

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FREQUÊNCIA E INTENSIDADE DE LESÕES GASTRODUODENAIIS EM CÃES
COM MASTOCITOMA CUTÂNEO

Gabriela Reis Ledur

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FREQUÊNCIA E INTENSIDADE DE LESÕES GASTRODUODENAIIS EM CÃES
COM MASTOCITOMA CUTÂNEO

Autor: Gabriela Reis Ledur

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do grau
de mestre em ciências veterinárias na
área de Morfologia, Cirurgia e
Patologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Daniel
Guimarães Gerardi

Coorientador: Prof. Dr. Saulo Petinatti
Pavarini

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Ledur, Gabriela Reis

Frequência e intensidade de lesões
gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo /
Gabriela Reis Ledur. -- 2015.
79 f.

Orientador: Daniel Guimarães Gerardi.
Coorientador: Saulo Petinatti Pavarini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Síndrome paraneoplásica. 2. Neoplasia. 3.
Gastrite. 4. Úlcera gástrica. 5. Duodeno. I. Gerardi,
Daniel Guimarães, orient. II. Pavarini, Saulo
Petinatti, coorient. III. Título.

Gabriela Reis Ledur

FREQUÊNCIA E INTENSIDADE DE LESÕES GASTRODUODENAIIS EM CÃES
COM MASTOCITOMA CUTÂNEO.

Aprovada em 31 de março 2015

APROVADO POR:

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck

Membro da Comissão

Prof. Dr. Cristiano Gomes

Membro da Comissão

Prof. Dr. David Driemeier

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a grande amiga Anelise Bonilla por toda a paciência, carinho e dedicação durante todo o desenvolvimento do experimento e da dissertação. A ela, minha “momy”, agradeço por todos os momentos compartilhados e por ser, sem sombra de dúvidas, um grande motivo de admiração.

Agradeço ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi por me acompanhar desde a graduação estando sempre disponível para me auxiliar tanto no lado profissional como no lado pessoal. A ele todo meu carinho, respeito e admiração pela pessoa e profissional que é.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Saulo Pavarini por toda a ajuda, disponibilidade e atenção em todos os momentos em que o procurei.

À direção do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck e a Prof. Fernanda Amorim, pela compreensão e apoio durante todas as fases de desenvolvimento da pesquisa.

Ao professor Itabajara Vaz e toda a equipe do Laboratório de Imunologia da UFRGS, em especial a Professora Mariana Coutinho, por todos os ensinamentos sobre ELISA, por toda disponibilidade e paciência.

Ao laboratório de Virologia e ao Prof. Cláudio Canal.

A todos meus colegas de trabalho, por toda a compreensão nos momentos em que precisei me ausentar da rotina para desenvolvimento do experimento. Em especial, meu agradecimento as colegas de profissão e amigas Daiane, Fabíola, Aline e Luciana Merini por toda ajuda e carinho comigo nos momentos de impaciência e desespero.

À toda a equipe do ONCOVET e do LacVet, especialmente as médicas veterinárias Luciane Vieira e Luciana Oliveira, Prof. Stela Valle e as residentes Natália e Juliana por estarem sempre dispostas a ajudar.

Ao colega Marcelo Mucillo, pela disponibilidade em anestesiá-los os pacientes sempre que precisei.

A todos os residentes do HCV, especialmente a residente Niesca Goulart e o residente José Herrera por se disponibilizarem sempre que foi preciso.

Aos meus queridos estagiários Yuri e Lúcia por encararem esse trabalho junto comigo.

A amiga Monalisa por todo carinho e disponibilidade para me ajudar sempre que foi necessário

A minha família e a minha irmã por serem sempre meu porto seguro. Ao meu namorado Guilherme por estar sempre comigo me dando todo o apoio emocional que eu precisei.

Por fim, agradeço, especialmente, a minha mãe e ao meu pai pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado e porque sem eles nada disso seria possível.

RESUMO

A síndrome paraneoplásica é definida como um conjunto de sinais e sintomas que acontecem distantes do tumor primário e de suas metástases. Nos mastocitomas, os sinais sistêmicos mais comuns são os sinais gastrintestinais secundários à liberação de histamina, heparina e outras substâncias bioativas contidas no interior dos mastócitos neoplásicos. Em decorrência da ação sistêmica destas substâncias, a ulceração gastrintestinal é a principal síndrome paraneoplásica descrita. Assim, o presente trabalho avalia a ocorrência de lesões gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo no momento do diagnóstico, correlacionando seu aparecimento com a apresentação clínica da doença, aparência macroscópica do tumor, diferentes marcadores prognósticos pré-estabelecidos pela literatura e valores plasmáticos de histamina. Para tal, foram utilizados 41 cães da rotina clínico/oncológica do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) com diagnóstico confirmado de mastocitoma cutâneo. Os animais foram avaliados clinicamente e, posteriormente, foram submetidos à cirurgia para exérese do tumor e exame endoscópico para avaliação do esôfago, estômago e porção proximal do duodeno. Todos os cães foram avaliados quanto a presença e a gravidade dos sinais clínicos, velocidade de crescimento tumoral, número e localização dos nódulos, tamanho tumoral, características macroscópicas do tumor, presença de metástase em linfonodo regional, classificação histopatológica, índice mitótico e valor de histamina plasmática, buscando-se estabelecer uma relação com o surgimento e a gravidade das lesões gástricas e duodenais. A análise macro e microscópica da mucosa gástrica e duodenal, não evidenciou lesões compatíveis com ulceração grave em nenhum dos cães avaliados. A ocorrência de sinais clínicos gastrintestinais foi observada em 41,5% dos casos e padrões inflamatórios, sugestivos de gastrite, foram evidenciados tanto no exame endoscópico quanto no exame histopatológico. Sendo assim, na população estudada, as lesões gastroduodenais observadas foram consideradas leves no momento do diagnóstico e não apresentaram relação estatística com as variáveis estudadas, sugerindo que a heterogenicidade da população possa ter contribuído para os resultados, ou ainda que outros fatores possam influenciar a degranulação dos mastócitos neoplásicos.

Palavras-Chaves: Síndrome paraneoplásica; neoplasia; gastrite; úlcera gástrica; duodeno.

ABSTRACT

Paraneoplastic syndrome is defined as a set of signs and symptoms that are not related to the local effect of the primary tumor or its metastases. Gastrointestinal ulceration is the most common sign attributed to mast cell tumor's paraneoplastic syndrome in dogs. In mastocytoma, release of histamine, heparin, and other bioactive substances by the neoplastic mast cells can lead to increased systemic action of these substances and induce gastrointestinal disturbances. This study aimed to evaluate the occurrence of gastroduodenal lesions in dogs with cutaneous mast cell tumor at the time of diagnosis and correlate them to the clinical presentation of the disease, tumor's macroscopic aspects, neoplastic prognostic markers, and plasmatic histamine values. We evaluated 41 dogs with cutaneous mast cell tumor diagnosed at the oncology service of the Veterinary Hospital of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS-HCV). After clinical examination, as the animals underwent surgery to remove the tumor and endoscopy to evaluate the esophagus, stomach and proximal duodenum was performed. Presence and severity of clinical signs, neoplasms macroscopic characteristics, tumor size, number and location of neoplastic masses, tumor growth rate, presence of regional lymph node metastasis, histopathological classification, mitotic index, and plasmatic histamine concentration were determined and correlated with gastroduodenal endoscopic findings. The macro and microscopic analyses of the gastric and duodenal mucosa showed no lesions compatible with ulceration in any of the patients. The occurrence of gastrointestinal clinical signs was observed in 41.5% of cases and inflammatory patterns, suggestive of gastritis were evidenced in both endoscopic and histopathological examination; however, its correlation with the presence of mast cell tumor could not be established. Therefore, in this population, gastroduodenal lesions observed were considered mild at diagnosis and had no relation with the variables analyzed, suggesting that the heterogeneity of the population may have contributed to the results or that other factors may influence the degranulation of mast cells neoplastic.

Key Words: *paraneoplastic syndrome; neoplasia; gastritis; stomach ulcer; duodenum.*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Ilustração esquemática do c-Kit. Adaptado de Lennartsson et al. (2005)..... 20
- Figura 2 -** Características macroscópicas de diferentes graus histológicos do mastocitoma cutâneo. A- Nódulo de aproximadamente 24 cm, estendendo-se desde a lateral ventral esquerda até o abdômen em um cão SRD, macho, 11 anos. Observa-se intensa hemorragia local e regiões de ulceração e necrose. B – Nódulo de consistência macia, aproximadamente cinco centímetros, aderido, em região plantar de membro pélvico esquerdo, dorsal aos coxins em cão SRD, fêmea, sete anos. Observa-se edema peritumoral e edema generalizado do membro acometido. C – Nódulo pendular, de aproximadamente 13 cm em região do flanco esquerdo em cão SRD, macho, 10 anos. Observa-se intensa hiperemia regional e aumento de temperatura local..... 42
- Figura 3 -** Imagens de endoscopia digestiva alta para pesquisa de lesões gastrintestinais em cães com mastocitoma. A) Imagem endoscópica evidenciando lesões hemorrágicas puntiformes (setas) distribuídas na região do corpo gástrico, próximo a curvatura menor em um cão, SRD, com oito anos de idade com sinais gastrite e desconforto abdominal. B) Imagem endoscópica de irregularidade e espessamento na mucosa antral gástrica de um cão, SRD, com nove anos de idade e ausência de sinais gastrintestinais. C) Imagem endoscópica evidenciando lesões hemorrágicas (seta) na região do antro gástrico em cão, SRD, fêmea, oito anos com sinais de vômito, apatia e hiporexia D) Imagem endoscópica evidenciando lesões hemorrágicas (seta), distribuídas de forma difusa na região do antro gástrico em cão, da raça Boxer, com nove anos de idade, apresentando nódulo único de mastocitoma cutâneo e ausência de sinais clínicos gastrointestinais..... 44
- Figura 4 -** Alterações histopatológicas em estômagos de caninos com mastocitoma. A. Hemorragia focal em mucosa. HE, 100x. B. Infiltrado linfocitário nodular em mucosa. HE, 100X. C. Inúmeras estruturas bacterianas, envoltas por material mucoso na superfície da mucosa. HE, 400X. D. Maior aumento evidenciando o formato helicoidal das estruturas bacterianas (compatível com *Helicobacter* sp.). HE, 1000X..... 46
- Figura 5 -** Representativa do número de cães com presença de sinais gastrintestinais (n=17), presença de lesão gástrica (n=29) e valor de histamina plasmática elevado (n=11)..... 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Classificação histopatológica dos mastocitoma segundo critérios estabelecidos por Patnaik et al. (1984).....	28
Tabela 02 - Classificação histopatológica dos mastocitoma segundo critérios de Kiupel et al. (2011).....	29
Tabela 03 - Escala para avaliação dos sinais clínicos gastrintestinais nos pacientes com mastocitoma cutâneo.....	32
Tabela 04 - Sistema de estadiamento clínico para mastocitoma canino, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS).....	34
Tabela 05 - Raças dos cães incluídos no estudo.....	39
Tabela 06 - Alterações macroscópicas da mucosa gástrica observadas durante procedimento gastroscópico.....	44
Tabela 07 - Alterações macroscópicas da mucosa duodenal.....	45
Tabela 08 - Alterações histológicas das amostras do estômago.....	46
Tabela 09 - Alterações histológicas das amostras do duodeno.....	47
Tabela 10 - Comparação dos valores de histamina plasmática entre cães com mastocitoma (n=40) e os cães do grupo controle (n=18).....	48
Tabela 11 - Descrição e comparação do percentual de sinais intestinais nas diferentes variáveis avaliadas.....	49
Tabela 12 - Descrição e comparação dos pacientes com e sem lesão gástrica nas diferentes variáveis avaliadas.....	50
Tabela 13 - Comparação dos valores de histamina entre as diferentes variáveis avaliadas.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Aumento da granulidade da mucosa
AgNOR	<i>Argyrophilic nucleolar organiser region</i>
ALT	Aspartato Aminotransferase
CAAF	Citologia Aspirativa por Agulha Fina
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
Cm	Centímetros
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EM	Edema de mucosa
ER	Esofagite de Refluxo
GC	Grupo controle
GI	Gaстрintestinal
GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
H	Hora
HCV	Hospital de Clínicas Veterinárias
HE	Hematoxilina/eosina
HG	Hiperemia Generalizada de mucosa
HR	Hiperemia Regional de mucosa
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IM	Índice mitótico
i.m	Intramuscular
i.v	Intravenoso
Kg	Quilograma
L	Litro
LPH	Lesões hemorrágicas puntiformes
MCT	Mastocitoma
ME	Mucosa erosiva
MF	Mucosa friável
Mg	Miligrama
MI	Mucosa irregular
Min.	Minuto
mL	Mililitro

NaCL	Solução de cloreto de sódio
Ng	Nanogramas
OMS	Organização Mundial de Saúde
P	Pólipo
PCNA	<i>Proliferating cell nuclear antigen</i>
PPE	Placas de Peyer Evidentes
RPM	Rotações por minuto
SC	Subcutâneo
SCF	<i>Stem Cells Factor</i> (Fator de células tronco)
SRD	Sem Raça Definida
TA	Temperatura ambiente
TGI	Trato gastrointestinal
TMB	3,3',5,5' tetrametilbenzidina
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
μL	Microlitros
μm	Micrómetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3. 1 Mastócito	17
3.2 Mastocitoma cutâneo canino	19
3.2.1 Aspectos Epidemiológicos	19
3.2.2 Etiopatogênia	19
3.2.3 Apresentação clínica	21
3.3 Síndromes paraneoplásicas e complicações relacionadas à degranulação dos mastócitos	22
3.3.1 Ulceração gastrintestinal	23
3.3.2 Concentração plasmática de histamina	24
3.4 Diagnóstico	25
3.4.1 Citologia	25
3.4.2 Outras avaliações diagnósticas	25
3.5 Estadiamento clínico	27
3.6 Avaliação histológica	28
3.7 Índice mitótico	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 Animais	31
4.2 Critérios de inclusão	31
4.3 Avaliação clínica geral	31
4.4 Avaliação clínica tumoral	32
4.5 Estadiamento tumoral	33
4.6 Preparação pré-operatória e anestesia	34
4.7 Procedimento endoscópico e cirúrgico	35
4.8 Procedimentos pós-operatórios	35

4.9 Avaliação Microscópica	36
4.9.1 Classificação histológica do mastocitoma	36
4.9.2 Índice mitótico	36
4.9.3 Classificação histológica da mucosa gastroduodenal	37
4.9.4 Preparação das amostras e dosagem de histamina plasmática	37
4.10 Análise estatística	38
5 RESULTADOS	39
5.1 Animais	39
5.2 Sinais clínicos gastrintestinais	40
5.3 Avaliação clínica do mastocitoma	40
5.4 Estadiamento tumoral	42
5.5 Classificação histológica do mastocitoma	42
5.6 Índice mitótico	43
5.7 Achados endoscópicos	43
5.8 Avaliação histológica da mucosa gástrica e duodenal	45
5.9 Pesquisa de <i>Helicobacter</i> sp.	47
5.10 Concentração plasmática de histamina	47
5.11 Relação entre as variáveis estudadas e a presença dos sinais clínicos, lesões gastroduodenais e valores plasmáticos de histamina	48
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÃO	63
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXO 1 (Carta de aprovação pela comissão de ética no uso de animais).....	75
APÊNDICE 1 (Termo de compromisso livre e esclarecido).....	76
APÊNDICE 2 (Achados endoscópicos separados por região (esôfago, estômago, duodeno) de cada paciente).....	79

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão amplo com inúmeras funções, entre elas a de proteção do organismo. Por ser um órgão de fácil visualização e observação, as neoplasias de pele são as mais diagnosticadas em cães e gatos, representando aproximadamente 30% e 20% dos tumores, respectivamente (RODASKI & WERNER, 2009). Nos cães, o mastocitoma é o tumor de pele mais diagnosticado, correspondendo entre 16 e 21% de todas as neoplasias cutâneas (LONDON & THAMM, 2013).

