de crescimento, pois apenas deteta as células na fase M do ciclo celular (Kiupel and Camus 2019). Assim, pode conduzir a uma subestimação do total da fração (Sledge et al. 2016).

Uma contagem mitótica alta é indicativa de prognóstico desfavorável (Kiupel et al. 2011). De acordo com Kiupel et al. (2011), 30% dos mastocitomas de alto grau possuem uma contagem mitótica baixa, pelo que, por si só, não é um indicador de prognóstico (Kiupel and Camus 2019).

2.4.9.1 Padrão de marcação do c-kit

O c-kit é formado por vários domínios, codificados por um total de 21 exões: 1 domínio extracelular, para a conexão com o ligante, composto por 5 alças semelhantes a imunoglobulinas (*immunoglobulin-like loops*) (exões 1-9); 1 domínio transmembranar (exão 10); 1 domínio justamembranar (exão 11); e 1 domínio tirosina quinase intracelular (exões 12-21) (Webster et al. 2006; Brocks et al. 2020).

O domínio justamembranar é considerado de regulação negativa (Webster et al. 2006), na medida em que, quando o recetor está inativo, ocorre um contacto inibitório com o domínio quinase (Brocks et al. 2020). As mutações mais prevalentes situam-se, precisamente, no exão 11 e são ITDs ou deleções (Webster et al. 2006).

As mutações ITD no exão 11 estão associadas a graus histológicos e índices proliferativos mais elevados (Zemke et al. 2002; Webster et al. 2007), aumentando a recidiva e morte por mastocitoma (Webster et al. 2006). Em contrapartida, ITDs no exão 8 estão associadas a um grau histológico e um índice proliferativo mais baixos e a um maior tempo de sobrevida. Embora as mutações c-kit não sejam um fator independente de prognóstico, a análise do estado mutacional do exão 8 pode vir a ser recomendada como um teste prognóstico suplementar (Brocks et al. 2020).

Anos antes de propor o sistema de classificação histológica de dois graus, Kiupel et al. (2004) procurou identificar molecularmente alterações na expressão do c-kit associadas a mastocitomas moderadamente diferenciados, como nova ferramenta de prognóstico. Deste modo, três tipos de padrão de marcação imunohistoquímica do c-kit foram estabelecidos.

O padrão de marcação do c-kit tipo I equivale à presença da proteína kit na região perimembranar, como acontece em mastócitos não neoplásicos, isto é, inflamatórios (Webster et al. 2006). É o padrão encontrado em mastocitomas bem diferenciados e não está associado a comportamento biológico agressivo (Kiupel et al. 2004).

Já no padrão tipo II, a proteína kit possui localização citoplasmática, com distribuição pontilhada ou focal, acompanhada, com frequência, por um decréscimo na localização perimembranar (Webster et al. 2006).

Por último, o padrão tipo III corresponde a uma localização citoplasmática difusa. Ambos os padrões tipo II e III refletem, assim, uma localização aberrante (Webster et al. 2006), associada a um prognóstico negativo, com um aumento da taxa de recidiva local e uma diminuição do tempo de sobrevivência (Kiupel et al. 2004). 77.8% (7/9) dos mastocitomas com mutações ITD detêm um destes dois padrões atípicos (Webster et al. 2006). Por outro lado, a presença de padrão tipo II ou III não implica a existência de mutações ativadoras no c-kit (Webster et al. 2006).

O recurso à classificação de baixo ou alto grau de Kiupel, com a avaliação combinada de Ki-67 com AgNOR, juntamente com a identificação do padrão de marcação do c-kit e possíveis mutações nos exões 8 e 11 constituem a melhor estratégia para a obtenção de um prognóstico detalhado (Kiupel and Camus 2019).

2.5 Tratamento

2.5.1 Cirurgia

A cirurgia tem por objetivo a remoção completa do mastocitoma, a fim de minimizar a recidiva local (Selmic and Ruple 2020) e conferir vantagem no tempo de sobrevivência dos doentes (Bae et al. 2020). Aquando da mesma, o grau histológico é desconhecido, pois uma biópsia incisional prévia acarreta o risco de desgranulação (Selmic and Ruple 2020). Assim, a biópsia excisional permite a posterior avaliação histológica, designadamente das margens cirúrgicas (Kiupel and Camus 2019), classificadas como limpas, estreitas ou comprometidas (Horta et al. 2018).

Obedecendo à abordagem métrica de Simpson et al. (2004), para a completa excisão de mastocitomas caninos cutâneos, o cirurgião deve remover 2 cm de margens laterais em

mastocitomas de grau I e II de Patnaik et al. (1984). Como margens profundas, é necessária a remoção de um plano de fáscia na continuidade com o tumor, mas sem envolvimento no mesmo, ainda que tal implique uma camada muscular.

Outra abordagem cirúrgica consiste na obtenção de margens laterais proporcionais ao diâmetro maior da neoplasia. Este método alcançou margens limpas em 85% dos tumores, sendo pouco útil no caso de tumores de grande dimensão (Pratschke et al. 2013). O conceito de margens profundas é igual em ambas as propostas, com a resseção de 1 plano de fáscia (Simpson et al. 2004; Pratschke et al. 2013). A profundidade do tumor não é um fator de prognóstico em mastocitomas caninos cutâneos (Kiupel et al. 2005).

Apesar da classificação atribuída, o sucesso da extirpação cirúrgica parece correlacionar-se mais com os índices proliferativos do que com as margens cirúrgicas limpas (Sledge et al. 2016).

2.5.2 Radioterapia

A radioterapia é útil no caso de mastocitomas de grau II de Patnaik et al. (1984) cuja excisão seja incompleta (Poirier et al. 2006). Utilizando uma dose total de radiação de 48 Gray (Gy), dividida em 15 frações diárias de 3,2 Gy, durante 19 dias (radioterapia em dias úteis), é possível controlar localmente a progressão tumoral. Com este protocolo, a taxa de recidiva local é de 6,7% (3/45) (Poirier et al. 2006).

2.5.3 Quimioterapia

Como terapêutica adjuvante sistêmica, recorre-se à administração de agentes únicos ou de quimioterapia combinada, a fim de prolongar o tempo de sobrevivência do doente cujo mastocitoma é de alto risco – mastocitomas de grau III de Patnaik et al. (1984), alto grau de Kiupel et al. (2011), recidivantes, de estadió clínico II ou superior, com índice mitótico alto e/ou localização agressiva (Serra Varela et al. 2016; Horta et al. 2017). Os protocolos mais utilizados encontram-se resumidos na tabela 6.

Tabela 6. Protocolos quimioterápicos mais utilizados, adaptado de Soberano e Nardi (2020)

Protocolo 1 – Vimblastina + Prednisolona
Vimblastina: 2 mg/m ² IV, q1 semana, 5 sessões; em seguida, 2 mg/m ² IV, q15 dias, 3-4 sessões; Prednisolona: 1 mg/kg PO, SID, durante 15 dias; depois 0,5 mg/kg PO, SID, durante 10 semanas.
Protocolo 2 – Lomustina + Vimblastina + Prednisolona
Lomustina: 60-90 mg/m ² PO, q3 semanas, até completar 3 sessões; Vimblastina: 2 mg/m ² IV, q1 semana, até completar 2 sessões; Prednisolona: 1 mg/kg PO, SID, durante 15 dias; depois 0,5 mg/kg PO, SID, durante 10 semanas.
Protocolo 3 – Lomustina + Prednisolona
Lomustina: 60-90 mg/m ² PO, q3 semanas, 4 sessões; Prednisolona: 1 mg/kg PO, SID, durante 15 dias; depois 0,5 mg/kg PO, SID, durante 10 semanas.
Protocolo 4 – Clorambucilo + Prednisolona
Clorambucilo – Pulsado: 15-20 mg/m ² PO, SID durante 4 dias, q3 semanas; Clorambucilo – Contínuo: 4-6 mg/m ² PO, q48 horas; Se remissão completa, descontinuar após 6 meses; Em qualquer outro caso administrar continuamente. Prednisolona: 1 mg/kg PO, SID, durante 15 dias; depois 0,5 mg/kg PO, SID, durante 10 semanas.

Cão – Área de superfície corporal (m²) = 0,101 × (peso corporal em kg)^{2/3}

A associação de vimblastina e prednisolona é o protocolo de eleição para a maioria dos mastocitomas em cães (Soberano e Nardi 2020), sendo bem tolerada – 26% (16/61) apresenta efeitos adversos ligeiros após a primeira sessão e apenas 6,5% (4/61) neutropenia grave (Thamm et al. 2006).

Perante a progressão da doença na fase inicial do protocolo habitual de vimblastina e prednisolona, a lomustina (CCNU – *CyclohexylChloroethylNitrosUrea*) surge como terapêutica de resgate (Hayes et al. 2007). A taxa de resposta global ao protocolo de CCNU e vimblastina é mais elevada do que a obtida com o uso de CCNU como agente único – 57% (21/37), e 42% (8/19), respetivamente. A taxa de remissão completa foi, também, superior – 24% (9/37) versus 5% (1/19) (Rassnick et al. 1999; Cooper et al. 2009).

A equipa de Taylor et al. (2009) avaliou a eficácia do protocolo contínuo de clorambucilo e prednisolona como quimioterapia primária. 14% (3/21) entrou em remissão completa e 24% (5/21) apresentou uma resposta parcial, perfazendo uma taxa de resposta

global de 38% (9/21). O tempo de sobrevivência médio foi de 140 dias. Não foi relatada toxicidade, aspecto este característico da quimioterapia metronômica (Mutsaers and Biller 2020).

Para mastocitomas de alto risco, a associação sequencial de lomustina com clorambucilo durante 8 semanas melhorou o intervalo livre de doença, comparativamente à lomustina como agente único – 686 dias e 107 dias, respetivamente (Horta et al. 2017). Relativamente à associação sequencial de vimblastina com clorambucilo, esta não se mostrou mais vantajosa para mastocitomas de risco intermédio (Horta et al. 2017).

A prednisolona pode também ser administrada como terapêutica neoadjuvante, isto é, antes da cirurgia, com o intuito de diminuir o tamanho da neoplasia (citoredução) e facilitar a sua remoção (Hayes et al. 2007). Pode ainda, ser o único agente utilizado (Murphy et al. 2004). Contudo, a taxa de resposta global é fraca (20%) (McCaw et al. 1994 citado por Taylor et al. 2009), pelo que nenhum estudo possui um grupo de controlo a receber somente prednisolona, cuja eficácia se prende mais com as propriedades anti-inflamatórias do que a ação anti tumoral (Taylor et al. 2009).

A comparação entre estudos é complexa, pois a dosagem e esquema terapêuticos diferem, bem como o tamanho da amostra.

2.5.4 Inibidores de recetores tirosina quinase

Os inibidores dos recetores tirosina quinase (TKI – *Tyrosine Kinase Inhibitors*) incluem o fosfato de toceranib (Palladia) e mesilato de masitinib (Masivet), licenciados para uso em medicina veterinária (Arendt et al. 2015). O recurso aos mesmos é indicado perante um PCR positivo para mutação do c-kit ou um padrão de marcação tipo 2 ou 3 (London et al. 2009).