Os sinais clínicos decorrentes da presença do mastocitoma podem estar diretamente relacionados aos grânulos citoplasmáticos secretórios, presentes no citoplasma dos mastócitos neoplásicos, que contém substâncias biologicamente ativas, tais como a histamina, heparina e outras enzimas proteolíticas (ROGERS et al., 1996). A degranulação e liberação do conteúdo destes grânulos pode ser desencadeada por eventos imunológicos, químicos, neurológicos ou físicos (VAN GELDEREN et al., 2011), sendo esta liberação responsável por sintomas como ulceração e/ou perfuração gastroduodenal, choque hipotensivo, anormalidades na coagulação, cicatrização retardada de feridas, ulceração, hiperemia e edema no local da lesão cutânea (FOX et al., 1990; ISHIGURO, 2003).

A ulceração gastroduodenal é uma complicação importante nos mastocitomas e tem sido relatada em diversas espécies, sendo mais frequentemente diagnosticadas no estômago e com menor frequência no duodeno. Geralmente se apresentam como lesões múltiplas que podem variar desde erosões puntiformes até amplas perfurações. Em estudo *post mortem*, observou-se elevada incidência (83%) de ulceração gastroduodenal em região fúndica, piloro e segmentos anteriores do duodeno em cães com mastocitoma. Em 15% dos casos essas úlceras estavam perfuradas (HOWARD et al., 1969).

Sabe-se que o mecanismo de ulceração gastrointestinal está relacionado a degranulação dos mastócitos neoplásicos e, conseqüente aumento dos níveis sanguíneos de histamina (FOX et al., 1990; DALECK et al., 2009). A concentração de histamina no mastocitoma cutâneo canino varia consideravelmente dependendo da celularidade e do grau de anaplasia celular (HOWARD et al., 1969). Segundo Ishiguro et al. (2003), o nível de histamina plasmática não é maior em cães portadores de mastocitoma quando comparados a cães saudáveis, contudo, tal concentração tende a aumentar

significativamente com o avançar da doença, contribuindo então para o aparecimento dessas lesões e, conseqüentemente, para um pior prognóstico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar a frequência e a intensidade de lesões gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo no momento do diagnóstico.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar se existe relação entre a presença e a gravidade dos sinais clínicos e lesões gastroduodenais com a velocidade de crescimento tumoral, estadiamento clínico, número e localização dos nódulos, tamanho tumoral, características macroscópicas do tumor, presença de metástase em linfonodo regional, classificação histológica segundo proposto por Patnaik et al. (1984) e Kiupel et al. (2011), índice mitótico e valor de histamina plasmática em caninos com mastocitoma cutâneo no momento do diagnóstico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Mastócito

Os mastócitos são células de origem hematopoiética de longa vida que mantêm a capacidade de proliferar após a maturação (ZAPPULLA et al., 2002). São derivados de progenitores hematopoiéticos CD34+ na medula óssea e iniciam sua diferenciação sob influência do fator de células tronco (SCF- *stem cells factor*) e da interleucina 3 (IL-3). Da medula óssea, migram para os tecidos periféricos, onde se diferenciam *in situ*, não sendo geralmente encontrados na circulação (ROBBIE-RYAN & BROWN, 2002; CRUVINEL et al., 2010). O crescimento e a maturação dos mastócitos dependem de diversos fatores, dentre eles: origem do tecido, uso de células mononucleares ou CD34+ como população inicial ou uso de SCF combinado a outras citocinas (KIRSHENBAUM, 2000).

Os precursores dos mastócitos são, particularmente, abundantes em áreas de contato com o meio externo. Frequentemente, migram da circulação para tecidos periféricos, onde se distribuem junto aos vasos sanguíneos, nervos e sob o epitélio da pele e das mucosas, (KAWAKAMI & GALLI, 2002; CRUVINEL et al., 2010). Os mastócitos são residentes normais de muitos tecidos, incluindo medula óssea, linfonodos e a pele. A

pele normal do cão contém 4 a 12 mastócitos por campo de maior aumento (BENIGNO et al., 2000). São mais numerosos no pavilhão auricular e no focinho (AUXILIA & HILL, 2000), localizando-se, principalmente, na derme e na junção dermo-epidérmica (NOVIANA et al., 2004). Em aspirados de linfonodos de cães saudáveis foram encontrados 1 a 16 mastócitos por lâmina (POHLMAN, 2010).

O mastócito maduro é uma célula relativamente grande, fusiforme, poligonal ou oval, sendo sua morfologia dependente da sua localização (YONG, 1997). São células mononucleadas de 8 a 20 μm de diâmetro e núcleo redondo centralizado ou ligeiramente descentrado (AROK, 2004). Seu citoplasma levemente eosinofílico tem a composição normal em organelas, mas a sua característica mais evidente é a presença de grânulos citoplasmáticos que contém numerosos mediadores inflamatórios que são liberados quando estimulados (THARP & LONGLEY, 2001). Os grânulos usualmente ocupam 50 a 55% do seu citoplasma (YONG, 1997) e no interior de cada grânulo estão contidas substâncias biologicamente ativas como histamina, heparina, dopamina, prostaglandinas e diferentes interleucinas (POHLMAN, 2010). Diferenças na resposta, na morfologia e nos tamanhos dos grânulos ocorrem em mastócitos da mesma subpopulação (ZAPPULLA et al., 2002) e, diferenças na quantidade de triptase e quimase são observadas nos mastócitos de diversos locais do organismo de animais domésticos (SHIMIZU et al., 2001).

Os mastócitos intervêm nos mecanismos de defesa, em particular nas reações inflamatórias (POHLMAN, 2010). Apresentam em sua superfície, receptores de alta afinidade, denominados Fc ϵ RI, ligados a moléculas de IgE. No entanto, estímulos como produtos da ativação do complemento, substâncias básicas (como alguns venenos), certos neuropeptídios, diversos agentes físicos (trauma mecânico, calor e frio), podem ativar os mastócitos independentemente da ligação a IgE. Após estímulo, ocorre degranulação e liberação de mediadores pré-formados, como aminas vasoativas, proteases, heparina, IL-4, TNF- α e GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*) seguida da liberação de mediadores neoformados, incluindo fator ativador de plaquetas, derivados do ácido araquidônico e citocinas (LONDON & SEGUIN, 2003; CRUVINEL et al., 2010). A liberação desses mediadores induz a migração de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos), aumento da permeabilidade vascular, secreção de muco, aumento da motilidade gastrointestinal e broncoconstrição, constituindo sintomas de alergia e anafilaxia (METCALFE, 2008).

3.2 Mastocitoma cutâneo canino

3.2.1 Aspectos Epidemiológicos

O mastocitoma é a neoplasia de pele mais comum em cães. Sua incidência varia entre 16 e 21% de todos os tumores cutâneos nesta espécie (BOSTOCK, 1986; GROSS, 1992; LONDON & THAMM, 2013). Em geral são encontrados em cães idosos com idade aproximada de oito a nove anos e não apresenta predileção sexual (GIERGER et al., 2003; MISDORP et al., 2004, DALECK et al., 2009).

A maioria dos nódulos ocorre em caninos sem raça definida (LONDON & THAMM, 2013), entretanto, várias raças parecem apresentar uma maior predisposição ao desenvolvimento desta neoplasia, incluindo: Boxer, Boston Terrier, English Bulldog, Labrador e Golden Retrievers, Cocker Spaniel, Schanuzer, Teckel e Shar-pei chinês (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; BAKER-GABB et al., 2003).

3.2.2 Etiopatogênia

A etiologia do mastocitoma e a razão para sua elevada incidência ainda são desconhecidas. Entretanto, assim como para a maioria das neoplasias, sua etiologia é provavelmente multifatorial (LONDON, 2004; WELLE et al., 2008).

Historicamente, sugere-se uma associação entre os mastocitomas e inflamação crônica ou aplicação de substâncias irritantes à pele (GOVIER, 2003; LONDON & THAMM, 2013). A maior incidência do mastocitoma canino em certas raças sugere possível causa de base genética. Acredita-se que a transmissão hereditária dos genes que predispõe a essa neoplasia possa ocorrer em certas raças, porém o desenvolvimento do tumor propriamente dito está relacionado a outros fatores, como agentes carcinogênicos e infecções virais (DALECK et al., 2009).

As mudanças genéticas que predispõe ao desenvolvimento do mastocitoma são pouco compreendidas. Alterações na via supressora do tumor p53 e nas proteínas p21 e p27 foram identificadas em alguns mastocitomas (WU et al., 2004). Receptores para estrógeno e progesterona também foram identificados no citossol de células neoplásicas, todavia seu papel na etiopatogênia ainda é pouco compreendido (MACY, 1986). Alguns estudos sugerem uma possível causa viral, entretanto não há evidência epidemiológica que indique uma transmissão horizontal (ROGERS, 1996; LONDON & THAMM, 2013).

Atualmente, sugere-se que anomalias no sistema c-kit/SCF (*stem cells factor*) podem estar relacionadas às proliferações mastocitárias em humanos e animais (KITAYAMA et al., 1996). O fator de células-tronco (SCF) é um importante fator de crescimento para os mastócitos. O receptor para o SCF, codificado pelo proto-oncogene c-kit, é denominado KIT (DALECK et al., 2009). O receptor c-kit é uma proteína transmembranar constituída por um domínio extracelular, contendo 5 pontes semelhantes a imunoglobulina (que se liga ao SCF), um domínio transmembranar, um domínio justamembranar regulador e um domínio citoplasmático dependente da atividade da tirosina kinase (Figura 1) (WEBSTER et al., 2006a, WEBSTER et al., 2006b, LENNARTSSON et al., 2005).

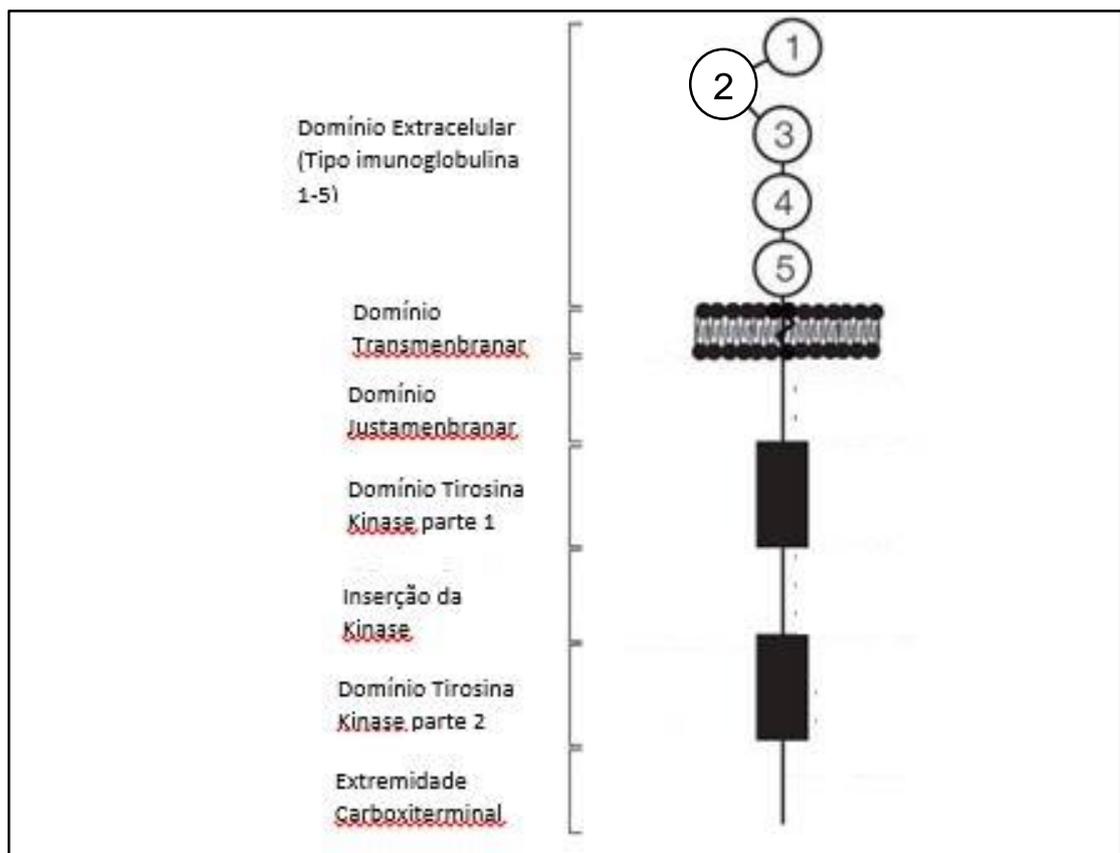


Figura 1: Ilustração esquemática do c-Kit. Adaptado de Lennartsson et al. 2005

A ativação do c-kit pelo SCF desencadeia um série de eventos: dismerização e ativação do c-Kit, associação do c-Kit à certas proteínas citoplasmáticas e fosforilação de outras no citossol que, por sua vez, iniciam uma cascata de sinalização. Essa cascata de sinalização leva à varias respostas celulares incluindo: proliferação, migração, maturação

e sobrevivência das células tronco hematopoiéticas e linhagens de células germinativas (HILL & MARTIN, 1998). Pouco se sabe como as mutações no proto-oncogene c-kit, caracterizadas por duplicações em tandem envolvendo os exons 11 e 12 (ZEMKE et al., 2001) ou deleção de um nucleotídeo no exon 11, (REGUERA et al., 2002; RIVA et al., 2005) acabam por afetar o domínio justamembranar (DOWNING et al., 2002; REGUERA et al., 2002), tornando o c-kit permanentemente ativo (ZEMKE et al., 2001; ZAVODOVSKAYA et al., 2004; GLEIXNER et al., 2007). Vários estudos demonstraram que entre 15 a 40% de todos os mastocitomas caninos são afetados por essas mutações no sistema c-kit/SCF (DOWNING et al., 2002; WEBSTER et al., 2006b; WEBSTER et al., 2007).