O ensaio clínico multicêntrico, randomizado, controlado por placebo, duplo cego, de London et al. (2009), comprovou a eficácia do protocolo contínuo de toceranib (3,25 mg/kg, PO, q48h) em cães com mastocitomas de grau II ou III de Patnaik et al. (1984), recidivantes ou metastáticos. A taxa de resposta geral (ORR – *Overall Response Rate*) foi de 42,8% (62/145), com 21 respostas completas e 41 respostas parciais. O tempo médio até à progressão tumoral foi de 18 semanas. O recurso a este fármaco permitiu, ainda, a estabilização da doença em 16 cães (London et al. 2009).

O protocolo combinado de vimblastina, toceranib e prednisolona (tabela 7) é indicado como terapêutica adjuvante (Olsen et al. 2018).

Tabela 7. Protocolo combinado de vimblastina, toceranib e prednisolona, segundo Olsen et al. (2018)

Protocolo – Vimblastina + Toceranib + Prednisolona
Vimblastina: 1,6 mg/m ² IV, q15 dias, 8 sessões (16 semanas);
Toceranib: 2,5 mg/kg PO, q48h, até 12 meses, salvo remissão completa;
Prednisolona: 1 mg/kg PO, SID, durante 15 dias; depois 0,5 mg/kg PO, SID, durante 10 semanas. Administração até 12 meses, salvo remissão completa.

3 Relação entre doença cutânea e mastocitoma

Segundo a literatura científica em canídeos, é possível diferenciar entre pele saudável e um mastocitoma cutâneo, atendendo ao perfil microbiano da epiderme e derme (Zamarian et al. 2020).

No estudo conduzido por Zamarian et al. (2020), aquando da excisão cirúrgica de mastocitomas, procedeu-se à colheita de amostras de microbiota da epiderme por zaragatoa estéril, previamente à desinfeção do campo cirúrgico. A esta etapa seguiu-se a extração e sequenciação de ácido desoxirribonucleico (ADN).

Zamarian et al. (2020) concluiu que, nas áreas sem pêlo do tumor, existe perda de heterogeneidade microbiana, acompanhada de um aumento estatisticamente significativo da filo *Firmicutes* e da família *Corynebacteriaceae*, comparativamente aos resultados obtidos no local contralateral saudável. Um perfil taxonómico semelhante já teria sido descrito na dermatite atópica (DA) canina, apontando para o papel de uma barreira cutânea comprometida e da resposta imunitária local nas alterações da microbiota (Bradley et al. 2016; Zamarian et al. 2020).

Na segunda parte do estudo, a equipa focou-se na análise de biópsias de derme, efetuadas por *punch* ao centro do mastocitoma, após a sua extirpação. Apesar de não terem sido retiradas conclusões ao nível da derme, foi detetado ADN bacteriano nesta última – informação pertinente para investigações futuras (Zamarian et al. 2020).

Assim, depreende-se que o aparecimento de mastocitoma provoca mudanças na composição microbiana da epiderme (Zamarian et al. 2020).

Sob outra perspetiva, um estudo realizado em ratos de laboratório comprovou que a microbiota da pele influi sobre a maturação dos mastócitos da derme. Para confirmar este facto, os autores injetaram ácido lipoteicoico (LTA – *LipoTeichoic Acid*) na pele de ratos livres de germes patogénicos específicos, o que estimulou a produção de SCF nos queratinócitos,

levando, assim, à diferenciação dos mastócitos. Curiosamente, murinos totalmente livres de microbiota apenas possuem mastócitos imaturos na derme (Wang et al. 2017).

Parte III. Trabalho experimental

4 Objetivos

O presente estudo retrospectivo foi desenvolvido na amostra de 33 (N=33) animais da espécie *Canis familiaris* diagnosticados com mastocitoma e teve como principais objetivos:

- Caracterizar a amostra em estudo – canídeos com diagnóstico definitivo de mastocitoma para os parâmetros de sexo, estado reprodutivo, idade, raça, história clínica oncológica e história clínica dermatológica;
- Caracterizar os mastocitomas em função da sua localização, classificação histopatológica, padrão de marcação imunohistoquímica e eventual metastização;
- Caracterizar a população em estudo quanto ao manejo terapêutico, recidiva e tempo de sobrevida;
- Avaliar a relação entre a história clínica oncológica prévia e o grau histológico do mastocitoma;
- Avaliar a relação entre a história clínica dermatológica prévia e a ocorrência de mastocitoma, através da comparação de um grupo de animais com história dermatológica prévia com um grupo de animais sem história dermatológica prévia;
- Verificar o efeito da presença de doença dermatológica prévia no prognóstico de doentes com mastocitoma, estudando a sua possível correlação com o grau histológico, a metastização e a sobrevida.
- Investigar a eventual existência na amostra de um subgrupo de doentes com mastocitoma com doença dermatológica por diagnosticar a partir dos resultados do inquérito ao tutor do animal, avaliando eventuais relações com o grau histológico do mastocitoma.

5 Materiais e métodos

5.1 Amostragem e desenho experimental

Para a colheita de dados considerou-se um período de 5 anos transcorrido entre 2015 até 2020. Foram obtidos, a partir do sistema informático das clínicas veterinárias do grupo

Elsa Pereira, dados retrospectivos referentes a casuística de mastocitoma canino desde 2015 até 2020. Foram também englobados os dados referentes a casos clínicos acompanhados presencialmente pela autora entre outubro de 2019 e março de 2020.

Os dados recolhidos pertencem quer a animais avaliados em consulta nas clínicas acima mencionadas, quer a animais referenciados para as mesmas, a fim de serem submetidos a exérese cirúrgica da neoplasia. Invariavelmente, estabeleceu-se como critério de inclusão no estudo a existência de relatório histopatológico como prova de diagnóstico definitivo de mastocitoma.

Procedeu-se ao levantamento da ficha clínica de cada doente, colhendo os dados referentes aos seguintes itens: género; idade; raça; estado reprodutivo; historial oncológico e dermatológico (ex: referências a otites crónicas, alergias e respetivo tratamento médico); localização do tumor primário; recurso a meios de diagnóstico (ex: citologia tumoral, citologia de linfonodo regional) e de estadiamento (ecografia abdominal e citologia de baço e/ou fígado); análises laboratoriais.

Em todos os casos clínicos diretamente acompanhados pela autora foi avaliado o comprometimento sistémico da doença, através de ecografia abdominal e eventual PAF ecoguiada de baço e/ou fígado.

A fim de aprimorar a investigação de história dermatológica, foi desenvolvido em simultâneo um inquérito ao tutor do animal (anexo 1). O questionário foi dividido em duas partes distintas. A primeira, correspondente às perguntas do grupo 1 e 2, procurou identificar eventuais doenças dermatológicas diagnosticadas anteriormente ao quadro oncológico de mastocitoma e a caracterização do quadro clínico do doente nessa mesma fase. Já o grupo 3 teve como propósito inquirir sobre a possível existência de doença cutânea por diagnosticar, englobando as seguintes 5 questões acerca de sinais clínicos sugestivos: «... o seu animal lambia-se com frequência?», «... o seu animal coçava-se com frequência?», «... o seu animal esfregava-se no chão, tapetes da casa ou outras superfícies?», «... o seu animal apresentava zonas de vermelhidão na pele?» e «... o seu animal sofria de otites recorrentes?».

Todos os inquéritos foram preenchidos presencialmente em consulta com o tutor, por e-mail ou por contacto telefónico.

5.2 Tratamento estatístico

Os dados recolhidos foram registados no software Microsoft Excel e analisados com recurso ao software IBM SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) Statistics 27, a partir do qual se realizou a estatística descritiva e inferencial. A caracterização da população

em estudo quanto ao gênero, idade ao diagnóstico, raça e história clínica foi efetuada com base na distribuição de frequência. O nível de significância utilizado no estudo foi de 5% ($P < 0.05$). Utilizaram-se o teste de qui-quadrado de Pearson e subsequente teste exato de Fisher para o estudo da relação entre a história clínica oncológica e o grau histológico do mastocitoma, o teste *t* para amostras independentes para avaliar a relação entre a história clínica dermatológica e a idade ao diagnóstico de mastocitoma e os testes de Pearson e o teste exato de Fisher para a relação entre a história clínica dermatológica e as múltiplas variáveis categóricas consideradas.

6 Resultados

6.1 Caracterização da amostra

A estatística descritiva que permitiu caracterizar a amostra quanto aos diferentes parâmetros considerados é apresentada na tabela 8 e na figura 3.

Tabela 8. Estatística descritiva da amostra em estudo.

Parâmetro		N	%	Média	SD	Mín	Máx
Sexo	Total Amostra	33	100	-	-	-	-
	Fêmeas	15	45	-	-	-	-
	Machos	18	55	-	-	-	-
Estado reprodutivo: esterilizado	Total Amostra	10	100	-	-	-	-
	Fêmeas	10	67	-	-	-	-
	Machos	0	0	-	-	-	-
Idade	Total Amostra	33	100	7,98	2,77	0,25	13
	Fêmeas	15	45	7,80	1,74	5	11
	Machos	18	55	8,13	3,45	0,25	13
Raça	Total Amostra	33	100	-	-	-	-
	Indeterminada	9	27,3	-	-	-	-
	Bulldog Francês	5	15,2	-	-	-	-
	Boxer	4	12,1	-	-	-	-
	Labrador Retriever	4	12,1	-	-	-	-
	Golden Retriever	3	9,1	-	-	-	-
	Caniche	2	6,1	-	-	-	-
	Beagle	1	3,0	-	-	-	-
	Cane Corso	1	3,0	-	-	-	-
	Epagneul Breton	1	3,0	-	-	-	-
	Pug	1	3,0	-	-	-	-
	Serra da Estrela	1	3,0	-	-	-	-
Teckel	1	3,0	-	-	-	-	
História clínica oncológica prévia	Total Amostra	33	100	-	-	-	-
	Sem história oncológica	26	78,8	-	-	-	-
	Lipoma	3	9,1	-	-	-	-
	Carcinoma mamário	1	3,0	-	-	-	-
	Melanoma, melanocitoma, fibropapiloma, tumor das células intersticiais e sertolinoma	1	3,0	-	-	-	-
	Seminoma difuso e fibropapiloma	1	3,0	-	-	-	-
	Adenoma quístico do tecido	1	3,0	-	-	-	-
História clínica dermatológica prévia	Total Amostra	33	100	-	-	-	-
	Sem história dermatológica	17	51,5	-	-	-	-
	Dermatite atópica (DA)	4	12,1	-	-	-	-
	Otite crónica	4	12,1	-	-	-	-
	Leishmaniose cutânea	2	6,1	-	-	-	-
	DA + Otite crónica	1	3,0	-	-	-	-
	DA + Otite por malassezia	1	3,0	-	-	-	-
	Otite por malassezia + Granulomas por lambadura	1	3,0	-	-	-	-
	Dermatites recorrentes	1	3,0	-	-	-	-
	Alergias	1	3,0	-	-	-	-
	Alergia à picada de pulga + Alergia alimentar + Otite crónica	1	3,0	-	-	-	-

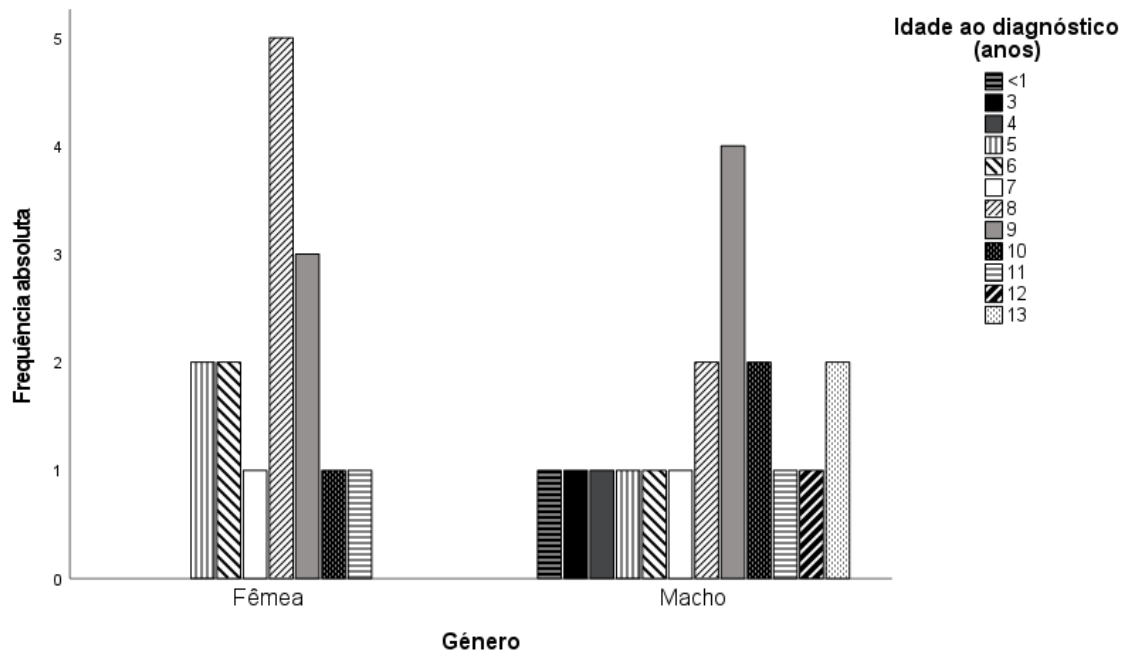


Figura 2. Gráfico de barras ilustrativo da idade ao diagnóstico (anos) consoante o género.

Com o teste de qui-quadrado não se verificou associação entre a idade ao diagnóstico e o género ($p>0,05$).

6.2 Caracterização dos tumores

6.2.1 Localização

A localização mais comum dos mastocitomas cutâneos diagnosticados foi nos membros (11/33, 33,3%). A segunda localização mais frequente foi no abdómen (5/33, 15,2%), seguida da mama (3/33, 9,1%) e da região lombar (3/33, 9,1%). Importa realçar que apenas 9,1% (3/33) dos casos em estudo corresponderam a mastocitoma primário múltiplo (tabela 9).

Tabela 9. Caracterização clínica dos tumores em estudo segundo a localização.

Localização	Frequência	Percentagem (%)
Membro	11	33,3
Abdómen	5	15,2
Mama	3	9,1
Lombar	3	9,1
Múltiplo	3	9,1
Peitoral	2	6,1
Períneo	2	6,1
Cervical dorsal	1	3,0
Orelha	1	3,0
Paracostal	1	3,0
Tórax	1	3,0
Total	33	100

Verificou-se ainda como localização primária a região peitoral (2/33, 6,1%), o períneo (2/33, 6,1%), a cervical dorsal (1/33, 3,0%), a orelha (1/33, 3,0%), a região paracostal (1/33, 3,0%) e o tórax (1/33, 3,0%).

6.2.2 Grau histológico

No que respeita a classificação histopatológica, 69,7% (23/33) dos mastocitomas primários eram de baixo grau de Kiupel, enquanto uma minoria de 27,3% (9/33) foi classificada como sendo de alto grau de Kiupel (Figura 4). Das 33 amostras, 1 (3,0%) foi classificada exclusivamente através do sistema de Patnaik como mastocitoma intermédio (grau II).

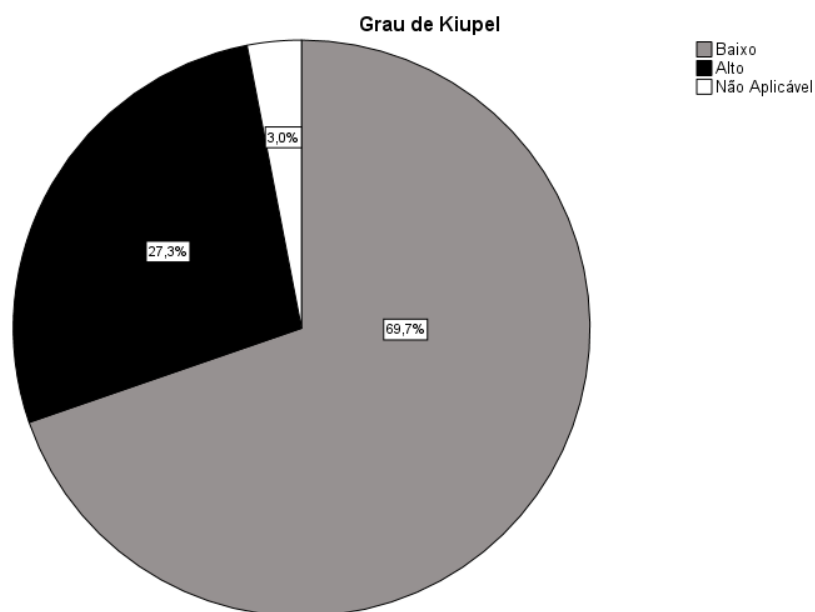


Figura 3. Caracterização dos tumores em estudo segundo a classificação histopatológica de Kiupel.

Todos os mastocitomas de alto grau de Kiupel eram cutâneos (9/9), à semelhança do mastocitoma de grau II de Patnaik (1/1). Importa referir que os nódulos subcutâneos presentes na amostra (12,1%; 4/33) foram considerados como se de mastocitomas de baixo grau de Kiupel se tratassem, representando 17,4% dessa classificação (4/23). Relativamente à relação entre o grau histológico do mastocitoma e a raça do canídeo, os resultados são apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da raça do canídeo.

Raça	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Indeterminada	6	2	8
Bulldog Francês	4	1	5
Boxer	3	1	4
Labrador Retriever	2	2	4
Golden Retriever	3*	0	3
Caniche	0	2	2
Beagle	1	0	1
Cane Corso	0	1	1
Epagneul Breton	1	0	1
Pug	1	0	1
Serra da Estrela	1*	0	1
Teckel	1*	0	1
Total	9	23	32

Nota: O mastocitoma de grau II de Patnaik foi diagnosticado num canídeo de raça indeterminada.

* Em mastocitoma múltiplo, foi utilizado o nódulo de grau mais elevado.

6.2.3 Padrão de marcação imunohistoquímica e índice proliferativo

Dos 33 casos clínicos em estudo, 27 (81,8%) apresentavam na sua história clínica requisição de análise imunohistoquímica. Os resultados quanto ao padrão de marcação e índice proliferativo encontram-se resumidos nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11. Distribuição do padrão de marcação imunohistoquímica em função do grau histopatológico de Kiupel.

Padrão de marcação	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
1	13	0	13
2	7	2	9
3	2*	3	4
Total	22	5	27

* Em mastocitoma múltiplo, foi utilizado o padrão de marcação imunohistoquímica mais elevado.

Tabela 12. Distribuição do índice proliferativo em função do grau histopatológico de Kiupel.

Índice proliferativo	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Muito Baixo	2	0	2
Baixo	3	0	3
Baixo a Médio	2	0	2
Médio	1	2	3
Médio a Alto	2	1	3
Alto	1	2	3
Não aplicável	11	0	11
Total	22	5	27

6.2.4 Metastização

Dos 33 casos clínicos em estudo, 66,7% (22/33) não sofreu metastização. Cerca de 21,2% (7/33) não apresentava informação acerca do seguimento do caso clínico. No universo de mastocitomas com metastização (4/33, 12,1%), 50% eram de baixo grau de Kiupel (2/4) e 50% eram de alto grau de Kiupel (2/4) (tabela 13).

Tabela 13. Distribuição da metastização em função do grau histológico de Kiupel.

Metastização	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Sim	2	2	4
Não	17	4	21
Sem seguimento	4	3	7
Total	23	9	32

Nota: O mastocitoma de grau II de Patnaik diagnosticado não sofreu metastização.

Nos casos com ocorrência de metastização, 75,0% (3/4) apresentava exclusivamente metástases no linfonodo regional. Apenas 25,0% (1/4) apresentou metastização linfonodal e visceral concomitantes (tabela 14).

Tabela 14. Localização da metastização na população em estudo.

Metastização	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Linfonodal	2	1	3
Linfonodal e visceral	0	1	1
Total	2	2	4

6.3 Tratamento

Todos os doentes (33/33, 100%) foram submetidos a cirurgia para remoção do tumor primário, visto que a premissa para participação no presente estudo acarretava o diagnóstico por análise histopatológica de mastocitoma. Em 39,4% (13/33) dos casos, a abordagem cirúrgica foi o tratamento de eleição, sem recurso a quimioterapia (tabela 15).

Tabela 15. Tratamento realizado na população em estudo.

Tratamento	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Cirurgia	10	3	13
Cirurgia e quimioterapia*	13	6	19
Total	23	9	32

Nota: O doente com mastocitoma de grau II de Patnaik foi sujeito a cirurgia e quimioterapia.

*Por quimioterapia entenda-se o protocolo de associação de vimblastina e prednisolona.

Como terapêutica adjuvante, 60,6% (20/33) dos canídeos realizaram quimioterapia após a excisão cirúrgica, através do protocolo de associação de vimblastina e prednisolona.

6.3.1 Recidiva

Verificou-se a recidiva de mastocitoma em 18,2% (6/33) dos casos clínicos. A localização anatómica da recidiva encontra-se resumida na tabela 16.

Tabela 16. Localização de recidiva na população em estudo.

Localização	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Axila	0	1	1
Lombar	0	1	1
Membro	0	1	1
Múltipla	1	0	1
Pescoço	0	1	1
Sem seguimento	1	0	1
Total	2	4	6

6.3.2 Tempo de sobrevida

Na tabela 17, é apresentado o tempo de sobrevida aos 12 meses e 24 meses em função do grau histológico.

Tabela 17. Distribuição do tempo de sobrevida aos 12 e 24 meses em função do grau histológico de Kiupel.

		Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Sobrevida	Vivo	21	7	28
	12 meses	Morto	0	0
Sobrevida	Vivo	21	5	26
	24 meses	Morto	2	2
Sem seguimento		2	2	

Nota: O doente com mastocitoma de grau II de Patnaik apresentou sobrevida aos 24 meses.

A taxa de sobrevida aos 12 meses foi de 87,9% (29/33), com 12,1% (4/33) dos doentes sem informação de seguimento. Já a taxa de sobrevida aos 24 meses foi de 81,8% (27/33). Aos 24 meses, 2 dos 33 doentes (6,1%) já se encontravam mortos e 12,1% (4/33) permanecia sem seguimento.