3.2.3 Apresentação clínica

A grande maioria dos mastocitomas acontece na derme e nos tecidos subcutâneos (WELLE et al., 2008; LONDON & THAMM, 2013). Geralmente se apresentam como nódulos solitários, embora 11 a 14% dos cães possam apresentar múltiplas lesões (MULLINS et al., 2006). Têm uma aparência macroscópica variável, surgindo como neoformações ou placas alopecicas, eritematosas e edematosas e, por esse motivo, são conhecidos como "grandes imitadores" uma vez que podem mimetizar diversos tipos de lesões (MURPHY 2007). Seu tamanho pode variar desde alguns milímetros a vários centímetros (GROSS et al., 2005).

Uma relação entre o aspecto clínico e o grau de diferenciação histológica pode ser observada (BOSTOCK & DYE, 1973). Mastocitomas bem diferenciados são usualmente solitários, com diâmetro variando entre 1 a 4 centímetros, apresentam crescimento lento (pelo menos 6 meses), não são ulcerados e tem consistência amolecida (LONDON & SEGUIM, 2003; THAMM & VAIL, 2007). Os mastocitomas indiferenciados, pode-se dizer que apresentam um crescimento rápido, geralmente são ulcerados e os tecidos adjacentes exibem eritema ou edema (GOVIER, 2003), além de poder desenvolver pequenos nódulos satélites em tecidos circunvizinhos (THAMM & VAIL, 2007).

Os mastocitomas apresentam-se nas formas cutânea e extracutânea, sendo sua variante cutânea a mais comum. Na sua forma cutânea, aproximadamente 50% dos mastocitomas localizam-se no tronco, abdômen (KIUPEL et al., 2005; FULCHER et al., 2006) e nas regiões perineal, inguinal e genital (DALECK et al., 2009), 40% nos membros

(LONDON & SEGUIM, 2003; KIUPEL, 2005) e 10% na cabeça e no pescoço (KIUPEL et al., 2005; FULCHER et al., 2006). Na sua forma extracutânea, o mastocitoma pode atingir qualquer órgão que contenha mastócitos. Dentre sítios já descritos, pode-se citar: a laringe (BEAUMONT et al., 1976), a glândula salivar (CARBERRY et al., 1987), a traqueia (HARVEY & SYKES 1982), a hipófise (ECKERSLEY et al., 1989), o pulmão (DEAN, 1998), a mucosa intestinal (IWATA et al., 2000), a cavidade nasal (NAGANOBU et al., 2000), a conjuntiva (BARSOTTI et al., 2007), a órbita (GRAHN et al., 1994), a terceira pálpebra (HALLSTROM, 1970), a medula espinhal (MOORE et al., 2002) e a uretra (STEFFEY et al., 2004). A forma visceral do mastocitoma, também denominada de mastocitoma sistêmico ou mastocitose pode ocorrer em cães e normalmente é precedida de uma lesão cutânea primária indiferenciada e, nesse caso, as principais alterações observadas são linfadenopatia, esplenomegalia, hepatomegalia e efusão peritoneal e pleural (THAMM & VAIL, 2007; DALECK et al., 2009).

3.3 Síndromes paraneoplásicas e complicações relacionadas à degranulação dos mastócitos

As síndromes paraneoplásicas são definidas como um conjunto de sinais e sintomas que ocorrem distante do tumor ou de suas metastases, e que não são causadas por invasão, obstrução ou efeito da neoplasia (DALECK et al., 2009). Os mastócitos malignos contêm 25 a 50 vezes mais histamina que os mastócitos normais (MACY, 1985). Por esse motivo, rotineiramente, os cães com mastocitoma cutâneo são avaliados devido a sinais clínicos secundários a liberação de mediadores, tais como histamina, heparina e outras aminas vasoativas, contidos nos grânulos citoplasmáticos no interior dos mastócitos (O'KEEFE, 1990; DALECK et al., 2009; LONDON & THAMM, 2013).

Complicações relativas à liberação desses mediadores que, por vezes, levam a um agravamento do histórico e da apresentação clínica da doença, podem ocorrer em mais da metade dos cães acometidos (O'KEEFE, 1990; LONDON & THAMM, 2013).

Diversos são os efeitos associados à liberação destes mediadores inflamatórios, dentre eles podemos citar: as glomerulonefrites, o aumento nos tempos de coagulação (OLIVEIRA et al., 2008), o retardo na cicatrização, o choque anafilático (O'KEEFE, 1990) e ulceração gastroduodenal (HOWARD, 1969; FOX, 1990). Ocasionalmente, a manipulação mecânica do tumor durante exame físico pode estimular a degranulação,

levando a formação de pápula eritematosa nos tecidos circunjacentes. Este fenômeno conhecido como sinal de Darier também pode ocorrer de forma espontânea (LONDON & THAMM, 2013). A hemorragia local é, frequentemente, observada durante excisão cirúrgica devido a problemas na coagulação secundários à liberação de heparina, podendo ocorrer mesmo na presença de tempos de coagulação normais (DALECK et al., 2009; LONDON & THAMM, 2013).

3.3.1 Ulceração gastrintestinal

Dentre as diversas síndromes paraneoplásicas, a ulceração gastrintestinal é uma complicação grave e comum dos mastocitomas (HOWARD et al., 1969; BLACKWOOD et al., 2012). As úlceras ocorrem mais frequentemente no estômago e menos no duodeno, são usualmente múltiplas e podem variar desde erosões puntiformes a amplas perfurações. Em estudo *post-mortem*, 83% dos cães com mastocitoma apresentaram ulceração gastroduodenal na região fúndica, piloro e segmento anterior do duodeno e, em 15% destes casos, haviam úlceras intestinais perfuradas (HOWARD et al., 1969).

O mecanismo de ulceração gastrintestinal ainda não está completamente elucidado, entretanto parece estar relacionado ao aumento dos níveis sanguíneos de histamina em decorrência da degranulação dos mastócitos neoplásicos. Elevadas concentrações plasmáticas de histamina foram encontradas em cães com mastocitoma (FOX et al., 1990; VAN GELDEREN et al., 2011) e, informações preliminares, sugerem que a monitoração da concentração plasmática de histamina pode ser uma ferramenta útil no acompanhamento da progressão da doença (ISHIGURO et al., 2003; VAN GELDEREN et al., 2011).

Os níveis elevados de histamina promovem estímulo dos receptores H₂ das células parietais, produção excessiva de ácido clorídrico e aumento da motilidade gástrica (DALECK et al., 2009; VAN GELDEREN et al., 2011). A hiperhistaminemia também pode causar danos ao endotélio vascular, com liberação de fibrolisina e, conseqüente dano aos vasos sanguíneos da submucosa gástrica mediante dilatação de vênulas e capilares e aumento da permeabilidade endotelial. Como consequência destas alterações, pode-se observar trombose intravascular e necrose isquêmica da mucosa (FOX et al., 1990; DALECK et al., 2009). Nestes pacientes, observa-se também que a concentração plasmática de gastrina está diminuída em resposta a elevada concentração de ácido

clorídrico (*feedback* negativo). Além disso, a gastrina, que tende a bloquear os efeitos da histamina, está presente em baixas concentrações em mastócitos malignos indiferenciados (FOX et al., 1990; DALECK et al., 2009).

Deste modo, sugere-se que a patogênese da ulceração gastrointestinal possa decorrer da combinação entre dano vascular, aumento na produção de ácido gástrico e hipermotilidade. Em consequência, os sinais clínicos associados à degranulação dos mastócitos, repercutindo em vômitos, anorexia, diarreia, melena, dor abdominal, anemia ferropriva, perfuração gástrica e peritonite, além de choque anafilático, podem estar presentes (ROGERS, 1996; DALECK et al., 2009; VAN GELDEREN et al., 2011; NATIVIDADE et al., 2014).

Normalmente, os cães com apresentação mais disseminada ou agressiva da doença (tumores maiores, doença metastática, maior índice mitótico, animais com ocorrência de recidivas) parecem ser mais susceptíveis ao desenvolvimento destes sinais sistêmicos secundários à liberação destes mediadores (WELLE et al., 2008; BLACKWOOD et al., 2012; LONDON & THAMM, 2013; NATIVIDADE et al., 2014).

3.3.2 Concentração plasmática de histamina

A hiperhistaminemia é considerada o principal fator envolvido com as úlceras gastrintestinais (ISHIGURO et al., 2003). A concentração de histamina varia consideravelmente nos mastocitomas caninos dependendo da sua celularidade e do grau de anaplasia celular (HOWARD et al., 1969). Segundo estudo realizado por Fox et al. (1990) o valor plasmático de histamina foi significativamente maior em cães portadores de mastocitoma do que nos cães saudáveis, entretanto nenhuma relação foi estabelecida entre o estágio da doença, gradação histológica ou tamanho do tumor. Em outro estudo, cães com mastocitoma não apresentaram valores plasmáticos de histamina superiores, contudo um aumento progressivo na concentração plasmática de histamina que acabou culminando com quadros de hiperhistaminemia, foi notado em aproximadamente 63% dos cães (7 dos 11 cães). Destes sete cães, todos apresentaram um agravamento dos sintomas e morreram em decorrência da doença, de maneira que a concentração plasmática da histamina foi considerada um fator relacionado à progressão da doença em cães (ISHIGURO, 2003).

3.4 Diagnóstico

Devido ao seu comportamento biológico bastante variável, um diagnóstico preciso torna-se essencial tanto para se estabelecer um prognóstico como para se estabelecer a melhor conduta terapêutica (DOBSON & SCASE, 2007). A avaliação diagnóstica de pacientes com suspeita de mastocitoma deve ter como base: (1) diagnóstico definitivo obtido com auxílio de exame histológico; (2) estadiamento clínico e (3) avaliação de sinais clínicos decorrentes de síndrome paraneoplásica (WELLE et al., 2008).

3.4.1 Citologia

A citologia realizada pelo método de citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) é um método fácil e barato que deve ser feito antes da cirurgia, pois o diagnóstico pré-operatório do mastocitoma irá influenciar no tipo e na extensão da intervenção cirúrgica (GOVIER, 2003; DOBSON & SCASE, 2007). De modo geral, o exame citológico em caninos com mastocitoma, fornece um diagnóstico preciso em 92 a 96% dos casos (BAKER-GABB et al., 2003; THAMM & VAIL, 2007), entretanto a biópsia é imperativa para obtenção do grau histológico do tumor (LONDON & SEGUIN, 2003).

Na citologia, com a utilização da coloração padrão de hematoxilina/eosina (HE) ou Romanowsky, os mastócitos aparecem como células de tamanhos variáveis (de pequeno a médio), com núcleo redondo/oval centralizado ou levemente descentralizado e com abundante quantidade de grânulos citoplasmáticos, que podem, por vezes, dificultar a visualização. Adicionalmente, mastócitos indiferenciados podem conter pouco ou nenhum grânulo citoplasmático, de maneira que, colorações especiais, como azul de toluidina ou giemsa possam ser necessárias para estabelecer o diagnóstico diferencial de outros tumores de células redondas tais como linfoma, plasmocitoma, histiocitoma, melanoma amelanótico e tumor venéreo transmissível (LONDON & SEGUIN, 2003; LONDON & THAMM, 2013).

3.4.2 Outras avaliações diagnósticas

Devido ao seu comportamento biológico variável e elevado potencial metastático, deve-se proceder uma avaliação diagnóstica completa em todos os pacientes com mastocitoma. Como perfil mínimo obrigatório para se obter um estadiamento pré-

cirúrgico, sugere-se a ultrassonografia abdominal e a CAAF do linfonodo regional (GOVIER, 2003; GIEGER et al., 2003; LONDON & THAMM, 2013).

A avaliação dos linfonodos regionais quanto a possíveis alterações em seu tamanho e consistência é recomendada e, mesmo quando considerados normais, sempre que possível, devem ser aspirados para avaliação citológica (LONDON & SEGUIN, 2003; BLACKWOOD et al., 2012). A interpretação da citologia é sempre um desafio, pois mastócitos podem ser encontrados em linfonodos saudáveis (DOBSON & SCASE, 2007; MARCONATO et al., 2008).

Krick e colaboradores (2009), buscaram estabelecer critérios para diferenciação entre linfonodos metastáticos e reativos em citologias de cães com mastocitoma. Atualmente, recomenda-se que a metástase no linfonodo seja diagnosticada quando a população de mastócitos encontrada no aspirado seja superior à 3%. Contudo, mesmo em se considerando tal critério, mais de 25% de diagnósticos falsos positivos podem ocorrer, sugerindo-se desta forma que os animais suspeitos de metástase tenham os linfonodos removidos e submetidos à análise histológica (BOOKBINDER et al., 1992).

A avaliação ultrassonográfica da cavidade abdominal é de grande importância, pois metástases para o fígado ou baço, bem como para outras estruturas abdominais são frequentemente, evidenciadas. A citologia dos achados ultrassonográficos suspeitos no baço, no fígado e nos linfonodos é recomendada sempre que possível, contudo, devido a presença de mastócitos não neoplásicos nestes órgãos, sua avaliação também se torna difícil e, muitas vezes insatisfatória (LONDON & THAMM, 2013).

Recentemente, tem-se avaliado a importância e a validade da punção aspirativa de órgãos abdominais considerados ultrassonograficamente normais. Segundo Book et al. (2011) a punção aspirativa do baço e do fígado deve ser feita de maneira rotineira em todos os pacientes com mastocitoma, considerados sob alto risco de metástase, mesmo frente a achados de imagem normais. Além disso, os mesmos autores também recomendam que a citologia aspirativa seja feita sempre que houver a presença de fatores prognósticos negativos, tais como linfonodos metastáticos e/ou presença de sinais clínicos.