Analisando a sobrevida em função do grau histológico, 91,3% (21/23) dos canídeos com mastocitoma de baixo grau de Kiupel apresentava-se vivo aos 24 meses após o diagnóstico, com 8,7% (2/23) dos casos sem seguimento. Cerca de 55,6% (5/9) dos doentes com

mastocitoma de alto grau de Kiupel apresentava-se vivo aos 24 meses após o diagnóstico, enquanto 22,2% (2/9) não sobreviveu e 22,2% (2/9) não apresentava seguimento clínico.

6.4 Avaliação da relação entre a história clínica oncológica e o grau histológico do mastocitoma

A distribuição do grau de Kiupel do mastocitoma em função da história clínica oncológica encontra-se sumarizada na tabela 18.

Tabela 18. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da história clínica oncológica.

História clínica oncológica	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Não	19	6	25
Sim	4	3	7
Total	23	9	32

Nota: O canídeo com mastocitoma de grau II de Patnaik não apresentava história clínica progressiva de neoplasia.

Com o teste exato de Fisher foi possível concluir que não existe correlação estatisticamente significativa entre a história clínica oncológica e o grau histológico do mastocitoma ($p=0,370$).

6.5 Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a idade ao diagnóstico de mastocitoma

Com o intuito de investigar a eventual relação entre a história clínica dermatológica prévia e o desenvolvimento de mastocitoma, foi comparada a idade ao diagnóstico de mastocitoma entre o grupo de canídeos sem inflamação cutânea crónica prévia ($n=17$) e o grupo de canídeos com inflamação cutânea crónica prévia na sua história clínica ($n=16$), que tinha a idade média 8 e 8,5 anos respetivamente.

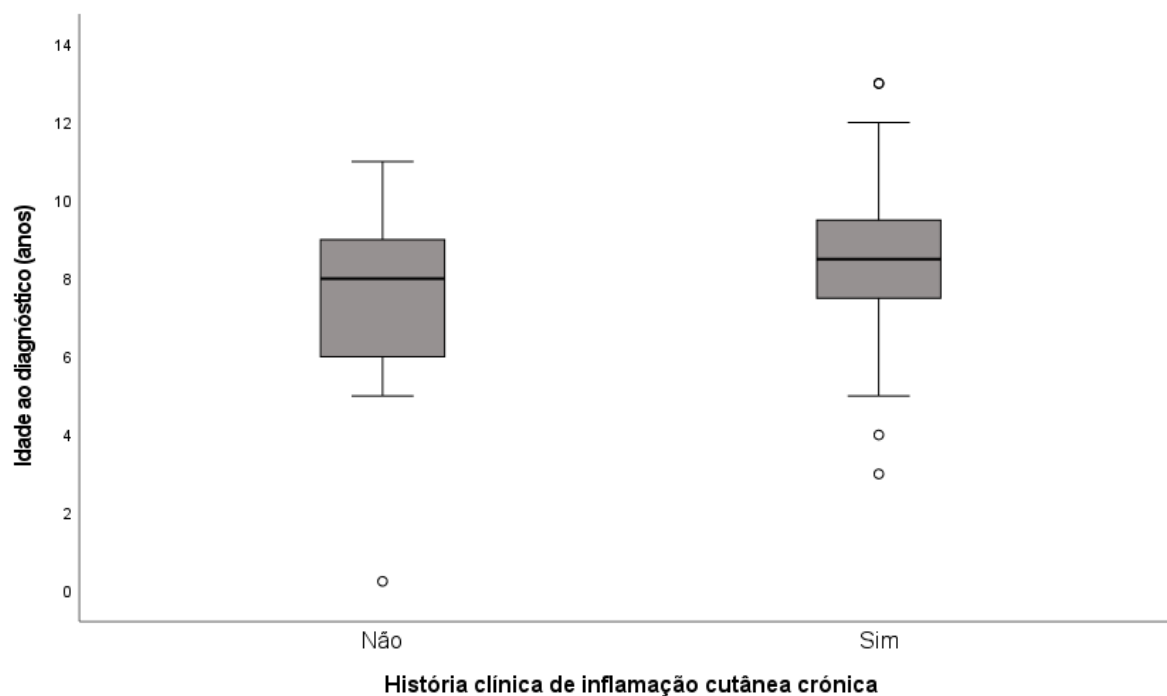


Figura 4. Diagramas de extremos e quartis comparativos da idade ao diagnóstico entre os 2 grupos em estudo.

Observando o intervalo interquartil de cada diagrama, é verificada uma maior dispersão de idades no grupo de cães sem história clínica dermatológica prévia. Contudo, através do teste t para amostras independentes concluiu-se que não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,362$).

6.6 Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e o grau histológico do mastocitoma

A maioria dos doentes sem história clínica dermatológica apresentava mastocitoma de baixo grau de Kiupel (13/17, 76,5%), tal como verificado naqueles com história dermatológica (10/15, 66,7%) (tabela 19).

Tabela 19. Distribuição do grau histológico de Kiupel em função da história clínica dermatológica.

História clínica dermatológica	Baixo grau de Kiupel	Alto grau de Kiupel	Total
Não	13	4	17
Sim	10	5	15
Total	23	9	32

Nota: O cão com mastocitoma de grau II de Patnaik apresentava história clínica de otite.

Com o teste exato de Fisher foi possível concluir que não existe correlação estatisticamente significativa entre a história clínica dermatológica e o grau histológico do tumor ($p=0,699$).

6.7 Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a ocorrência de metastização

Na tabela 20 encontram-se sumarizados os dados relativos à ocorrência de metastização em função da história clínica dermatológica.

Tabela 20. Ocorrência de metastização em função da história clínica dermatológica.

História clínica dermatológica	Metastização			Total
	Não	Sim	Sem seguimento	
Não	11	2	4	17
Sim	11	2	3	16
Total	22	4	7	33

Aproximadamente 64,7% (11/17) dos casos sem história clínica dermatológica não sofreu metastização. Em cerca de 11,8% (2/17) ocorreu metastização e 23,5% (4/17) não apresentava seguimento clínico. Resultados semelhantes foram observados no grupo de doentes com história clínica dermatológica: 68,8% (11/16) não apresentou metastização; 12,5% (2/16) sofreu metastização e 18,8% (3/16) não possuía registo de seguimento.

6.8 Avaliação da relação entre a história clínica dermatológica prévia e a sobrevida

A taxa de sobrevida aos 12 meses foi de 100% em ambos os grupos em estudo (tabela 21).

Tabela 21. Distribuição do tempo de sobrevida aos 12 e 24 meses em função do grau histológico de Kiupel.

		História clínica dermatológica		Total
		Não	Sim	
Sobrevida 12 meses	Vivo	15	14	29
	Morto	0	0	0
Sobrevida 24 meses	Vivo	13	14	27
	Morto	2	0	2
Sem seguimento		2	2	4

Não foi investigada a possível associação entre a história clínica dermatológica e a sobrevida aos 24 meses, pois não foi cumprido o pressuposto do teste de Fisher de nenhuma célula na tabela de contingência apresentar uma frequência esperada inferior a 1.

6.9 Existência de doença cutânea por diagnosticar e sinais clínicos sugestivos de dermatite atópica

As tabelas 22 a 24 resumizam as respostas obtidas às perguntas do grupo 3 do inquérito realizado ao tutor do doente.

Tabela 22. Distribuição das respostas obtidas no grupo 3 do inquérito realizado.

Resposta	Lamber		Coçar		Esfregar		Eritema		Otites recorrentes	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Sim	11	33,3	11	33,3	4	12,1	3	9,1	9	27,3
Não	15	45,5	15	45,5	8	24,3	23	69,7	17	51,5
Não aplicável	7	21,2	7	21,2	21	63,6	7	21,2	7	21,2
Total	33	100	33	100	33	100	33	100	33	100

Tabela 23. Distribuição das respostas obtidas no grupo 3 do inquérito realizado em função da história clínica dermatológica.

		História clínica dermatológica					
		Não		Sim		Total	
		N	%	N	%	N	%
Lamber	Sim	6	35,3	5	31,2	11	33,3
	Não	8	47,1	7	43,8	15	45,5
	NA	3	17,6	4	25,0	7	21,2
Coçar	Sim	4	23,5	7	43,8	11	33,3
	Não	10	58,8	5	31,2	15	45,5
	NA	3	17,6	4	25,0	7	21,2
Esfregar	Sim	2	11,8	2	12,5	4	12,1
	Não	7	41,1	1	6,2	8	24,3
	NA	8	47,1	13	81,3	21	63,6
Eritema	Sim	2	11,8	1	6,2	3	9,1
	Não	12	70,6	11	68,8	23	69,7
	NA	3	17,6	4	25,0	7	21,2
Otites recorrentes	Sim	2	11,8	7	43,8	9	27,3
	Não	12	70,6	5	31,2	17	51,5
	NA	3	17,6	4	25,0	7	21,2
Total		17	100	16	100	33	100

NA: Não aplicável

Tabela 24. Distribuição das regiões anatómicas assinaladas no grupo 3 do inquérito pelos tutores dos canídeos sem história clínica dermatológica.

Regiões	Sem história clínica dermatológica					
	Lamber: Sim		Coçar: Sim		Eritema: Sim	
	N	%	N	%	N	%
Cabeça	NA	NA	0	0	0	0
Orelhas	NA	NA	0	0	0	0
Pescoço	NA	NA	0	0	1	50
Membros	4	0	0	0	0	0
Abdómen	1	0	0	0	1	50
Dorso	0	0	0	0	0	0
Inespecífica	1	0	4	100	0	0
Total	6	100	4	100	2	100

NA: Não aplicável

7 Discussão e Conclusão

O presente estudo retrospectivo procurou avaliar a relação entre a presença de patologia cutânea como fator de prognóstico na influência do risco de malignidade de mastocitoma.

A maioria dos dados recolhidos provém de clínicas veterinárias na região da Grande Lisboa. A localização geográfica é um fator a ter em consideração, já que os resultados relativos a parâmetros como o género e a raça podem diferir entre estudos retrospectivos (Soberano e Nardi 2020).

A amostra em estudo apresentou uma distribuição uniforme quanto ao género, com 55% (18/33) de machos e 45% (15/33) de fêmeas. Ainda que as hormonas sexuais possam desempenhar um papel no desenvolvimento de mastocitoma, a literatura científica mais atual não sustenta a existência de predisposição de género para o desenvolvimento desta neoplasia (Shoop et al. 2015; Şmiech et al. 2018; Kiupel and Camus 2019), pelo que esta possível associação não foi aprofundada no trabalho estatístico.

Em alguns estudos, as fêmeas castradas são associadas a um risco acrescido de desenvolvimento de mastocitoma (Shoop et al. 2015). De acordo com os resultados obtidos, as fêmeas esterilizadas apresentam maior preponderância ao desenvolvimento da doença (10/15, 67%), como seria esperado já que a esterilização é uma cirurgia eletiva comum e bem aceite. Diferentemente, nenhum macho da amostra era castrado. Este dado não é surpreendente, uma vez que a castração de machos é um procedimento sobretudo recomendado pelos seus benefícios na resolução de problemas como agressividade, comportamento de monta ou ainda marcação de território com urina.

O estado reprodutivo pode ser considerado uma variável de confusão, pois os canídeos esterilizados apresentam maior longevidade (Belanger et al. 2017). Com efeito, a evolução na medicina veterinária preventiva, aliada a um maior cuidado por parte dos tutores, conduziu ao aumento da esperança média de vida e à prevalência de cancro em canídeos (Soberano e Nardi 2020). No estudo realizado, a idade média ao diagnóstico de mastocitoma foi de $7,98 \pm 2,77$ anos, o que está em linha com os estudos de Kiupel et al. (2005), Welle et al. (2008) e O'Connell e Thomson (2013) que concluíram que o mastocitoma afeta maioritariamente cães adultos com idades entre 7 e 9 anos. Não obstante, a faixa etária dos doentes revelou-se ampla, entre os 3 meses e os 13 anos, em concordância com o intervalo assinalado por Kiupel e Camus (2019) de 1 ano a 14 anos de idade.

O doente atípico registado no estudo realizado foi um canídeo de 3 meses de idade da raça Serra da Estrela, diagnosticado com mastocitoma de apresentação multicêntrica. Embora classificados como de baixo grau de Kiupel, os 3 nódulos apresentavam padrões de marcação imunohistoquímica do tipo 2 e 3, com Ki-67 de 50% e índice proliferativo alto. Sem história clínica de prurido, o cachorro foi submetido a quimioterapia, bem-sucedida. Este caso recorda-nos que a etiologia do mastocitoma ainda é maioritariamente desconhecida (Vozdova et al. 2019), mas a genética é a melhor fundamentada (Kiupel et al. 2004; Letard et al. 2008; Brocks et al. 2020).

Os mastocitomas múltiplos representaram apenas 9,1% (3/33) dos casos em análise, percentagem esta ligeiramente inferior à de 11-14% relatada por Mullins et al. (2006). Para além da raça Serra da Estrela (1/3), os animais afetados pertenciam às raças Teckel (1/3) e Golden Retriever (1/3). Esta última é predisposta a mastocitoma múltiplo segundo Welle et al. (2008).

Aproximadamente 27,3% (9/33) dos canídeos participantes no estudo não tinha raça definida. As raças mais representativas foram o Bulldog Francês (5/33, 15,2%), o Boxer (4/33, 12,1%) – reforçando a premissa de que raças com o Bulldog como antepassado têm maior incidência de mastocitoma (Mochizuki et al. 2017; Śmiech et al. 2019) –, o Labrador Retriever (4/33, 12,1%) e o Golden Retriever (3/33, 9,1%). De acordo com Śmiech et al. (2019), estas 4 raças são mais propensas a mastocitomas de baixo grau de Kiupel. O presente estudo sustenta essa hipótese quando analisada a distribuição de frequências da tabela 11, ainda que a amostra seja reduzida para uma afirmação perentória (16 versus 201 canídeos).

Relativamente à história clínica dos doentes, 21,2% (7/33) apresentava história de neoplasia anterior ao diagnóstico de mastocitoma, superior aos 17,5% (7/40) descritos no estudo de Santos (2017). Contudo, a estatística inferencial não corroborou a hipótese da patogénese do mastocitoma estar associada a neoplasias pré-existentes.

A esmagadora maioria dos mastocitomas em estudo (69,7%) foram classificados como de baixo grau de Kiupel, inclusive os mastocitomas subcutâneos que, embora não obedecem a este sistema de classificação, foram tratados como tal, visto que habitualmente não apresentam um comportamento biológico agressivo. Apenas em 8,7% dos mastocitomas de baixo grau de Kiupel do presente estudo houve conhecimento de metastização linfonodal, o que vai ao encontro dos estudos de de Nardi et al. (2022).

Um terço dos mastocitomas em estudo localizava-se nos membros (33,3%), em consonância com a principal localização de mastocitomas solitários relatada por Navega (2011) (29,9%) e Santos (2017) (22,5%). Segundo a revisão de Welle et al. (2008), os membros são a 2ª localização mais frequente (25-40%) de mastocitomas cutâneos. Neste estudo, a 2ª localização mais frequente foi o abdômen (5/33, 15,2%), relatada como apenas a 4ª localização mais frequente por Navega (2011) (34/271, 12,6%).

De entre os mastocitomas de baixo grau de Kiupel, 56,5% (13/23) apresentavam padrão de marcação imunohistoquímica do tipo 1. Aproximadamente 30,4% (7/23) eram do tipo 2. Cerca de 8,7% eram do tipo 3 e correspondiam a mastocitomas múltiplos.

Ainda que o prognóstico dependa de uma combinação de parâmetros clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos, é possível afirmar que uma parte significativa dos casos clínicos (13/33, 39,4%) apresentava prognóstico favorável. O grau histológico é o fator de prognóstico mais consistente e fiável (London and Thamm 2020). Mais do que um juízo antecipado, o prognóstico deve ser encarado como uma ajuda à decisão terapêutica. Na maioria dos casos clínicos (81,8%), o médico veterinário assistente requisitou a análise imunohistoquímica e em 60,6% foi realizada quimioterapia como terapêutica adjuvante.

A taxa de recidiva foi igual a 18,2%, mas de apenas 8,7% em tumores de baixo grau de Kiupel. Em mastocitomas de alto grau de Kiupel, a taxa de recidiva foi de 44,4%, revelando-se superior ao valor de 30,1% relatado por Moore et al. (2020).

A taxa de sobrevida aos 24 meses foi de 91,3% nos canídeos com mastocitoma de baixo grau de Kiupel, com 8,7% sem informação de seguimento. Este resultado está de acordo com a afirmação de Kiupel et al. (2011) de que o tempo médio de sobrevivência para doentes com mastocitoma de baixo grau é superior a 2 anos.

A taxa de sobrevida aos 24 meses em doentes com mastocitoma de alto grau de Kiupel (55,6%) foi inferior à observada por Moore et al. (2020) (72,9%). Contudo, 22,2% (2/9) não apresentava informação de seguimento, o que poderá explicar esta diferença.

Como previamente referido, com o presente trabalho, procurou-se investigar uma possível correlação entre doenças dermatológicas e o aparecimento de mastocitoma canino.

Na população em estudo, 48,5% dos doentes apresentava história de doença dermatológica anterior ao diagnóstico de mastocitoma, afastando-se do resultado do estudo de Navega (2011) com o valor de 23,5%, mas próximo do estudo de Santos (2017) com 55%.

Aproximadamente 24,2% (8/33) possuía história de otite, resultado idêntico ao estudo de Santos (2017). Cerca de 18,2% (6/33) apresentava diagnóstico de DA, resultado ligeiramente superior ao de 15% (6/40) apresentado por Santos (2017), mas inferior ao de 27% (17/63) relatado por O'Connell e Thomson (2013).

No que respeita a idade ao diagnóstico, o grupo de canídeos com história de doença dermatológica apresentou uma mediana ligeiramente superior ao grupo de canídeos sem história de doença dermatológica (8,5 anos *versus* 8 anos), o que está de acordo com o estudo de Santos (2017), cujos valores foram de 8,1 anos *versus* 8,5 anos). Santos (2017) relatou maior dispersão de idades no grupo de canídeos com história clínica de inflamação cutânea crónica do que a obtida com o presente estudo. Em nenhum dos estudos foi comprovada uma relação causal entre a história de doença dermatológica e a idade ao diagnóstico de mastocitoma.

A maioria dos doentes com história de doença dermatológica apresentava mastocitoma de baixo grau de Kiupel (10/15, 66,7%). Este resultado está em linha com a literatura científica consultada, com vários autores a constatar um menor número de casos de mastocitoma de grau III de Patnaik em animais com doença dermatológica (O'Connell e Thomson 2013; Santos 2017). Ainda assim, se a amostra do presente estudo englobasse um maior número de mastocitomas de alto grau de Kiupel, a validade desta premissa seria melhor comprovada, com maior probabilidade de respeito pelos pressupostos do teste de qui-quadrado e, conseqüentemente, uma análise estatística mais fina da possível associação entre a história clínica dermatológica e o grau histológico do mastocitoma. De acordo com o teste exato de Fisher, a mesma não foi demonstrada ($p=0,699$).

O estudo da correlação entre a história dermatológica progressiva e a ocorrência de metastização fica igualmente aquém do desejado, considerando que 50% dos mastocitomas metastizados eram de baixo grau de Kiupel (2/4) e 50% eram de alto grau de Kiupel (2/4). É anuído pela comunidade científica que menos de 10% dos mastocitomas bem diferenciados metastizam e 5-22% dos mastocitomas moderadamente diferenciados tem potencial de metastização (de Nardi et al. 2022). Contudo, Navega (2011) não encontrou associação estatística entre as 2 variáveis ($p=0,263$).

Um estudo de O'Connell e Thomson (2013) avaliou a sobrevivência livre de progressão (*progression-free survival*), isto é, o período de tempo desde o diagnóstico até ao momento mais precoce de recidiva local/ mastocitoma *de novo*/metastização. Na análise estatística

univariada, os autores constataram que a mediana da sobrevivência livre de progressão dos canídeos com DA foi significativamente mais longa do que a dos canídeos sem DA. Contudo, esta variável não se revelou significativa na análise multivariada.

A carcinogénese é descrita como um processo de duas fases: inicia-se quando a sequência de ADN das células somáticas sofre mutações genéticas, que podem permanecer ocultas durante anos no tecido saudável, até que outro estímulo induza a fase de promoção celular (Korniluk et al. 2017). Apesar de não haver prova de correlação entre a DA e o desenvolvimento de mastocitoma cutâneo canino, é reconhecido que a DA é caracterizada pela acumulação angiogénica de mastócitos que, por conseguinte, provoca alterações microestruturais crónicas no tecido afetado (Thamm et al. 1999 citado por O'Connell e Thomson 2013). Alguns autores suspeitam da existência de um subgrupo de canídeos com história de doença dermatológica com um maior risco acrescido de desenvolver mastocitomas múltiplos de baixo grau de Kiupel (O'Connell e Thomson 2013). É possível que outros estudos tenham subestimado a prevalência de doença dermatológica prévia, uma vez que os cuidadores dos doentes não foram diretamente inquiridos.

O levantamento de história de doença dermatológica por diagnosticar através de questionário a tutores pode sobrestimar a sua ocorrência, pois alguns sinais clínicos, como lambadura persistente, podem ter origem psicogénica. A sensibilidade de cada tutor à frequência e gravidade do prurido pode divergir: sem uma escala de critérios precisos nos quais possa basear a sua decisão, o tutor pode ter tendência a sobrestimar este sinal (Hill et al. 2007). Por outro lado, alguns tutores tendem a subvalorizá-lo. Assim, as respostas obtidas no inquérito efetuado devem ser analisadas com cautela.

Em suma, o presente estudo não apurou uma relação causal entre a história clínica dermatológica prévia e o aparecimento de mastocitoma canino. Não foi verificada uma associação estatisticamente significativa entre a história dermatológica progressiva e o grau histológico do mastocitoma ($p=0,699$). As associações estatísticas que se procuraram estabelecer a partir dos resultados do inquérito entre a presença de patologia cutânea e a malignidade do mastocitoma não se revelaram estatisticamente significativas ($p>0,05$).