No que tange a metástase pulmonar, pode-se dizer que os mastocitomas raramente metastizam para os pulmões, entretanto radiografias torácicas são sempre indicadas para realização de estadiamento tumoral adequado (LONDON & SEGUIN, 2003; WELLE et

al., 2008). Quando a metástase pulmonar ocorre, um infiltrado intersticial é mais comum do que as metástases nodulares (LONDON & THAMM, 2013). Anormalidades já relatadas como resultado de metástase para os pulmões incluem: linfadenopatia, efusão pleural e massas mediastinais anteriores (O'KEEFE et al., 1987; LONDON & SEGUIN, 2003; LONDON & THAMM, 2013).

Atualmente, a avaliação rotineira da medula óssea e de esfregaços sanguíneos do sangue periférico não são mais recomendados, pois a grande maioria dos pacientes portadores de mastocitoma cutâneo não apresentam mastócitos circulantes ou evidência de infiltrado de mastócitos neoplásicos na medula. O envolvimento do sangue periférico ou da medula óssea é improvável na ausência da doença no linfonodo regional ou em órgãos abdominais (DOBSON & SCASE, 2007; LONDON & THAMM, 2013).

3.5 Estadiamento clínico

O estadiamento clínico deve ser realizado em todos os caninos afim de delinear a melhor opção terapêutica, bem como avaliar a extensão e o prognóstico da doença (DALECK et al., 2009; LONDON & THAMM, 2013). O sistema de estadiamento clínico proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que define quatro estádios de acordo com a dimensão, número de nódulos, envolvimento linfático e presença de metástases a distância, é amplamente utilizado em associação ao grau histológico para auxiliar no prognóstico e na seleção da terapia (GOVIER, 2003; DOBSON & SCASE, 2007; MARCONATO et al., 2008; LONDON & THAMM, 2013).

Atualmente, tem-se questionado a utilidade desta classificação, pois o aumento do estádio (0 a 4) não significa, necessariamente, um pior prognóstico (DALECK et al., 2009; BLACKWOOD et al., 2012; LONDON & THAMM, 2013). Neste sentido, pode-se dizer que um dos maiores questionamentos está no estádio III, pois de acordo com a classificação proposta pela OMS, a apresentação nodular múltipla e a apresentação infiltrativa são ambas classificadas como estádio III, apesar de vários estudos não sugerirem um pior prognóstico para pacientes com múltiplos nódulos quando comparados aos pacientes com nódulos únicos com mesmo grau histológico (MURPHY et al., 2006; O'CONNELL & THOMSON 2011).

3.6 Avaliação histológica

Embora nem sempre seja capaz de prever o comportamento de cada tumor, a classificação histológica ainda é considerada o parâmetro mais consistente e confiável para estabelecimento do prognóstico em cães portadores de mastocitoma. (LONDON & SEGUIN, 2003; OLIVEIRA, 2008; LONDON & THAMM, 2013; SABATTINI et al., 2014). Histologicamente, os mastocitoma são classificados de acordo com o grau de diferenciação celular e a natureza do estroma produzido pelas células neoplásicas (DALECK et al., 2009).

Neste sentido dois sistemas de classificação foram propostos. O primeiro deles foi proposto por Patnaik et al. (1984), usa uma combinação entre localização tumoral e diferenciação celular. Este sistema define os tumores de grau I como sendo bem diferenciados e com bom prognóstico. Os tumores grau I representam cerca de 30 a 55% de todos os mastocitomas, são considerados benignos e a cirurgia geralmente é curativa; os tumores de grau III são fracamente diferenciados e com mau prognóstico. Representam cerca de 20 a 40% dos mastocitomas e frequentemente se comportam de maneira agressiva e metastática. Já os mastocitomas de grau II com diferenciação intermédia e prognóstico intermédio, representam cerca de 25 a 45% dos mastocitomas. Apresentam um comportamento variável e frequentemente fazem metástase para o linfonodo regional bem como para órgãos mais distantes (Tabela 01). Tal classificação apresenta uma grande variação interobservador, particularmente para o grau intermediário, no qual a subjetividade da avaliação promove marcada discrepância entre diferentes autores (BOSTOCK, 1986; LONDON & SEGUIN, 2003; NORTHRUP et al., 2005; SABATTINI et al., 2014).

Tabela 01 - Classificação histológica dos mastocitomas segundo critérios estabelecidos por Patnaik et al. (1984).

Grau histológico	Descrição
Grau I	Compostos por cordões ou grupos monomórficos bem diferenciados de mastócitos com nucléolos excêntricos no citoplasma; O citoplasma é abundante, bem delimitado e repleto de grânulos de heparina e histamina; Figuras de mitose são raras, apresentando mínima reação do estroma e áreas necróticas.

Tabela 01 – Classificação histológica dos mastocitomas segundo critérios estabelecidos por Patnaik et al. (1984).

Grau histológico	Descrição
Grau II	Grau intermediário de diferenciação composto por um número moderado de mastócitos pleomórficos; leve grau de atipia com variação na forma e tamanho das células; arranjos celulares mais em forma de grupos do que de cordões e núcleos maiores e altamente vesiculosos; presença de algumas figuras de mitose; alguns apresentam áreas de edema, necrose e colagenólise
Grau III	Indiferenciado; com as células apresentando alto grau de anaplasia, arrançadas em forma de "manto"; podem estar presentes células multinucleadas; nucléolos altamente vesiculosos, de tamanhos e número variados. Citoplasma não apresenta boa delimitação e os grânulos são escassos ou até mesmo ausentes; figuras de mitose frequentes e atípicas; o estroma da neoplasia pode exibir hemorragia, necrose e escassa quantidade de tecido colagenoso e eosinófilos.

Fonte: Patnaik et al., 1984.

Sendo assim, recentemente uma classificação em dois graus (alto e baixo grau) foi proposta por Kiupel et al. (2011) no intuito de prognosticar de forma mais precisa o curso biológico dos mastocitomas. Tal classificação é baseada no número de figuras em fase de mitose em combinação com cariomegalia, células multinucleadas (3 núcleos ou mais) ou presença de núcleos bizarros (Tabela 02) (KIUPEL et al., 2011).

Tabela 02 - Classificação histológica dos mastocitomas segundo critérios de Kiupel et al. (2011).

Grau Histológico	Crítérios
Alto grau	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 7 ou mais figuras de mitose/10 campos de maior aumento (CMA); ✓ 3 ou mais células multinucleadas/10 CMA ✓ 3 ou mais núcleos bizarros/10 CMA ✓ Cariomegalia (10% dos núcleos em pelo menos
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cariomegalia (10% dos núcleos em pelo menos 2 campos) <p>**A lesão deve ser avaliada nos campos de maior atipia e índice mitótico</p>
Baixo grau	Não possuir nenhum dos critérios para classificação em alto grau

Fonte: Kiupel et al., 2011.

Entretanto, devido à subjetividade de tais classificações, estudos clínicos e moleculares do mastocitoma têm se focado em identificar precisamente as alterações moleculares presentes em cada grau histopatológico, assim como, definir o impacto bioquímico e biológico sobre a diferenciação e proliferação das células cancerígenas. Com esse intuito, a expressão de uma variedade de marcadores biológicos, tais como Ki67, c-kit, AgNOR, PCNA, quimase e triptase veem sendo investigadas como potenciais marcadores prognósticos (progressão, comportamento, metástase e expectativa de vida) para o mastocitoma canino (MADEWELL, 2001; MUKARATIRWA, 2005; SCASE et al., 2006; MACKOWIAK et al., 2012).

3.7 Índice mitótico

O índice mitótico (IM) ou contagem de figuras de mitose por campo é realizado para a avaliação proliferativa das neoplasias. Geralmente, tem sido utilizado em associação com o grau histopatológico, tanto para fins diagnósticos como para fins prognósticos e terapêuticos (PREZIOSI et al., 2007; NATIVIDADE et al., 2014). Diversos estudos demonstraram relação entre o índice mitótico, o grau histopatológico, a taxa de ocorrência de metástases e o tempo de sobrevida (ELSTON et al., 2009; HUME et al., 2011; NATIVIDADE et al., 2014).

Segundo Romansik et al. (2007), em seu estudo realizado com 148 cães com diagnóstico confirmado para mastocitoma, uma relação direta entre o IM e a classificação proposta por Patnaik et al. (1984) foi observada, de maneira que quanto maior o grau, maior o IM. Além disso, neste mesmo estudo, foi demonstrado que a sobrevida média para cães com $IM \leq 5$ foi significativamente maior (70 meses) que para aqueles com $IM > 5$ (2 meses), independentemente da classificação histopatológica.

Com intuito de buscar maior acurácia Elston et al. (2009) propuseram pontos de corte em 1 e 7 figuras de mitose em 10 campos de maior aumento. Segundo Natividade et al. (2014), o IM independente do ponto de corte utilizado, foi considerado o fator prognóstico mais confiável para a sobrevida. Além disso, foi observada associação do IM com a classificação histológica, com a ocorrência de recidivas tanto locais como distantes e com a ocorrência de síndrome paraneoplásica (NATIVIDADE et al., 2014). Quando comparado a outros fatores prognósticos, o IM constitui um método simples que não

requer colorações adicionais e histoquímicas especiais, apresentando fácil execução e baixo custo (ROMANSIK et al., 2007; STREFEZZI et al., 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram incluídos no estudo, cães com mastocitoma cutâneo, provenientes da rotina do Serviço de Clínica Médica de cães e gatos e de Oncologia (ONCOVET) do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) no período de agosto/2013 a novembro/2014, sob consentimento de seus tutores (apêndice 1).

Este trabalho foi avaliado e aceito pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob protocolo número 23376 (anexo 1).

4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram selecionados cães comprovadamente portadores de mastocitoma cutâneo por meio de exames citologia e/ou histologia, em condições clínicas consideradas adequadas (animais sem outras doenças concomitantes ou com doenças crônicas concomitantes compensadas e sem sinais de doenças infectocontagiosas) para serem submetidos aos procedimentos anestésico, cirúrgico e endoscópico. Foram excluídos cães em tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais, glicocorticóides, anti-histamínicos, quimioterápicos antineoplásicos, antagonistas dos receptores histamínicos, agentes antiulcerosos (sucralfato), opióides, inibidores da bomba de prótons e/ou antiácidos em um período mínimo de 30 dias.

4.3 Avaliação clínica geral

Todos os cães passaram por anamnese que incluía histórico de possíveis alterações gastrintestinais (vômito, dor abdominal, falta de apetite, consistência das fezes, perda de peso e grau de atividade), e exame clínico de rotina: mensuração da temperatura retal, avaliação das colorações das mucosas orais, conjuntivais e genitais, hidratação, palpação de linfonodos periféricos, palpação abdominal, auscultação de campos pulmonares e

cardíaco, mensuração do tempo de preenchimento capilar, frequência cardíaca e respiratória.

Para a padronização dos sinais clínicos gastrintestinais, os cães foram agrupados segundo a intensidade dos mesmos conforme escala utilizada na classificação de pacientes com doença intestinal inflamatória [Canine Inflammatory Bowel Disease Index] segundo Cascon (2011), adaptada para o presente estudo.

Cada parâmetro foi avaliado de forma independente e valores de zero a três pontos foram atribuídos a cada um deles (Tabela 03). O somatório desses parâmetros individuais classificava o paciente em quatro grupos, sendo considerado sinais leves quando atingiam pontuação de zero a três; moderados quando atingiam quatro a cinco pontos; graves quando atingiam seis a oito pontos; e sinais de comprometimento completo com uma pontuação mínima de nove.

Tabela 03 - Escala para avaliação dos sinais clínicos gastrintestinais nos pacientes com mastocitoma cutâneo.

Variáveis	Escala
Atitude/atividade	(0) normal; (1) discretamente diminuída; (2) moderadamente diminuída; (3) gravemente diminuída
Apetite	(0) normal; (1) discretamente diminuído; (2) moderadamente diminuído; (3) gravemente diminuído
Vômito	(0) sem vômito; (1) leve (1 vez por semana); (2) moderado (2-3 vezes por semana); (3) grave (mais de 3 vezes por semana)
Consistência das fezes	(0) normal; (1) fezes discretamente amolecidas ou melena nas fezes e/ou muco; (2) fezes muito amolecidas com ou sem sangue; (3) diarreia líquida com sangue

Fonte: Cascon, 2011.

4.4 Avaliação clínica tumoral

A avaliação clínica do mastocitoma consistia no registro do número e tamanho dos nódulos, observação das características macroscópicas (ulceração, prurido local, edema peritumoral, eritema e presença de placas eritematosas), localização anatômica, tempo de evolução e velocidade de crescimento tumoral.

Com relação ao número de nódulos, os mastocitomas foram agrupados em: nódulos únicos e presença de mais de um nódulo (apresentação múltipla). A avaliação do tamanho dos nódulos foi realizada com auxílio de um paquímetro digital, medindo-se os diâmetros longitudinal e transversal e a altura. Para fins estatísticos, seja na apresentação múltipla ou única da doença, foram agrupados em: tumores ≥ 3 cm e tumores < 3 cm, sempre se considerando o maior diâmetro medido.

O tempo de evolução foi avaliado considerando-se a data de surgimento do primeiro nódulo e a velocidade de crescimento foi avaliada de forma subjetiva, considerando-se o tempo médio que o nódulo levou para dobrar de volume de acordo com a percepção do tutor. Foi considerado crescimento rápido aqueles pacientes que o nódulo dobrou de tamanho em menos de seis meses; crescimento lento aqueles em que o nódulo não chegou a dobrar de tamanho nos últimos seis meses e estável naqueles em que o tutor não observou aumento tumoral no período dos últimos seis meses.

A CAAF do linfonodo regional foi realizada em todos os pacientes para investigar à presença de metástase regional. Os exames de imagem (radiografia torácica em três projeções e ultrassonografia abdominal) foram realizados para avaliar a presença de metástases à distância. Em casos específicos nos quais houve suspeita por meio dos exames de imagem e hematológico, foi realizada a CAAF do fígado, baço e medula óssea para confirmação.

4.5 Estadiamento tumoral

O estadiamento tumoral foi realizado em todos os pacientes, tendo como base o sistema proposto pela organização mundial de saúde (EISENBERG, 2004). De acordo com esse sistema, conhecido como sistema TNM de classificação, três elementos foram avaliados: T=tumor primário, caracterizado pela extensão da neoplasia no local primário e pelo envolvimento de estruturas adjacentes; N (do inglês *node*) = linfonodos regionais; M= metástases à distância, conforme ilustrado na Tabela 04.