8 Limitações do estudo

Como em outros estudos retrospectivos, várias são as limitações que decorrem da natureza do mesmo. Exemplo disso é o tipo de registo de informação presente em cada processo clínico, a subjetividade das respostas presentes e neste caso o número limitado de doentes que constituem a amostra em estudo.

Referências bibliográficas

- Abraham SN, et al. John AL. 2010. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol.* 10(6):440–452. doi:10.1038/nri2782.
- Albanese F. 2017a. Morphology and Function of Skin Cells. Em: *Canine and Feline Skin Cytology*. Cham (CH): Springer International Publishing; p. 33.
- Albanese F. 2017b. Cytology of Skin Tumours. Em: *Canine and Feline Skin Cytology*. Cham (CH): Springer International Publishing; p. 293–304.
- 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):1005647. doi:10.1371/journal.pgen.1005647. [accessed 2021 May 13]. <https://www>.
- Auxilia ST, Hill PB. 2000. Mast cell distribution, epidermal thickness and hair follicle density in normal canine skin: Possible explanations for the predilection sites of atopic dermatitis? *Vet Dermatol.* 11(4):247–254. doi:10.1046/j.1365-3164.2000.00193.x.
- Bae S, Milovancev M, Bartels C, Irvin VL, Tuohy JL, Townsend KL, Leeper H. 2020. Histologically low-grade, yet biologically high-grade, canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Vet Comp Oncol.* 18(4):580–589. doi:10.1111/vco.12581.
- Belanger JM, Bellumori TP, Bannasch DL, Famula TR, Oberbauer AM. 2017. Correlation of neuter status and expression of heritable disorders. *Canine Genet Epidemiol.* 4(1). doi:10.1186/s40575-017-0044-6.
- 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 and Ultrasound.* 52(5):548–554. doi:10.1111/j.1740-8261.2011.01839.x. [accessed 2021 Apr 25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21689203/>.
- Bostock DE. 1973. 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. [accessed 2021 Apr 20]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.1973.tb06891.x>.
- 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):915–918. doi:10.1038/bjc.1989.193. [accessed 2021 Apr 13]. [/pmc/articles/PMC2246742/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC2246742/?report=abstract).
- Bradley CW, Morris DO, Rankin SC, Cain CL, Misic AM, Houser T, Mauldin EA, Grice EA. 2016. Longitudinal Evaluation of the Skin Microbiome and Association with Microenvironment and Treatment in Canine Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology.* 136(6):1182–1190. doi:10.1016/j.jid.2016.01.023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jid.2016.01.023>.
- Brocks BAW, Bertram CA, Bartel A, Kirpensteijn J, Collins-Webb A, Catlin C, Thaiwong T, Kiupel M. 2020. Internal Tandem Duplication of Exon 8 of c-kit Is Associated With Longer Total Survival in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol.* doi:10.1177/0300985820973463.
- 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.

- Cho RW, Clarke MF. 2008. Recent advances in cancer stem cells. *Curr Opin Genet Dev.* 18(1):48–53. doi:10.1016/j.gde.2008.01.017. [accessed 2021 Feb 8]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18356041/>.
- Cooper M, Tsai XR, Bennett P. 2009. Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Vet Comp Oncol.* 7(3):196–206. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00190.x. [accessed 2021 Jun 1]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1476-5829.2009.00190.x>.
- Coussens LM, Werb Z. 2001. Inflammatory cells and cancer: Think different! *Journal of Experimental Medicine.* 193(6):23–26. doi:10.1084/jem.193.6.F23. [accessed 2021 Mar 25]. <http://www.jem.org/cgi/content/full/193/6/F23>.
- Davis BJ, Page R, Sannes PL, Meuten DJ. 1992. Cutaneous Mastocytosis in a Dog. *Vet Pathol.* 29(4):363–365. doi:10.1177/030098589202900415.
- Dobson JM, Scase TJ. 2007. 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. [accessed 2021 May 5]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1748-5827.2007.00366.x>.
- Dudeck J, Froebel J, Kotrba J, Lehmann CHK, Dudziak D, Speier S, Nedospasov SA, Schraven B, Dudeck A. 2019. Engulfment of mast cell secretory granules on skin inflammation boosts dendritic cell migration and priming efficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 143(5):1849-1864.e4. doi:10.1016/j.jaci.2018.08.052. [accessed 2021 Mar 3]. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.052>.
- Dudeck J, Medyukhina A, Fröbel J, Svensson CM, Kotrba J, Gerlach M, Gradtke AC, Schröder B, Speier S, Figge MT, et al. 2017. Mast cells acquire MHC II from dendritic cells during skin inflammation. *Journal of Experimental Medicine.* 214(12):3791–3811. doi:10.1084/jem.20160783. [accessed 2021 Mar 4]. <https://doi.org/10.1084/jem.20160783>.
- Estrada CRV, Nardi AB, Castro JLC, Huppess RR, Soberano M. 2020. Introducción al estudio de las neoplasias cutáneas en perros y gatos. Em: Soberano M, Nardi, AB, editores. *Neoplasias cutáneas en perros y gatos.* 1ª ed. Zaragoza (ES): Servet; p. 2.
- Ferrari R, Chiti LE, Manfredi M, Ravasio G, de Zani D, Zani DD, Giudice C, Gambini M, Stefanello D. 2020. Biopsy of sentinel lymph nodes after injection of methylene blue and lymphoscintigraphic guidance in 30 dogs with mast cell tumors. *Veterinary Surgery.* 49(6):1099–1108. doi:10.1111/vsu.13483. [accessed 2021 Apr 23]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vsu.13483>.
- Fife M, Blocker T, Fife T, Dubielzig RR, Dunn K. 2011. Canine conjunctival mast cell tumors: a retrospective study. *Vet Ophthalmol.* 14(3):153–160. doi:10.1111/j.1463-5224.2010.00857.x. [accessed 2021 May 3]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1463-5224.2010.00857.x>.
- Fournier Q, Cazzini P, Bavcar S, Pecceu E, Ballber C, Elders R. 2018. Investigation of the utility of lymph node fine-needle aspiration cytology for the staging of malignant solid tumors in dogs. *Vet Clin Pathol.* 47(3):489–500. doi:10.1111/vcp.12636.
- Fox LE, Rosenthal RC, Twedt DC, Dubielzig RR, MacEwen EG, Grauer GF. 1990. Plasma Histamine and Gastrin Concentrations in 17 Dogs With Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med.* 4(5):242–246. doi:10.1111/j.1939-1676.1990.tb03116.x.
- Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. 2011. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: Macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol.* 12(11):1035–1044. doi:10.1038/ni.2109.

- Gerritsen RJ, Teske E, Rutteman GR, Kraus JS. 1998. Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *Veterinary Quarterly*. 20(1):28–31. doi:10.1080/01652176.1998.9694832. [accessed 2021 May 17]. <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tveq20>.
- Giantin M, Aresu L, Benali S, Aricò A, Morello EM, Martano M, Vascellari M, Castagnaro M, Lopparelli RM, Zancanella V, et al. 2012. Expression of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases and Vascular Endothelial Growth Factor in Canine Mast Cell Tumours. *J Comp Pathol*. 147(4):419–429. doi:10.1016/j.jcpa.2012.01.011.
- 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. [accessed 2021 Apr 10]. <http://journals.sagepub.com/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.
- Gri G, Frossi B, D’Inca F, Danelli L, Betto E, Mion F, Sibilano R, Pucillo C. 2012. Mast cell: An emerging partner in immune interaction. *Front Immunol*. 3(MAY). doi:10.3389/fimmu.2012.00120. [accessed 2021 Mar 8]. [/pmc/articles/PMC3360165/](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00120).
- Gschwandtner M, Mildner M, Mlitz V, Gruber F, Eckhart L, Werfel T, Gutzmer R, Elias PM, Tschachler E. 2013. Histamine suppresses epidermal keratinocyte differentiation and impairs skin barrier function in a human skin model. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 68(1):37–47. doi:10.1111/all.12051. [accessed 2021 Apr 28]. [/pmc/articles/PMC3555427/](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.12051).
- Hamamura-Yasuno E, Iguchi T, Kumagai K, Tsuchiya Y, Mori K. 2020. Identification of the dog orthologue of human MAS-related G protein coupled receptor X2 (MRGPRX2) essential for drug-induced pseudo-allergic reactions. *Sci Rep*. 10(1):16146. doi:10.1038/s41598-020-72819-5. [accessed 2021 Mar 29]. www.nature.com/scientificreports.
- Hanahan D. 2022. Cancer Discovery. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
- Hanahan D, Weinberg RA. 2011. Leading Edge Review Hallmarks of Cancer: The Next Generation. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Hauck ML, Oblack ML. 2020. Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. Em: Vail, DM, Thamm, DH, Liptak, JM, editores. *Withrow & MacEwen’s Small Animal Clinical Oncology*. 6^a ed. Missouri (MO): Elsevier; p. 352–362.
- 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. [accessed 2021 Jun 9]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1476-5829.2007.00135.x>.
- Hill PB, Lau P, Rybnicek J. 2007. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol*. 18(5):301–308. doi:10.1111/J.1365-3164.2007.00616.X. [accessed 2024 Sep 22]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3164.2007.00616.x>.
- Hillman LA, Garrett LD, de Lorimier LP, Charney SC, Borst LB, Fan TM. 2010. Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc*. 237(8):936–942. doi:10.2460/javma.237.8.936.

- Horta RS, Lavalle 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. [accessed 2021 Jun 1]. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9172>.
- Horta RS, Lavalle GE, Monteiro LN, Souza MCC, Cassali GD, Araújo RB. 2018. 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. [accessed 2021 Apr 18]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985817747325>.
- Howard EB, Sawa TR, Nielsen SW, Kenyon AJ. 1969. Mastocytoma and Gastroduodenal Ulceration: Gastric and Duodenal Ulcers in Dogs with Mastocytoma. *Pathol Vet.* 6(2):146–158. doi:10.1177/030098586900600205. [accessed 2021 Apr 12]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098586900600205>.
- 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. [accessed 2021 Apr 19]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02433.x>.
- Jamur MC. 2011. Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Frontiers in Bioscience.* S3(1):1390. doi:10.2741/231.
- Katsoulis-Dimitriou K, Kotrba J, Voss M, Dudeck J, Dudeck A. 2020. Mast Cell Functions Linking Innate Sensing to Adaptive Immunity. *Cells.* 9(12):2538. doi:10.3390/cells9122538. [accessed 2021 Feb 23]. <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/12/2538>.
- Kiupel M, Camus M. 2019. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice.* 49(5):819–836. doi:10.1016/j.cvsm.2019.04.002. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.002>.
- Kiupel M, Webster JD, Bailey KL, Best S, DeLay J, Detrisac CJ, Fitzgerald SD, Gamble D, Ginn PE, Goldschmidt MH, et al. 2011. 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. 2004. 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. [accessed 2021 Apr 19]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0442.2005.00726.x>.
- Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. 2020. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol.* 58(3):298–312. doi:10.1007/s12016-019-08729-w.
- Korniluk A, Koper O, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V. 2017. From inflammation to cancer. *Ir J Med Sci.* 186(1):57–62. doi:10.1007/s11845-016-1464-0. [accessed 2021 Feb 10]. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11845-016-1464-0>.