Tabela 04 - Sistema de estadiamento clínico para o mastocitoma canino, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS).

ESTÁDIO	DESCRIÇÃO
Zero	Tumor único, incompletamente excisado da derme, identificado histologicamente, sem envolvimento de linfonodos regionais: <i>Subestádio a:</i> sem sinais de doença sistêmica <i>Subestádio b:</i> com sinais de doença sistêmica
1	Tumor único confinado a derme sem envolvimento dos linfonodos regionais. Também inclui subestádios a e b.
2	Tumor único confinado a derme com envolvimento dos linfonodos regionais. Também inclui subestádios a e b.
3	Tumor dérmico múltiplo ou tumor amplamente infiltrado, com ou sem envolvimento de linfonodos regionais. Também inclui subestádios a e b.
4	Qualquer tumor com metástases distantes ou recorrência com metástases, incluindo envolvimento sanguíneo ou da medula óssea.

Fonte: UICC – União Internacional Contra o Câncer.

4.6 Preparação pré-operatória e anestesia

Exames hematológicos complementares como hemograma completo, contagem de plaquetas, alanina aminotransferase (ALT), creatinina e albumina foram coletados para avaliação pré-operatória. Outros exames complementares, tais como urinálise, eletrocardiograma e eletrocardiografia, foram solicitados conforme alterações ou necessidades individuais de cada paciente.

Os cães encaminhados para realização dos procedimentos endoscópico e cirúrgico foram submetidos a jejum prévio de sólidos de 14 ± 2 horas e hídrico de seis horas para avaliação endoscópica do trato digestório. O acesso venoso foi realizado pela cateterização percutânea da veia cefálica, administrando-se solução de NaCl 0,9% (10 mL.kg.h^{-1}) em seguida. Subsequentemente, foram submetidos à anestesia geral, que constou com imediata indução anestésica através da administração de propofol (6 mg.kg^{-1} , i.v). Na sequência, foi instilada lidocaína sem vasoconstritor a 1% na região da glote (1 mL) e posteriormente, os animais foram intubados com sonda endotraqueal. Procedeu-se então, a vaporização de isoflurano em oxigênio 100% a 2 L.min^{-1} para a manutenção do plano anestésico a 2 V% em sistema aberto ou semi-aberto de acordo com o tamanho do animal.

Durante todo o procedimento cirúrgico, foram monitoradas a frequência cardíaca, a frequência respiratória, a oximetria, a capnografia e a temperatura corporal interna em

todos os animais por meio de um monitor multiparamétrico (Datex-Ohmeda s/ 5_TM – Finlândia).

4.7 Procedimento endoscópico e cirúrgico

Todos os procedimentos endoscópicos foram realizados imediatamente antes dos procedimentos cirúrgicos. Para a avaliação endoscópica, os cães foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. Um fibroscópio flexível (Fujinon® - Sano City/Japão), de 9,8 mm de diâmetro e 300 cm de comprimento, foi inserido lentamente, mantendo-se o lume do órgão em foco. O esôfago, estômago e duodeno foram avaliados em sequência. Os parâmetros avaliados durante o procedimento foram coloração da mucosa, edema, presença de erosões, granulosidade, friabilidade, forma, calibre e distensibilidade.

Em alguns cães, não foi possível a avaliação duodenal devido ao tamanho do paciente em relação ao aparelho. Fragmentos de todas as regiões do estômago e do duodeno, quando possível, foram coletados com pinça endoscópica de biópsia, e um fragmento da região do fundo gástrico foi, imediatamente, imerso 500µL de meio comercial (Uretest®; Renylab, Brasil) contendo uréia e indicador de pH vermelho de fenol para pesquisa de *Helicobacter* sp. A alteração de cor de amarelo para rosa escuro foi considerada como resultado positivo. Os testes foram monitorados para a mudança de cor durante as 24 horas subsequentes (CHOI et al., 2012).

Ao término do procedimento endoscópico, os animais recebiam prometazina (0,5mg.kg⁻¹, i.v), tramadol (2,5 mg.kg⁻¹, i.m), e por vezes associação de bloqueio local para assim, dar início a exérese das neoplasias, mantendo-se margens cirúrgicas mínimas de três centímetros sempre que possível.

Os fragmentos coletados durante a endoscopia digestiva e a exérese tumoral, foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10% e encaminhados para a análise histológica no Setor de Patologia da UFRGS. Para fins estatísticos o grupo considerado com lesão, foi o grupo que apresentava alteração macroscópica da mucosa gastroduodenal.

4.8 Procedimentos pós-operatórios

Os procedimentos realizados no pós-operatório imediato variavam de acordo com a necessidade de cada paciente. De modo geral, para quase todos os animais utilizou-se,

imediatamente após o término da cirurgia, a dipirona sódica (25mg/kg, IV); o meloxicam (0,1mg/kg, SC) ou dexametasona (0,5mg/kg, IV) e a ampicilina (20mg/kg, IV). As prescrições repassadas aos tutores para realização após a alta do paciente variavam segundo a necessidade do paciente, sendo que para todos os animais foi indicado o uso da simeticona (40mg/animal/cada 8h) durante três dias consecutivos, no intuito evitar o desconforto devido a insuflação durante a endoscopia.

Após 10 dias da cirurgia, os pontos foram retirados e a quimioterapia indicada para aqueles pacientes com tumores mais agressivos, tomando-se como base o grau histológico, o índice mitótico, infiltração linfática e as margens cirúrgicas. Retornos periódicos (em média a cada 3 meses) para reavaliação do estado geral, sinais de recidiva na cicatriz, novos nódulos ou sinais de metástases foram indicados para todos os pacientes.

4.9 Avaliação Microscópica

As amostras foram fixadas em formalina tamponada 10% por 24 horas, as quais foram submetidas ao processamento histológico. Foram realizados cortes transversais das neoplasias. Os tecidos foram processados pelas técnicas de rotina histológica e emblocadas em parafina. Os cortes histológicos foram realizados em micrótomo manual a 3-5 μ m e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (PROPHET & MILLS, 1992).

4.9.1 Classificação histológica do mastocitoma

A gradação histopatológica foi realizada sempre pelo mesmo patologista de acordo com Patnaik et al. (1984), em graus I, II e III e Kiupel et al. (2011) em alto e baixo grau. Para os cães que apresentassem uma combinação de mais de um grau histológico simultaneamente, considerava-se sempre o maior grau.

4.9.2 Índice mitótico

O índice mitótico foi obtido por meio da contagem do número de figuras de mitose em dez campos de maior aumento (400X) e a seleção dos campos foi obtida de maneira aleatória (ROMANSIK et al., 2007; ELSTON et. al., 2009). Para realização da análise

estatística utilizou-se o ponto de corte médio de cinco figuras de mitose conforme proposto por Romansik et al. (2007).

4.9.3 Classificação histológica da mucosa gastroduodenal

Histologicamente, a mucosa gástrica foi avaliada quanto as alterações morfológicas presentes (injúria a superfície epitelial, presença de fibrose e/ou atrofia da mucosa) e infiltrados inflamatórios (linfócitos intraepiteliais, presença de linfócitos, plasmócitos eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria) (DAY et al., 2008) e presença de *Helicobacter* sp.

Da mesma forma, a mucosa duodenal foi avaliada quanto as alterações morfológicas presentes (injúria a superfície epitelial; atrofia das vilosidades; distensão das criptas; dilatação lacteal e presença de fibrose) e infiltrados inflamatórios (linfócitos intraepiteliais; presença de linfócitos, plasmócitos eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria). As alterações morfológicas e os infiltrados inflamatórios foram classificados quanto a intensidade em: normal, leve, moderado e severo, em ambos os casos (DAY et al., 2008). Para ser considerado positivo, o cão precisava ser positivo para *Helicobacter* sp. tanto na histologia quanto no teste de urease.

4.9.4 Preparação das amostras e dosagem de histamina plasmática

Na data da cirurgia e do procedimento endoscópico, antes da aplicação de qualquer fármaco, uma amostra de sangue venoso foi coletada para obtenção de plasma e, posterior dosagem de histamina. As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos plásticos com EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*) e, imediatamente, centrifugadas (Centrífuga Excelsa II – Mod 206 BL/ Fanem – São Paulo) a uma velocidade de 2500rpm durante cinco minutos. O plasma foi cuidadosamente separado da porção superior da amostra, de maneira a evitar contaminação e, imediatamente, congelado a -80° C até sua análise.

A análise da quantidade de histamina contida nas amostras congeladas, foi realizada no Laboratório de Imunologia, localizado no Centro de Biotecnologia da UFRGS. Para a avaliação dos níveis de histamina plasmática, utilizou-se o teste imunoenzimático (ELISA) competitivo, para determinação quantitativa de histamina *in-*

vitro (Histamine ELISA, IBL Internacional, Hamburg, Germany) com limite de detecção de 0,02ng/mL. A dosagem de histamina foi realizada em 40 cães com mastocitoma, e em 18 cães considerados saudáveis (Grupo Controle), sendo que destes últimos, 10 eram cães da raça Beagle provenientes do setor de nutrição da UFRGS e oito eram cães da raça Pastor Alemão provenientes de criadores da raça. Os cães do grupo controle foram avaliados clinicamente e nenhum deles apresentava doença de hipersensibilidade e/ou mastocitoma, bem como não recebia anti-histamínicos e corticoides há pelo menos 30 dias antes da coleta.

Inicialmente, todas as amostras foram mantidas em bandeja com gelo, até completo descongelamento. Após descongeladas, as amostras foram aciladas e mantidas *overnight* a uma temperatura entre 2-8°C. Subsequentemente, cada padrão acilado, controle acilado e amostras de paciente aciladas foram pipetadas em duplicata nos respectivos poços da microplaca e, a elas, foi adicionado o conjugado enzimático (histamina conjugada à peroxidase) e antissoro de coelho anti-histamina. A microplaca foi incubada a temperatura ambiente (TA) por três horas. Durante o período de incubação, uma quantidade de antígeno presente na amostra e uma quantidade fixa de antígeno marcado com enzima competem pelos locais de ligação dos anticorpos que revestem os poços. Transcorridas as três horas, a solução de incubação foi desprezada, os poços foram lavados quatro vezes com 250µL do tampão de lavagem. A solução de substrato TMB (3,3',5,5' tetrametilbenzidina) foi adicionada e a placa incubada novamente por 40 minutos à TA. Após a reação do substrato, a ligação antígeno-anticorpo é identificada, e a intensidade da cor desenvolvida é inversamente proporcional à quantidade de antígeno na amostra. Para parar a reação do substrato, foi adicionado à solução de parada e, o conteúdo dos poços agitado cuidadosamente logo após sua adição. A densidade óptica foi medida com auxílio de um espectrofotômetro a 450 nm (VersaMax ELISA microplate reader®/molecular devices) imediatamente após a adição da solução de parada e, a quantificação das amostras, foram obtidas a partir da equação da reta proveniente da curva de calibração.

4.10 Análise estatística

Para a realização da análise estatística, os dados foram digitados no programa Excel e, posteriormente, exportados para o programa SPSS v. 18.0. Foram descritas as variáveis categóricas por frequências e percentuais e comparados pelo teste de Qui-

quadrado ou teste Exato de Fisher. As variáveis quantitativas quando a sua distribuição foi assimétrica foram descritas pela mediana, percentis 25 e 75 e comparadas entre grupos pelo teste de Mann-Whitney. Para avaliar a concordância entre exames foi utilizado o coeficiente Kappa. Foi considerado um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Animais

Durante o período de desenvolvimento do estudo (agosto/13 a novembro/14) foram avaliados 58 cães, sendo que destes um total de 41 cães adequaram-se aos critérios de inclusão. Do total de cães incluídos no estudo, 61% eram fêmeas (n=25) e 39% eram machos (n=16). Dentre as fêmeas, 16 (64%) eram fêmeas castradas e nove (36%) eram fêmeas não-castradas. Dentre os machos, três (18,8%) eram castrados e 13 (81,2%) eram não-castrados.

A idade média foi de $7,7 \pm 2,6$ anos, variando entre três e 15 anos. Os cães sem raça definida foram os mais acometidos (n= 17, 41,6%), seguidos pelos cães da raça Boxer (n=9, 22,1%) e, os American Pitbulls (n=5, 12,3%). As demais raças foram representadas por um a três animais cada (Tabela 05).

O peso e o escore corporal médio no momento do diagnóstico foram, $23,9 \text{ kg} \pm 12,4$ (variando entre 06 e 54 kg) e $6 \pm 1,3$ (variando entre 5 e 9 segundo escala de nove pontos), respectivamente.

Tabela 05 - Raças dos cães incluídos no estudo.

Raças	N (%)
SRD	17 (41,6)
Boxer	9(22,1)
Pitbull	5 (12,3)
Labrador	2(4,8)
Rottweiler	2(4,8)
American	1(2,4)
Bulldog campeiro	1(2,4)
Dachshund (Teckel)	1(2,4)
Dogue Alemão	1(2,4)
Pinscher	1(2,4)
Shih-Tzu	1(2,4)

5.2 Sinais clínicos gastrintestinais

A ocorrência de sinais clínicos gastrintestinais foi observada em 17 (41,5%) cães. Dentre os sinais mais prevalentes, destacam-se: sete (33,3%) cães com redução discreta no apetite; cinco (23,8%) cães com vômitos esporádicos (em média um episódio por mês); três (14,3%) cães com vômitos frequentes (em média um episódio por semana); três (14,3%) cães apresentavam dor abdominal; dois (9,5%) cães apresentavam fezes amolecidas e um (4,8%) cão apresentava perda de peso acentuada frente a um apetite normal.

Considerando-se a intensidade destes sinais, tomando-se como base a escala proposta por Cascon (2011), adaptada para o presente estudo, somente um animal (5,9%) apresentou sinais considerados moderados e, os outros 16 (94,1%), apresentaram sinais considerados leves.

5.3 Avaliação clínica do mastocitoma

O tamanho dos tumores variou entre 0,5 e 24,4 cm, apresentando uma média de 3,9 cm ($\pm 4,3$ cm). Do total de animais avaliados, 20 cães (48,8%) apresentaram nódulos maiores ou iguais à três centímetros e 21 cães (51,2%) apresentaram nódulos menores que três centímetros.

Em cinco cães (12,2%) os nódulos observados eram recidiva da doença, sendo que destes: somente um cão (20%) apresentou recidiva pós operatória imediata (menos que 30 dias após cirurgia); três (60%) apresentaram recidiva após retirada de um nódulo prévio no intervalo de 2 a 5 meses e somente um cão (20%) apresentava a terceira recidiva pós operatória, com um intervalo médio de um ano entre cada uma das recidivas.

Em 25 cães (61%) foi observada a apresentação única e em 16 cães (39%) foi observada a apresentação múltipla da doença, sendo que destes oito (50,0%) apresentavam nódulos em mais de um local simultaneamente e oito (50,0%) apresentavam mais de um nódulo em uma única região anatômica. Dos cães com a apresentação múltipla da doença, sete (43,7%) cães apresentavam dois nódulos; cinco (31,3%) apresentavam três nódulos, três (18,8%) apresentavam quatro nódulos e um (6,2%) cão apresentava cinco nódulos simultaneamente.

No que tange a localização dos nódulos, 14 cães (34,1%) apresentaram tumores localizados no tronco; 20 cães (48,8%) tumores localizados nos membros, dois cães

(4,9%) na região da cabeça e pescoço, três cães (7,3%) na região inguinal e dois cães (4,9%) na vulva ou escroto.

Os aspectos macroscópicos observados foram: 4 (9,75%) animais com ulceração tumoral, 5 (12,2%) animais com edema peritumoral, 9 (21,9%) animais com eritema regional, apenas um (2,4%) animal com apresentação em forma de placas eritematosas e 15 (36,6%) animais apresentavam prurido local (Figura 2).

O tempo de evolução do mastocitoma, considerando-se a data da observação da doença por parte do tutor, variou entre 15 e 1095 dias, sendo a mediana 150 dias (intervalo interquartil 75 a 365 dias). Ao agrupar o tempo de evolução em maior ou menor que seis meses, 17 cães (41,5%) apresentaram um tempo de evolução \geq a seis meses (183 dias) e 24 cães (58,5%) apresentavam a doença a um tempo inferior a seis meses. A mediana do tempo de evolução de pacientes com sinais gastrintestinais foi de 210 dias (intervalo interquartil de 60 a 365) e dos pacientes sem sinais foi de 150 dias (intervalo interquartil de 68 a 293).

Quanto a velocidade de crescimento, 20 cães (48,8%) apresentaram crescimento tumoral considerado rápido, 13 cães (31,7%) apresentaram crescimento considerado lento e oito cães (19,5%) apresentavam nódulos considerados estáveis no momento da primeira consulta.

A metástase em linfonodo regional foi observada em 12 (29,3%) cães, 26 cães (63,4%) não apresentavam mastócitos neoplásicos e três cães (7,3%) apresentaram resultado inconclusivo na citologia do linfonodo regional. Dos 12 cães com metástase em linfonodo regional, cinco (41,7%) apresentavam metástase no linfonodo inguinal, quatro (33,3%) apresentavam metástase no linfonodo poplíteo, dois (16,7%) no linfonodo axilar e um (8,3%) no linfonodo pré-escapular.

Para a realização do estadiamento, a pesquisa de metástases foi realizada com auxílio dos exames de imagem, da citologia aspirativa por agulha fina e da avaliação histológica do tecido, sempre que possível. Com auxílio do exame ultrassonográfico, somente um (2,4%) animal apresentou sinais ecográficos compatíveis com metástase esplênica, o que foi confirmada pela histologia posteriormente e imagens sugestivas de metástase pulmonar não foram observadas em nenhuma das imagens radiográficas.

Figura 2 – Características macroscópicas dos mastocitomas cutâneos observados em cães no presente estudo. A- Nódulo de aproximadamente 24 cm, estendendo-se desde a lateral ventral esquerda até o abdômen em um cão SRD, macho, 11 anos. Observa-se intensa hemorragia local e regiões de ulceração e necrose (setas). B – Nódulo de consistência macia, aproximadamente cinco centímetros, aderido, em região plantar de membro pélvico esquerdo, dorsal aos coxins (seta) em cão SRD, fêmea, sete anos. Observa-se edema peritumoral e edema generalizado do membro acometido. C – Nódulo pendular, apresentando intenso eritema, de aproximadamente 13 cm em região do flanco esquerdo em cão SRD, macho, 10 anos.



5.4 Estadiamento tumoral

Distribuindo-se os 41 cães entre os cinco estádios, somente um animal (2,4%) apresentou estágio 0 da doença; 14 (34,2%) apresentavam estágio 1 da doença, dois (4,8%) apresentavam estágio 2 da doença, 23 (56,2%) apresentavam estágio 3 da doença e um (2,4%) apresentava estágio 4 da doença.

5.5 Classificação histológica do mastocitoma

Segundo a classificação histológica proposta por Patnaik et al. (1984), quatro (9,8%) amostras foram classificadas como mastocitoma cutâneo grau I, 30 (73,2%)

amostras como mastocitoma cutâneo grau II e sete (17,0%) amostras como mastocitoma cutâneo grau III e, segundo os critérios propostos por Kiupel et al. (2011), 32 (78%) amostras foram classificadas como baixo grau e nove (22%) como alto grau. Sete (17,1%) animais apresentaram nódulo com uma combinação de mais de um grau histológico simultaneamente.

5.6 Índice mitótico

Considerando-se o critério estabelecido por Romansik et al. (2007), 36 (87,8%) amostras apresentaram cinco ou menos figuras de mitose em média em dez campos de maior aumento (x400) aleatórios e cinco (12,2%) amostras apresentaram mais de cinco figuras de mitose em média em dez campos de maior aumento (x400) aleatórios.

5.7 Achados endoscópicos

A avaliação endoscópica da mucosa gástrica e duodenal não evidenciou alterações compatíveis com ulceração grave ou perfuração gástrica em nenhum dos animais, sendo que do total de cães avaliados 29 (70,7%) apresentavam lesões macroscópica no esôfago, estômago ou duodeno e 12 (29,3%) não apresentavam lesão. Dos cães com lesão, dois (5%) apresentavam alterações na mucosa esofágica, 23 (56%) apresentavam alteração na mucosa do estômago e 16 (39%) apresentavam alteração na mucosa duodenal, sendo que em nove cães (20%) não foi possível acessar o duodeno devido ao tamanho do animal em relação ao comprimento do endoscópio utilizado.

Dentre as alterações macroscópicas observadas durante o procedimento gastroscópico (figura 3), os achados mais frequentes foram: 10 cães (21,3%) apresentaram hiperemia regional de mucosa, quatro (8,5%) apresentaram hiperemia generalizada da mucosa e quatro (8,5%) apresentaram aumento na granulosidade da mucosa (Figura 3). Essas e outras alterações menos frequentes estão dispostas na tabela 06.

Figura 3 – Imagens de endoscopia digestiva alta para pesquisa de lesões gastrintestinais em cães com mastocitoma. A) Imagem endoscópica evidenciando lesões hemorrágicas puntiformes (setas) distribuídas na região do corpo gástrico, próximo a curvatura menor do estômago em um cão, SRD, com oito anos de idade com sinais de gastrite e desconforto abdominal. B) Imagem endoscópica de irregularidade e espessamento na mucosa antral gástrica de um cão, SRD, com nove anos de idade e ausência de sinais gastrintestinais. C) Imagem da região do fundo gástrico evidenciando lesões aftosas, circundadas por área hiperêmica de aproximadamente três milímetros (seta) na região do antro gástrico em cão, SRD, fêmea, sete anos com queixa de vômitos esporádicos D) Imagem endoscópica evidenciando lesões hemorrágicas (seta), distribuídas de forma difusa na região do antro gástrico em cão, da raça Boxer, com nove anos de idade, apresentando nódulo único de mastocitoma cutâneo e ausência de sinais clínicos gastrointestinais.

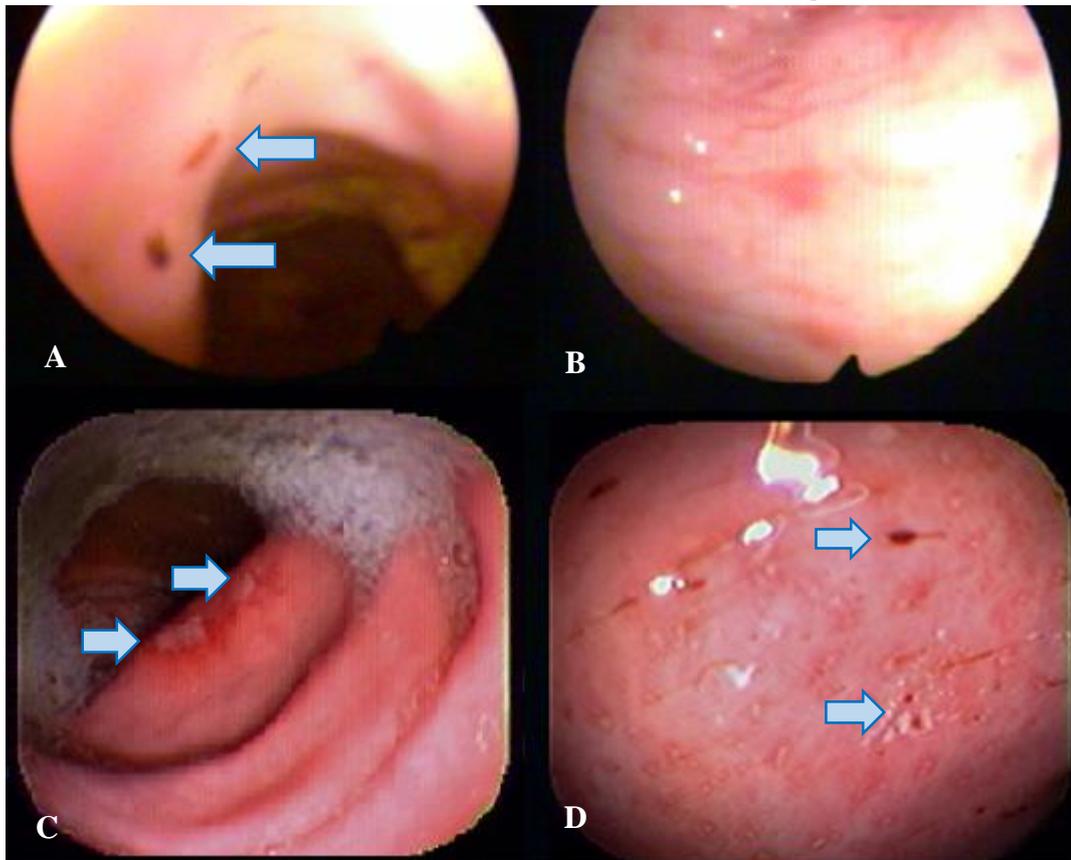


Tabela 06 - Alterações macroscópicas da mucosa gástrica, observadas durante procedimento gastroscópico.

Alterações macroscópicas da mucosa gástrica	Número de animais (%)
Hiperemia regional da mucosa	10 (21,3)
Hiperemia generalizada da mucosa	4 (8,5)
Aumento na granulosidade	4 (8,5)
Pólipo	4 (8,5)
Mucosa erosiva	3 (6,4)
Mucosa friável	1 (2,1)
Mucosa irregular	1 (2,1)
Edema de mucosa	1 (2,1)
Lesões hemorrágicas puntiformes	1 (2,1)

Tabela 06 – Alterações macroscópicas da mucosa gástrica, observadas durante procedimento gastoscópico.

Alterações macroscópicas da mucosa gástrica	Número de animais (%)
Sem alteração	18 (38,4)
Total	47 (100)

Na mucosa duodenal, oito (17,8%) cães apresentaram hiperemia generalizada de mucosa, quatro cães (8,9%) apresentaram mucosa friável e três cães (6,7%) apresentaram aumento da granulidade. Essas e outras alterações menos frequentes estão dispostas na tabela 07.

No apêndice 2 estão dispostas as alterações endoscópicas de cada paciente (numerados de 1 a 41) e separados por região (esôfago, estômago e duodeno).

Tabela 07 - Alterações macroscópicas da mucosa duodenal

Alterações macroscópicas da mucosa duodenal	Número de animais (%)
Hiperemia generalizada de mucosa	8 (17,8)
Mucosa friável	4 (8,9)
Aumento na granulidade	3 (6,7)
Mucosa irregular	3 (6,7)
Placas de Peyer evidentes	2 (4,4)
Sem alteração	16 (35,5)
Não entrou no duodeno	9 (20)
Total	45 (100)

5.8 Avaliação histológica da mucosa gástrica e duodenal

Considerando-se os padrões estabelecidos por Day et al. (2008), histologicamente nenhum paciente apresentou achados compatíveis com ulceração gastroduodenal, sendo observados somente achados sugestivos de gastrite (Figura 4). No estômago, os achados mais frequentes foram: oito (26,8%) animais com infiltrado multifocal nodular de linfócitos na mucosa, cinco (16,8%) animais com áreas de hemorragia focal discreta e quatro (13,4%) animais com áreas de hemorragia multifocal leve. As frequências de todas as alterações histológicas encontradas estão dispostas na tabela 08.

Figura 4 - Alterações histopatológicas em estômagos de caninos com mastocitoma. A. Hemorragia focal em mucosa. HE, 100x. B. Infiltrado linfocitária nodular em mucosa. HE, 100X. C. Inúmeras estruturas bacterianas, envoltas por material mucoso na superfície da mucosa. HE, 400X. D. Maior aumento evidenciando o formato helicoidal das estruturas bacterianas compatível com *Helicobacter* sp. HE, 1000X. Fotos gentilmente cedidas pelo professor Saulo Pavarini (Departamento de Patologia Animal da UFRGS).