- Krick EL, Billings AP, Shofer FS, Watanabe S, Sorenmo KU. 2009. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival *. *Vet Comp Oncol.* 7(2):130–138. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00185.x. [accessed 2021 Apr 14]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2009.00185.x>.
- Ku CK, 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.
- Kumar V, Sharma A. 2010. Mast cells: Emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Mol Immunol.* 48(1–3):14–25. doi:10.1016/j.molimm.2010.07.009.
- Letard S, Yang Y, Hanssens K, Palmérini F, Leventhal PS, Guéry S, Moussy A, Kinet JP, Hermine O, Dubreuil P. 2008. Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Molecular Cancer Research.* 6(7):1137–1145. doi:10.1158/1541-7786.MCR-08-0067. [accessed 2021 Apr 6]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18644978/>.
- Lin T yin, Rush LJ, London CA. 2006. Generation and characterization of bone marrow-derived cultured canine mast cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 113(1–2):37–52. doi:10.1016/j.vetimm.2006.03.024.
- Lin TY, London CA. 2010. Characterization and modulation of canine mast cell derived eicosanoids. *Vet Immunol Immunopathol.* 135(1–2):118–127. doi:10.1016/j.vetimm.2009.11.010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.11.010>.
- London CA, Malpas PB, Wood-Follis SL, Boucher JF, Rusk AW, Rosenberg MP, Henry CJ, Mitchener KL, Klein MK, Hintermeister JG, et al. 2009. Cancer Therapy: Clinical 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. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1860. <http://clincancerres.aacrjournals.org/>.
- London CA, Seguin B. 2003. Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice.* 33(3):473–489. doi:10.1016/S0195-5616(03)00003-2.
- London, CA, Thamm DH. 2020. Mast Cell Tumors. Em: Vail, DM, Thamm, DH, Liptak, JM, editores. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology.* 6^a ed. Missouri (MO): Elsevier; p. 382-387.
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. 2008. Cancer-related inflammation. *Nature.* 454(7203):436–444. doi:10.1038/nature07205. [accessed 2021 Mar 16]. <https://www.nature.com/articles/nature07205>.
- McLachlan JB, Hart JP, Pizzo S v., Shelburne CP, Staats HF, Gunn MD, Abraham SN. 2003. Mast cell-derived tumor necrosis factor induces hypertrophy of draining lymph nodes during infection. *Nat Immunol.* 4(12):1199–1205. doi:10.1038/ni1005.
- Mekori YA, Metcalfe DD. 1999. Mast cell-T cell interactions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 104(3 II):517–523. doi:10.1016/s0091-6749(99)70316-7.
- Misdorp W. 2004. Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Veterinary Quarterly.* 26(4):156–169. doi:10.1080/01652176.2004.9695178. [accessed 2021 May 5]. <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tveq20>.
- Mochizuki H, Motsinger-Reif A, Bettini C, Moroff S, Breen M. 2017. Association of breed and histopathological grade in canine mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.* 15(3):829–839. doi:10.1111/vco.12225.

- Moirano SJ, Lima SF, Hume KR, Brodsky EM. 2018a. Association of prognostic features and treatment on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. *Vet Comp Oncol.* 16(1):E194–E201. doi:10.1111/vco.12373. [accessed 2021 Apr 12]. <http://doi.wiley.com/10.1111/vco.12373>.
- Moirano SJ, Lima SF, Hume KR, Brodsky EM. 2018b. Association of prognostic features and treatment on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. *Vet Comp Oncol.* 16(1):E194–E201. doi:10.1111/vco.12373. [accessed 2021 Apr 12]. <http://doi.wiley.com/10.1111/vco.12373>.
- Moore AS, Frimberger AE, Taylor D, Sullivan N. 2020. Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.* 18(3):402–408. doi:10.1111/VCO.12565. [accessed 2024 Sep 22]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vco.12565>.
- Mullins MN, Dernell WS, Withrow SJ, Ehrhart EJ, Thamm DH, Lana SE. 2006. 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. 2006. 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. [accessed 2021 Apr 18]. <http://doi.wiley.com/10.1136/vr.158.9.287>.
- Murphy S, Sparkes AH, Smith KC, Blunden AS, Brearley MJ. 2004. 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. [accessed 2021 Jun 14]. <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1136/vr.154.24.743>.
- Mutsaers, AJ, Biller, B. 2020. Molecular/Targeted Therapy of Cancer. Em: Vail, DM, Thamm, DH, Liptak, JM, editores. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology.* 6ª ed. Missouri (MO): Elsevier; p. 265.
- de Nardi AB, dos Horta RS, Fonseca-Alves CE, de Paiva FN, Linhares LCM, Firmo BF, Sueiro FAR, de Oliveira KD, Lourenço SV, de Strefezzi RF, et al. 2022. Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells.* 11(4). doi:10.3390/CELLS11040618. [accessed 2022 Dec 18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35203268/>.
- Navega, PRS. 2011. Mastocitomas em cães: estudo retrospectivo. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa.
- Ng MF. 2010. The role of mast cells in wound healing. *Int Wound J.* 7(1):55–61. doi:10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x. [accessed 2021 Mar 2]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x>.
- Northrup NC, Howerth EW, Harmon BG, Brown CA, Carmicheal KP, Garcia AP, Latimer KS, Munday JS, Rakich PM, Richey LJ, et al. 2005. Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* 17(6):561–564. doi:10.1177/104063870501700606. [accessed 2021 Apr 19]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063870501700606>.
- Noviana D, Kono F, Nagakui Y, Shimizu H, Mamba K, Makimura S, Horii Y. 2001. Distribution and enzyme histochemical characterisation of mast cells in cats. *Histochemical Journal.* 33(11–12):597–603. doi:10.1023/A:1016324515108. [accessed 2021 Mar 1]. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1016324515108>.

- Noviana D, Mamba K, Makimura S, Horii Y. 2004. Distribution, histochemical and enzyme histochemical characterization of mast cells in dogs. *J Mol Histol.* 35(2):123–132. doi:10.1023/B:HIJO.0000023377.70443.08.
- 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. [accessed 2021 Feb 23]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2011.00301.x>.
- Ohmori K, Kawarai S, Yasuda N, Tanaka A, Matsuda H, Nishimura R, Sasaki N, Tsujimoto H, Masuda K. 2008. Identification of c-kit mutations-independent neoplastic cell proliferation of canine mast cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 126(1–2):43–53. doi:10.1016/j.vetimm.2008.06.014. [accessed 2021 Apr 28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18687474/>.
- O'Keefe DA, Couto CG, Burke-Schwartz C, Jacobs RM. 1987. Systemic Mastocytosis in 16 Dogs. *J Vet Intern Med.* 1(2):75–80. doi:10.1111/j.1939-1676.1987.tb01990.x. [accessed 2021 Apr 27]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.1987.tb01990.x>.
- Olsen JA, Thomson M, O'Connell K, Wyatt K. 2018. 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. [accessed 2021 Jun 1]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/vms3.106>.
- Pang LY, Argyle DJ. 2015. The evolving cancer stem cell paradigm: Implications in veterinary oncology. *Veterinary Journal.* 205(2):154–160. doi:10.1016/j.tvjl.2014.12.029. [accessed 2021 Mar 15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25634078/>.
- Pariser MS, Gram DW. 2015. Urticaria pigmentosa-like disease in a dog. *Canadian Veterinary Journal.* 56(3):245–248. [accessed 2021 Apr 27]. </pmc/articles/PMC4327134/>.
- Patnaik AK, Ehler WJ, MacEwen EG. 1984. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Vet Pathol.* 21(5):469–474. doi:10.1177/030098588402100503. [accessed 2021 Apr 14]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/030098588402100503>.
- Pizzoni S, Sabattini S, Stefanello D, Dentini A, Ferrari R, Dacasto M, Giantin M, Laganga P, Amati M, Tortorella G, et al. 2018. Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study. *Vet Comp Oncol.* 16(1):28–36. doi:10.1111/VCO.12306. [accessed 2021 Jul 20]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vco.12306>.
- Poirier VJ, Adams WM, Forest LJ, Green EM, Dubielzig RR, Vail DM. 2006. Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumors. *J Am Anim Hosp Assoc.* 42(6):430–434. doi:10.5326/0420430.
- Pratschke KM, Atherton MJ, Sillito JA, Lamm CG. 2013. Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008–2012). *J Am Vet Med Assoc.* 243(10):1436–1441. doi:10.2460/javma.243.10.1436.
- Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M. 2007. Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Res Commun.* 31(3):287–296. doi:10.1007/s11259-006-3427-9. [accessed 2021 May 17]. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11259-006-3427-9>.
- Ranieri G, Passantino L, Patruno R, Passantino G, Jirillo F, Catino A, Mattioli V, Gadaleta C, Ribatti D. 2003. The dog mast cell tumour as a model to study the relationship between angiogenesis, mast cell density and tumour malignancy. *Oncol Rep.* 10(5):1189–1193.

doi:10.3892/or.10.5.1189. [accessed 2021 Apr 7]. <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.10.5.1189/abstract>.

- Rassnick KM, Moore AS, Williams LE, London CA, Kintzer PP, Engler SJ, Cotter SM. 1999. Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (lomustine). *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. 13(6):601–605. doi:10.1111/j.1939-1676.1999.tb02217.x. [accessed 2021 Jun 18]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-1676.1999.tb02217.x>.
- Ribatti D, Tamma R, Crivellato E. 2018. The dual role of mast cells in tumor fate. *Cancer Lett*. 433:252–258. doi:10.1016/j.canlet.2018.07.005. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.07.005>.
- Sabattini S, Bettini G. 2019. Grading Cutaneous Mast Cell Tumors in Cats. *Vet Pathol*. 56(1):43–49. doi:10.1177/0300985818800028.
- Sabattini S, Kiupel M, Finotello R, Stefanello D, Faroni E, Bertazzolo W, Bonfanti U, Rigillo A, del Magno S, Foglia A, et al. 2021. A retrospective study on prophylactic regional lymphadenectomy versus nodal observation only in the management of dogs with stage I, completely resected, low-grade cutaneous mast cell tumors. *BMC Vet Res*. 17(1). doi:10.1186/S12917-021-03043-0. [accessed 2022 Aug 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34649575/>.
- Santos, JPMF 2017. Mastocitoma cutâneo canino: inflamação cutânea crônica vs desenvolvimento de mastocitomas. [dissertação de mestrado]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Sato AF, Solano M. 2004. Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 45(1):51–57. doi:10.1111/j.1740-8261.2004.04008.x. [accessed 2021 Apr 24]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1740-8261.2004.04008.x>.
- Scase TJ, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A, Murphy S. 2006. Canine Mast Cell Tumors: Correlation of Apoptosis and Proliferation Markers with Prognosis. *J Vet Intern Med*. 20(1):151–158. doi:10.1111/j.1939-1676.2006.tb02835.x. [accessed 2021 Apr 13]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02835.x>.
- Selmic LE, Ruple A. 2020. A systematic review of surgical margins utilized for removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *BMC Vet Res*. 16(1):1–6. doi:10.1186/s12917-019-2227-8.
- Serra Varela JC, Pecceu E, Handel I, Lawrence J. 2016. Tolerability of a rapid-escalation vinblastine-prednisolone protocol in dogs with mast cell tumours. *Vet Med Sci*. 2(4):266–280. doi:10.1002/vms3.42. [accessed 2021 Jun 15]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/vms3.42>.
- Shoop SJ, Marlow S, Church DB, English K, McGreevy PD, Stell AJ, Thomson PC, O'Neill DG, Brodbelt DC. 2015. Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Canine Genet Epidemiol*. 2(1):1. doi:10.1186/2052-6687-2-1. [accessed 2021 May 13]. <http://www.cgejournal.org/content/2/1/1>.
- da Silva L, Fonseca-Alves CE, Thompson JJ, Foster RA, Wood GA, Amorim RL, Coomber BL. 2017. Pilot assessment of vascular endothelial growth factor receptors and trafficking pathways in recurrent and metastatic canine subcutaneous mast cell tumours. *Vet Med Sci*. 3(3):146–155. doi:10.1002/vms3.66. [accessed 2021 Apr 11]. <http://doi.wiley.com/10.1002/vms3.66>.
- Simpson AM, Ludwig LL, Newman SJ, Bergman PJ, Hottinger HA, Patnaik AK. 2004. Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell

- tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 224(2):236–240. doi:10.2460/javma.2004.224.236.
- Sledge DG, Webster J, Kiupel M. 2016. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Veterinary Journal.* 215:43–54. doi:10.1016/j.tvjl.2016.06.003.
- Śmiech A, Łopuszyński W, Ślaska B, Bulak K, Jasik A. 2019. Occurrence and distribution of canine cutaneous mast cell tumour characteristics among predisposed breeds. *Journal of Veterinary Research (Poland).* 63(1):141–148. doi:10.2478/jvetres-2019-0002.
- Şmiech A, Şlaska B, Łopuszyński W, Jasik A, Bochyńska D, Da,browski R. 2018. Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. *Acta Vet Scand.* 60(1):1–9. doi:10.1186/s13028-018-0424-2.
- Smith AN. 2014. The role of neutering in cancer development. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice.* 44(5):965–975. doi:10.1016/j.cvsm.2014.06.003. [accessed 2021 Feb 5]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25174910/>.
- Snyder, PW. 2013. Doenças da imunidade. Em: Zachary JF, McGavin MD, editores. *Bases da patologia veterinária.* 5ª ed. Rio de Janeiro (BR): Elsevier; p. 259–261.
- Soberano, M, Nardi AB. 2020. Mastocitoma canino. Em: *Neoplasias cutâneas en perros y gatos.* 1ª ed. Zaragoza (ES): Servet; p. 60–66; 77.
- Stefanello D, Buracco P, Sabattini S, Finotello R, Giudice C, Grieco V, Iussich S, Tursi M, Scase T, di Palma S, et al. 2015. Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009–2014). *J Am Vet Med Assoc.* 246(7):765–769. doi:10.2460/javma.246.7.765.
- Stefanello D, Valenti P, Faverzani S, Bronzo V, Fiorbianco V, Pinto da Cunha N, Romussi S, Cantatore M, Caniatti M. 2009. Ultrasound-Guided Cytology of Spleen and Liver: A Prognostic Tool in Canine Cutaneous Mast Cell Tumor. *J Vet Intern Med.* 23(5):1051–1057. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0354.x. [accessed 2021 Apr 24]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2009.0354.x>.
- Taylor F, Gear R, Hoather T, Dobson J. 2009. Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. *Journal of Small Animal Practice.* 50(6):284–289. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00732.x. [accessed 2021 Jun 1]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1748-5827.2009.00732.x>.
- 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. [accessed 2021 Apr 26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16820715/>.
- Thamm DH, Turek MM, Vail DM. 2006b. 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.
- Thompson JJ, Morrison JA, Pearl DL, Boston SE, Wood GA, Foster RA, Coomber BL. 2016. Receptor Tyrosine Kinase Expression Profiles in Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol.* 53(3):545–558. doi:10.1177/0300985815610388. [accessed 2021 Apr 11]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985815610388>.
- Thompson JJ, Pearl DL, Yager JA, Best SJ, Coomber BL, Foster RA. 2011. Canine subcutaneous mast cell tumor: Characterization and prognostic indices. *Vet Pathol.*

- 48(1):156–168. doi:10.1177/0300985810387446. [accessed 2021 Apr 18]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810387446>.
- Vozdova M, Kubickova S, Fictum P, Fröhlich J, Jelinek F, Rubes J. 2019. Prevalence and prognostic value of c-kit and TP53 mutations in canine mast cell tumours. *Veterinary Journal*. 247:71–74. doi:10.1016/j.tvjl.2019.03.005. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.03.005>.
- Wang F, Yang TLB, Kim BS. 2020. The Return of the Mast Cell: New Roles in Neuroimmune Itch Biology. *Journal of Investigative Dermatology*. 140(5):945–951. doi:10.1016/j.jid.2019.12.011.
- Warland J, Dobson J. 2013. Breed predispositions in canine mast cell tumour: A single centre experience in the United Kingdom. *Veterinary Journal*. 197(2):496–498. doi:10.1016/j.tvjl.2013.02.017.
- Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kaneene JB, Miller RA, Resau JH, Kiupel M. 2006. The role of c-KIT in tumorigenesis: Evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia*. 8(2):104–111. doi:10.1593/neo.05622. [accessed 2021 Apr 6]. [/pmc/articles/PMC1578516/](http://pmc/articles/PMC1578516/).
- Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller RA, Kaneene JB, Kiupel M. 2007. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: Associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol*. 44(3):298–308. doi:10.1354/vp.44-3-298. [accessed 2021 Apr 14]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.44-3-298>.
- Weishaar KM, Thamm DH, Worley DR, Kamstock DA. 2014. Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *J Comp Pathol*. 151(4):329–338. doi:10.1016/j.jcpa.2014.07.004.
- Welle MM, Bley CR, Howard J, Rüfenacht S. 2008. Canine mast cell tumours: A review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet Dermatol*. 19(6):321–339. doi:10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x. [accessed 2021 Apr 26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18980632/>.
- Wobeser BK, Kidney BA, Powers BE, Withrow SJ, Mayer MN, Spinato MT, Allen AL. 2007. Diagnoses and clinical outcomes associated with surgically amputated canine digits submitted to multiple veterinary diagnostic laboratories. *Vet Pathol*. 44(3):355–361. doi:10.1354/vp.44-3-355. [accessed 2021 Apr 26]. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.44-3-355>.
- Worley DR. 2014. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Vet Comp Oncol*. 12(3):215–226. doi:10.1111/j.1476-5829.2012.00354.x. [accessed 2021 Apr 23]. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2012.00354.x>.
- Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho Y-Y, Lee HS, Lee JY. 2020. Skin Barrier Abnormalities and Immune Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci*. 21(8):2867. doi:10.3390/ijms21082867. [accessed 2021 Mar 25]. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/8/2867>.
- Zamarian V, Catozzi C, Cuscó A, Stefanello D, Ferrari R, Ceciliani F, Francino O, Sánchez A, Grieco V, Zani D, et al. 2020. Characterization of skin surface and dermal microbiota in dogs with mast cell tumor. *Sci Rep*. 10(1):1–10. doi:10.1038/s41598-020-69572-0. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69572-0>.
- Zavodovskaya R, Chien MB, London CA. 2004. Use of Kit Internal Tandem Duplications to Establish Mast Cell Tumor Clonality in 2 Dogs. *J Vet Intern Med*. 18(6):915–917.

doi:10.1111/j.1939-1676.2004.tb02644.x. [accessed 2021 Apr 18].
<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02644.x>.

Zemke D, Yamini B, Yuzbasiyan-Gurkan V. 2002. Mutations in the Juxtamembrane Domain of c-KIT Are Associated with Higher Grade Mast Cell Tumors in Dogs. *Vet Pathol.* 39(5):529–535. doi:10.1354/vp.39-5-529. [accessed 2021 Apr 6].
<http://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.39-5-529>.

Zink MC, Farhoody P, Elser SE, Ruffini LD, Gibbons TA, Rieger RH. 2014. Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in gonadectomized Vizslas. *J Am Vet Med Assoc.* 244(3):309–319. doi:10.2460/javma.244.3.309. [accessed 2021 Feb 5]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24432963/>.

Anexos

Anexo 1. Inquérito aplicado aos cuidadores dos doentes do estudo.

Ex.mo(a) Sr(a),

O meu nome é Eduarda Félix, sou aluna do 6º Ano do curso de Medicina Veterinária e venho por este meio solicitar a sua colaboração no meu trabalho de tese subordinado ao tema “A Patologia Cutânea como Fator de Prognóstico em Doentes com Mastocitoma”, do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa). Para tal basta apenas realizar o preenchimento do seguinte questionário. De acordo com o Regime Geral de Proteção de Dados Pessoais, toda a informação aqui obtida será utilizada exclusivamente para o presente estudo e de modo privado. Sem mais, agradecendo desde já a sua participação, apresento os melhores cumprimentos,

Eduarda Félix

Nome do Cuidador												
Nome do Animal												
Idade		Espécie		Sexo	F	M	Raça		Esterilizado	S	N	
QUESTÕES												
1	Anteriormente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal tinha história de patologia cutânea/problemas de pele?									S	N	NS
		Se respondeu sim à pergunta 1, passe à pergunta 2										
		Se respondeu não ou não sabe à pergunta 1, passe à pergunta 3										
2	Qual a patologia cutânea/problema de pele previamente diagnosticado? (assinale várias se necessário)											
		Alergia à picada de pulga										
		Alergia alimentar com manifestações cutâneas										
		Alergia ambiental com manifestações cutâneas										
		Atopia / Dermatite atópica										
		Dermatite de contacto / Dermatite causada por substância irritante										
		Demodecose generalizada/Sarna por proliferação de ácaro <i>Demodex</i>										
		Otite crónica										
		Outra. Qual ? _____										
2.1	Com que idade lhe foi diagnosticado o problema de pele?											
2.2	O seu animal foi tratado para esse problema de pele?									S	N	
		Se sim, sabe qual o tratamento realizado?										
2.3	Qual a duração do tratamento?											
2.4	Anteriormente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal foi diagnosticado com outro(s) tumor(es)?									S	N	
		Se sim, qual o tumor?										
3	Previamente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal lambia-se com frequência?									S	N	
		Se sim, em que regiões do corpo? (assinale várias se necessário)										

	Membros / Mãos / Pés		
	Abdómen / Barriga		
	Dorso		
	Outra. Qual?		
3.1	Previamente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal coçava-se com frequência?	S	N
	Se sim, em que regiões do corpo? (assinale várias se necessário)		
	Cabeça		
	Orelhas		
	Membros / Mãos / Pés		
	Abdómen / Barriga		
	Dorso		
	Outra. Qual?		
3.2	Previamente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal esfregava-se no chão, tapetes da casa ou outras superfícies?	S	N
3.3	Previamente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal apresentava zonas de vermelhidão na pele?	S	N
	Se sim, em que regiões do corpo? (assinale várias se necessário)		
	Cabeça		
	Orelhas		
	Membros / Mãos / Pés		
	Abdómen / Barriga		
	Dorso		
	Outra. Qual?		
3.4	Previamente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal sofria de otites recorrentes?	S	N
3.5	Anteriormente ao diagnóstico de mastocitoma, o seu animal foi diagnosticado com outro(s) tumor(es)?	S	N
	Se sim, qual o tumor?		