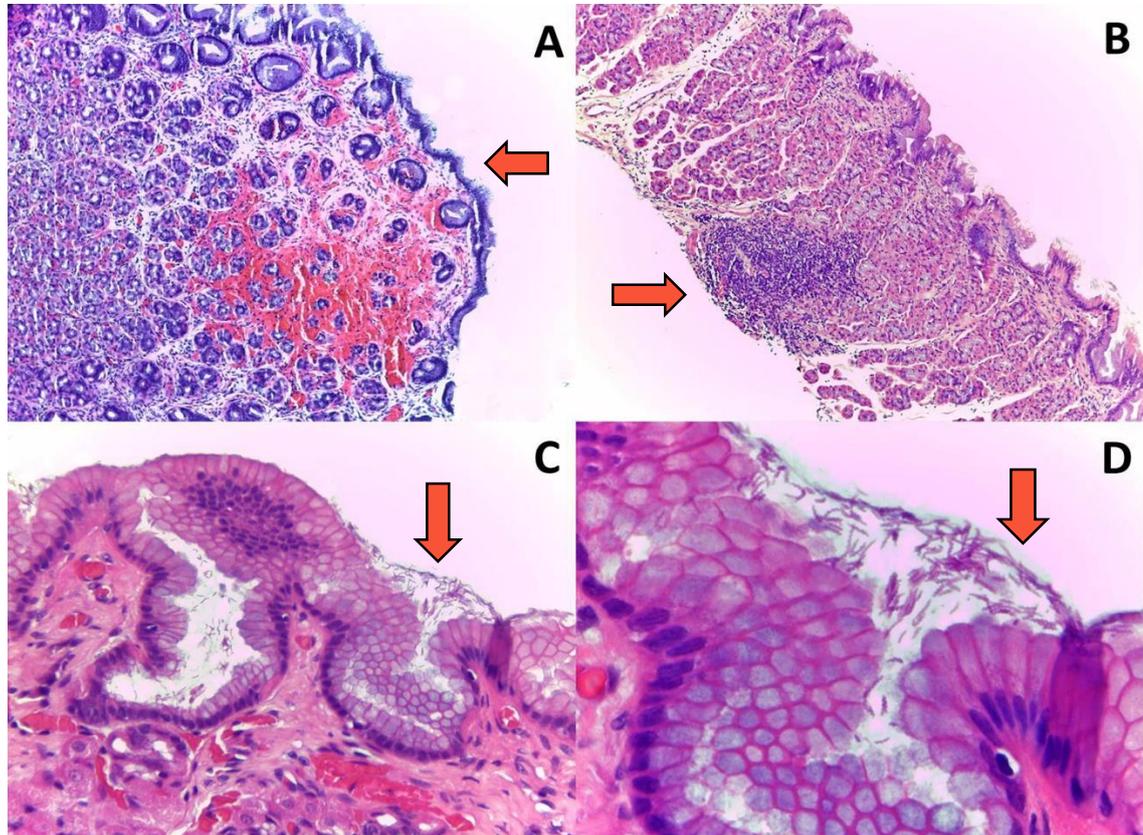


Tabela 08 – Alterações histológicas das amostras do estômago.

Alterações histológicos no estômago	Número de animais (%)
Infiltrado multifocal de linfócitos	8 (26,8)
Hemorragia discreta focal	5 (16,8)
Hemorragia multifocal leve	4 (13,4)
Necrose multifocal dos ácinos glandulares	2 (6,6)
Congestão de mucosa discreta	2 (6,6)
Hemorragia moderada	2 (6,6)
Infiltrado neutrofílico	1 (3,3)
Fossetas dilatadas	1 (3,3)
Adenoma tubular	1 (3,3)
Pólipo estomacal	1 (3,3)
Sem alterações	3 (10)
Total de alterações observadas	30 (100)

No duodeno os achados mais frequentes foram: dois (4,3%) animais com infiltrado linfocitário e dois (4,3%) animais com infiltrado linfoplasmocitário. As frequências de todas as alterações histológicas encontradas estão dispostas na tabela 09.

Dos 41 cães, onze (26,8%) tiveram lesão no exame endoscópico e apresentaram alteração no exame histopatológico e quatro (9,8%) não apresentaram lesão em nenhum dos dois exames. Os demais animais (n=26/ 63,4%) apresentaram resultados discordantes entre a endoscopia e a histologia. Assim sendo, a concordância entre esses exames foi considerada fraca e não significativa (Kappa=-0,23; P=0,093).

Tabela 09 - Alterações histológicas das amostras de duodeno

Alterações histológicas no duodeno	Número de animais (%)
Infiltrado linfocitário	2 (4,3)
Infiltrado linfoplasmocitário	2 (4,3)
Infiltrado plasmocitário	1 (2,2)
Infiltrado de mastócito	1 (2,2)
Moderada hipertrofia das vilosidades	1 (2,2)
Discreta hipertrofia das vilosidades	1 (2,2)
Congestão discreta	1 (2,2)
Congestão moderada	1 (2,2)
Discreta dilatação dos vasos lacteais	1 (2,2)
Criptas com ocasionais debris necróticos	1 (2,2)
Duodeno não avaliado	7 (15,2)
Sem alteração	27 (58,6)
Total de alterações observadas	46 (100)

5.9 Pesquisa de *Helicobacter* sp.

Do total, 33 (80,5%) cães foram considerados positivos para *Helicobacter* sp. e oito (19,5%) considerados negativos. Dos cães positivos, 13 (39,4%) tinham sinais gastrintestinais e 25 (75,8%) tinham lesão gástrica, enquanto que dos oito considerados negativos, quatro (50,0%) tinham sinais gastrintestinais e quatro (50,0%) tinham lesão gástrica, não havendo associação entre *Helicobacter* sp. e a presença de sintomas GI e nem com a presença de lesão gástrica (P=0,202).

5.10 Concentração plasmática de histamina

Os valores de histamina plasmática foram avaliados em 40 dos 41 cães com mastocitoma. A concentração plasmática de histamina apresentou uma distribuição assimétrica, portanto considerou-se a mediana de maneira a evitar influência dos extremos.

No grupo controle, composto por 18 cães, a mediana da concentração plasmática de histamina foi 0,0975 ng/ml (intervalo interquartil 0,0097-0,4644), sendo o valor mínimo inferior ao limite de detecção do teste e o valor máximo 1,7293 ng/mL. A mediana da concentração de histamina plasmática observada no grupo dos cães com mastocitoma (n=40) foi de 0,0160 ng/ml (intervalo interquartil 0,0003-0,1497), sendo o valor mínimo inferior a 0,02ng/mL (limite mínimo de detecção do teste) e o valor máximo 2,5675 ng/mL. No grupo de cães doentes, um cão merece destaque por apresentar sinais clínicos evidentes de degranulação mastocitária e valor de histamina plasmática bastante elevado (2,56 ng/mL), diferindo significativamente dos demais cães deste grupo. Diferenças estatísticas significantes não foram observadas entre a concentração plasmática de histamina em cães com mastocitoma e nos cães do grupo controle (P= 0,055) (Tabela 10).

Tabela 10 – Comparação dos valores de histamina plasmática (ng/mL) entre os cães com mastocitoma (n=40) e os cães do grupo controle (n=18).

Histamina plasmática (ng/mL)	Casos n=40	Controles n=18	P*
Mediana	0,0160	0,0975	
Percentil 25	0,0003	0,0097	0,055
Percentil 75	0,1497	0,4644	

*Valor P obtido pelo teste de Mann-Whitney

5.11 Relação entre as variáveis estudadas e a presença dos sinais clínicos, lesões gastroduodenais e valores plasmáticos de histamina

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros de cada variável estudada (velocidade de crescimento tumoral, estadiamento clínico, número e localização dos nódulos, tamanho tumoral, características macroscópicas do tumor, presença de metástase em linfonodo regional, classificações histopatológicas e índice mitótico) e a presença de sinais clínicos (Tabela 11), lesões gastroduodenais (Tabela 12) e valores plasmáticos de histamina (Tabela 13). Da mesma forma, não foi observado diferença estatística significativa nos valores plasmáticos da histamina entre os animais com ou sem lesão gastroduodenal (Tabela 13).

Ao se considerar a presença simultânea de sinais GI, lesão gástrica e concentração da histamina plasmática acima do valor da mediana do grupo controle, observou-se que

somente cinco (15,6%) cães apresentaram alteração nestas três variáveis; quatro apresentaram alteração no valor de histamina e lesão GI (12,5%); dois apresentam alteração no valor de histamina e presença de sinais GI (6,3%) e nove apresentam sinais e lesão GI (28,1%); 11 (34,4%) cães apresentavam somente lesão gastroduodenal e um (3,1%) apresentava somente sinal gastrintestinal (Figura 5).

Tabela 11 – Descrição e comparação do percentual de sinais intestinais nas diferentes variáveis avaliadas.

Variáveis	Parâmetros	Sinais gastrintestinais (%)	P
Linfonodo regional	Com envolvimento	50,0	0,926
	Sem envolvimento	42,3	
Tamanho do tumor	≥3cm	55,0	0,162
	<3cm	28,6	
Número de nódulos	Nódulo único	40,0	0,999
	Mais de um nódulo	43,8	
Velocidade de crescimento	Rápido	45,0	0,573
	Lento	46,2	
	Estável	25,0	
Kiupel	Baixo grau	40,6	0,999
	Alto grau	44,4	
Patnaik	Grau I	25,0	0,781
	Grau II	43,3	
	Grau III	42,9	
Índice mitótico	>5	60,0	0,633
	≤5	38,9	

*Dados comparados pelo teste de Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher.

Tabela 12 – Descrição e comparação dos pacientes com e sem lesão gástrica nas diferentes variáveis avaliadas

Variáveis	Parâmetros	Com lesão n=29	Sem lesão n=12	P
TNM; n (%)				0,428
	0	1 (3,4)	-	
	1	12 (41,4)	2 (16,7)	
	2	1 (3,4)	1 (8,3)	
	3	14 (48,3)	9 (75,0)	
	4	1 (3,4)	-	
Linfonodo regional infiltrado, n (%)		8 (27,6)	4 (44,4)	0,423
Tamanho do tumor ≥3cm, n (%)		15 (51,7)	5 (41,7)	0,808
Ulceração, n (%)		2 (6,9)	2 (16,7)	0,567
Prurido, n (%)		11(37,9)	4 (33,3)	0,999
Edema peritumoral, n (%)		4 (13,8)	1 (8,3)	0,999
Eritema peritumoral, n (%)		7 (24,1)	2 (16,7)	0,702
Placas, n (%)		1 (3,4)	-	0,999
Mais de um nódulo, n (%)		11 (37,9)	5 (41,7)	0,999
Localização tumoral, n (%)				0,736
	Membros	13 (44,8)	7 (58,3)	
	Tronco	11 (37,9)	3 (25,0)	
	Cabeça e pescoço	2 (6,9)	-	
	Região inguinal	2 (6,9)	1 (8,3)	
	Vulva escroto	1 (3,4)	1 (8,3)	
	Prepúcio	-	-	
Tempo de evolução (mediana, P25-P75)		180 (90-365)	120 (30-319)	0,262
Velocidade de crescimento, n (%)				0,117
	Rápido	12 (41,4)	8 (66,7)	
	Lento	12 (41,4)	1 (8,3)	
	Estável	5 (17,2)	3 (25,0)	
Kiupel, n (%)				0,999
	Baixo grau	23 (79,3)	9 (75,0)	
	Alto grau	6 (20,7)	3 (25,0)	
Patnaik, n (%)				0,374
	Grau I	2 (6,9)	2 (16,7)	
	Grau II	23 (79,3)	7 (58,3)	
	Grau III	4 (13,8)	3 (25,0)	

Índice mitótico	>5	4 (13,8)	1 (8,3)	0,999
	≤5	25 (86,2)	11 (91,7)	
Histamina plasmática		0,0079 (0,0002- 0,1880)	0,0228 (0,0089- 0,0571)	0,610

*Variáveis quantitativas comparadas pelo teste de Mann-Whitney e categóricas pelo teste de Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher

Tabela 13 – Comparação dos valores de histamina entre as diferentes variáveis avaliadas

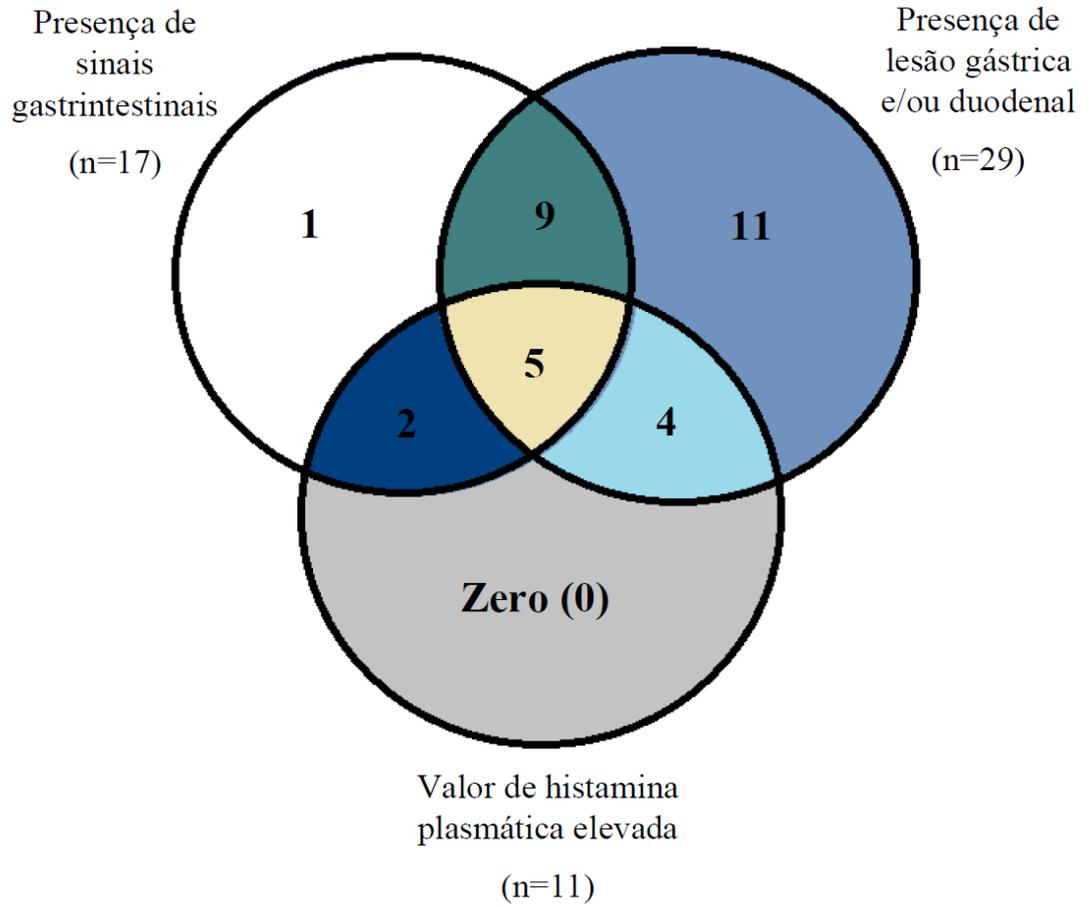
Variáveis	Parâmetros	N	Histamina plasmática	P
Lesão gástrica	Sim	27	0,0104 (0,0003- 0,1908)	0,708
	Não	12	0,0228 (0,0089- 0,0571)	
Linfonodo regional	Com envolvimento	12	0,0173 (0,0048- 0,1388)	0,810
	Sem envolvimento	25	0,0133 (0,0003- 0,1979)	
Tamanho do tumor	≥3cm	19	0,0599 (0,0046- 0,1908)	0,061
	<3cm	21	0,0074 (0,0001- 0,0390)	
Ulcerados	Sim	4	0,0506 (0,0080- 0,2672)	0,445
	Não	36	0,0144 (0,0003- 0,1497)	
Pruriginosos	Sim	14	0,0198 (0,0004- 0,0941)	0,834

	Não	26	0,0119 (0,0003- 0,1944)	
<hr/>				
Com edema peritumoral				0,244
	Sim	5	0,0181 (0,0105- 1,4012)	
	Não	35	0,0133 (0,0003- 0,1274)	
<hr/>				
Com eritema peritumoral				0,545
	Sim	9	0,0181 (0,0025- 0,1536)	
	Não	31	0,0156 (0,0002- 0,1571)	
<hr/>				
Com formação de placas				0,700
	Sim	1	0,0016*	
	Não	39	0,0164 (0,0003- 0,1571)	
<hr/>				
Número de nódulos				0,374
	1	24	0,0144 (0,0003- 0,0837)	
	Mais de um nódulo	16	0,0363 (0,0020- 0,2977)	
<hr/>				
Localização tumoral				0,957
	Membros	19	0,0181 (0,0011- 0,0839)	
	Tronco	14	0,0199 (0,0005- 0,1825)	
	Cabeça e pescoço	2	1,2987*	
	Região inguinal	3	0,0074*	
	Vulva escroto	2	0,0002*	
	Prepúcio	-	-	
<hr/>				
Velocidade de crescimento				0,230

	Rápido	19	0,0295 (0,0074- 0,1571)	
	Lento	13	0,0004 (0,000- 0,4046)	
	Estável	8	0,0033 (0,0003- 0,0194)	
<hr/>				
Sintomas gastrintestinais				0,242
	Sim	17	0,0156 (0,0011- 0,2668)	
	Não	23	0,0164 (0,0002- 0,0599)	
<hr/>				
Kiupel				0,610
	Baixo grau	31	0,0156 (0,0003- 0,1274)	
	Alto grau	9	0,0181 (0,0050- 0,1684)	
<hr/>				
Patnaik				0,345
	Grau I	4	0,0040 (0,0004- 0,0180)	
	Grau II	29	0,0156 (0,0002- 0,1591)	
	Grau III	7	0,0241 (0,0054- 0,1797)	
<hr/>				
Índice mitótico				0,145
	>5	5	0,1571 (0,0105- 1,3886)	
	≤5	35	0,0133 (0,0003-0,0839)	

*Dados apresentados pela mediana e intervalo interquartis (P25-P75). Comparados entre duas categorias pelo teste de Mann-Whitney e entre três categorias pelo teste de Kruskal-Wallis. *dados insuficientes para o cálculo do intervalo interquartis (P25-P75).

Figura 5: Representação esquemática do número de cães com presença de sinais gastrintestinais (n=17), presença de lesão gástrica (n=29), valor de histamina plasmática elevado (n=11) e as intersecções entre eles



6 DISCUSSÃO

Os mastocitomas cutâneos são frequentemente associados a alterações clínicas decorrentes da liberação de histamina, heparina e outras aminas vasoativas contidas no interior dos mastócitos neoplásicos (HOWARD et al., 1969; O'KEEFE et al., 1987; WELLE et al., 2008; LONDON & THAMM, 2013). Dentre as síndromes paraneoplásicas causadas por esse tipo tumoral, as lesões gastroduodenais merecem especial atenção, por estarem associadas a sinais clínicos frequentes e ao risco de óbito em decorrência da perfuração gástrica (HOWARD et al., 1969; O'KEEFE et al., 1987). No entanto, apesar de citado na literatura como a principal síndrome paraneoplásica associada com a presença do mastocitoma cutâneo canino (HOWARD et al., 1969; O'KEEFE, 1990; BLACKWOOD et al., 2012; LONDON & THAMM et al., 2013), pouco se sabe sobre a sua ocorrência no momento do diagnóstico e quais são os possíveis fatores associados com o seu desenvolvimento.

O mastocitoma é um tumor acompanhado frequentemente por sinais clínicos associados, mas não diretamente relacionados à presença do tumor, tais como: vômitos, anorexia, diarreia, hematoquezia, melena, dor abdominal, entre outros (GOVIER, 2003; DALECK et al., 2009; BLACKWOOD et al., 2012). No presente estudo, a ocorrência de sinais gastrintestinais foi observada em 17 cães (41,5%), frequência próxima a encontrada no estudo de O'Keefe et al. (1987) que avaliaram 16 casos de cães com mastocitose sistêmica e observaram que 50% dos cães estudados apresentavam sinais sistêmicos, dentre eles anorexia, vômitos e diarreia. No entanto, em dois estudos mais recentes, Book et al. (2011) e Natividade et al. (2014), descrevem uma frequência menor de sinais gastrintestinais em cães com mastocitoma cutâneo, 15,8% e 22,7%, respectivamente.

Embora os sinais clínicos GI terem sido observados de forma relativamente frequente no presente estudo, a sua intensidade foi considerada leve em 16 cães (94,1%) e moderada em um cão (5,9%). Nos estudos semelhantes (HOWARD et al., 1969; O'KEEFE et al., 1987; BOOK et al., 2011 e NATIVIDADE et al., 2014), os sinais clínicos não foram graduados quanto a sua intensidade, não sendo possível estabelecer um parâmetro de comparação quanto a relevância destes sinais.

Os mastócitos malignos contêm 25 a 50 vezes mais histamina que os mastócitos normais (MACY, 1985). Além disso, estudos sugerem que a presença de tumores mais extensos (HOWARD et al., 1969; NATIVIDADE et al., 2014) e de metástases (O'KEEFE et al., 1987; NATIVIDADE et al., 2014) estão mais frequentemente associadas com a

manifestação de sinais gastrintestinais. Baseado nisto, formulou-se a hipótese de que fatores associados a um aumento na massa tumoral (tamanho tumoral, presença de mais sítios de lesão, metástases regionais e a distância), estariam relacionados à maior liberação de histamina e, surgimento de sinais e lesões GI. Porém tal hipótese foi refutada por ora, sugerindo que outros fatores, além do aumento do volume e dos sítios tumorais, estão associados com aumento da liberação de histamina e, conseqüentemente sinais e lesões GI. Uma possível causa pôde ser observada no estudo realizado por Ishiguro et al. (2003) que verificaram sinais de fraqueza generalizada, anorexia e acentuado aumento nos valores de histamina plasmática em um cão após tratamento radioterápico, possivelmente, por promover a rápida lise das células tumorais.

No presente estudo, a avaliação clínica dos mastocitomas identificou que 23 (56,1%) dos cães apresentaram sinais locais associados a degranulação mastocitária (eritema, placas eritematosas, edema peritumoral e prurido) (SCOTT et al., 2001; THAMM & VAIL, 2007; LONDON & THAMM, 2013). Contudo, a hipótese de que os sinais locais, considerados indicativos de degranulação de mastócitos, possam apresentar relação com elevados valores de histamina, a relação entre a presença de sinais e lesões GI não foram confirmadas no presente estudo.

Dados da literatura médica veterinária à cerca da importância da localização anatômica do nódulo/tumor como fator prognóstico ainda são controversos. Entretanto, grande parte dos estudos relacionando a localização anatômica com comportamento biológico e prognóstico indicam que os nódulos/tumores situados em leito ungueal, cavidade oral, focinho, escroto, região inguinal e em regiões mucocutâneas apresentam maior agressividade e pior evolução (BAKER-GABB et al, 2003; GIERGER et al., 2003; GOVIER, 2003; CAHALANE et al., 2004; SFILIGOI et al., 2005; WELLE et al., 2008; LONDON & TAHMM, 2013). No presente estudo, observou-se apenas cinco (12,2%) cães com mastocitoma em localizações citadas acima, no entanto não foi observada relação entre localização e a presença os sinais gastrintestinais, presença de lesão gástrica e valores da concentração plasmática da histamina.

Segundo Bostock & Dye (1973) e Fox (1998), os mastocitomas podem estar presentes por um longo período e, tumores com crescimento lento (período mínimo de seis meses), frequentemente comportam-se de forma benigna, enquanto os de crescimento rápido, geralmente, apresentam um comportamento maligno. Ao considerar o tempo de evolução e a velocidade da progressão do neoplasma, no presente estudo, verificou-se

que os tumores com tempo de evolução longo e crescimento lento não apresentaram de forma significativa alterações GI e concentrações maiores de histamina quando comparados aos tumores que apresentaram crescimento rápido. Portanto, parece que o fato do paciente estar exposto por um tempo maior ao mastocitoma não indica necessariamente maior exposição a histamina e, conseqüentemente, a lesões e sinais GI.

Segundo O'Keefe et al. (1987), tumores indiferenciados são mais propensos a resultar em mastocitose sistêmica, e aparecimento de sinais clínicos gastrintestinais. Em seu estudo, os autores relatam a presença de 77% de tumores classificados como grau III, frequência consideravelmente superior a encontrada por ora (17%). Além disso, em apenas um cão foi confirmado o diagnóstico de mastocitose sistêmica, segundo critérios empregados por O'Keefe et al. (1987). Possivelmente, a baixa frequência de mastocitomas indiferenciados e o baixo número de casos de mastocitose sistêmica seja responsável pela ausência de relação significativa entre o grau tumoral e o aparecimento de sinais gastrintestinais e o surgimento de lesão gastroduodenal, no presente estudo.

Natividade et al. (2014) referem associação entre grau histológico, índice mitótico e a ocorrência de síndrome paraneoplásica (sinais clínicos sistêmicos associados a degranulação de mastócitos, repercutindo em vômitos, diarreia, hipotensão, anemia ferropriva, perfuração gástrica, peritonite, choque anafilático e colapso). Todavia, no presente estudo, a relação do IM e grau histológico com a presença de síndrome paraneoplásica caracterizada pelo aparecimento de sinais clínicos GI e/ou lesões gastroduodenais não foi significativo.

Em seu estudo, Howard et al. (1969) descreveram erosões focais, solitárias ou múltiplas, na mucosa da região fúndica do estômago, piloro e bulbo duodenal em 20 dos 24 cães com mastocitoma avaliados *post mortem*. Em todos os cães com lesão, a mucosa gástrica apresentava-se, severamente hiperêmica e, em alguns cães com múltiplas erosões puntiformes, a mucosa apresentava-se hemorrágica. Os autores consideraram estas lesões como sendo secundárias à presença do mastocitoma. Diferentemente, no presente estudo, a avaliação endoscópica da mucosa gástrica e duodenal não evidenciou casos de ulceração grave ou perfuração em nenhum dos cães avaliados e os achados macroscópicos encontrados (Tabela 6 e 7) foram compatíveis com inflamação da mucosa gástrica. Somente cinco cães apresentaram a associação entre sinais clínicos, lesão gástrica e elevação da histamina. Desta forma, não se pode atribuir os achados macroscópicos a lesão causada secundariamente à hiperhistaminemia paraneoplásica.

No presente estudo e no estudo realizado por Howard et al. (1969) a maioria dos cães apresentaram lesões gastroduodenais macroscópicas, 70,7 e 83%, respectivamente, no entanto, a intensidade e a gravidade destas destoaram consideravelmente nos dois estudos. No estudo de Howard et al. (1969) a avaliação das lesões gastroduodenais foi feita durante a necropsia e, portanto, a maioria dos pacientes (20 dos 24 cães) haviam apresentado recidiva do mastocitoma: 14 estavam apresentando recorrência do tumor após excisão de um nódulo primário, quatro estavam apresentando recidiva pós-operatória e dois estavam apresentando a terceira recidiva após tratamento prévio. Além disso, dados sobre administração de medicamentos, tratamentos anteriores, tempo livre de doença, data de surgimento do primeiro nódulo não foram informados. Diante disto, ao comparar os resultados obtidos com os do presente estudo, pode-se sugerir que a intensidade e a gravidade das lesões gastroduodenais possam ter relação com estágio e número de recidivas da doença neoplásica. No entanto, os cinco casos que se tratavam de recidivas não apresentavam lesões graves como o observado por Howard et al. (1969).

Com relação a localização das lesões, 5% dos cães apresentavam alterações na mucosa esofágica, 56% apresentavam alteração na mucosa do estômago e 39% apresentavam alteração na mucosa duodenal, corroborando com a tendência para o maior acometimento do estômago em relação ao duodeno (HOWARD et al., 1969). Acredita-se que a localização anatômica das células parietais (região do fundo e do corpo), possam ter relação com essa maior tendência observada para o aparecimento de lesões no estômago em relação ao duodeno.

Segundo Wilcock (2013), o padrão ouro do diagnóstico histológico para gastrite é o aumento dos leucócitos na mucosa acompanhado de outras evidências de inflamação como hiperemia, edema e lesões às estruturas adjacentes a outros componentes da mucosa. Seguindo esses critérios a maioria dos achados histológicos, por ora encontrados, condizem com padrão inflamatório. No entanto, estes foram considerados leves e inespecíficos, e alguns, como pólipos e adenomas tubulares, não tem relação com os danos induzidos pela hiperhistaminemia. Em estudo que avaliou anormalidades histopatológicas na mucosa gástrica de cães com suspeita clínica de gastrite, a inflamação foi o achado mais comum, sendo a gastrite linfoplasmocítica (50,7%) o achado histológico mais frequente (LIDBURY et al., 2009). Da mesma forma, os infiltrados inflamatórios linfocitários foram os achados mais frequentes tanto na região do estômago (26,8%) como na região do duodeno (4,3%) no presente estudo.

A presença de *Helicobacter* sp. foi considerada o achado mais frequente nos cães estudados, com 80,5% dos animais considerados positivos. Em humanos, o gênero *Helicobacter* sp. é considerado o agente colonizador do estômago mais comumente observado causando gastrite, úlcera péptica e neoplasia gástrica (VALE et al., 2009). Em animais de companhia, apesar de relatos de elevada incidência, conforme observado no presente estudo, pouco se sabe sobre a relevância clínica dessas bactérias (TAULESCU et al., 2008; EKMAN et al., 2013; GUERRA, 2014). Vieira et al. (2012), sugeriram uma relação entre o grau de inflamação e o número de bactérias presentes na mucosa gástrica de cães, contudo, outros autores não observam essa mesma relação (GOMBAC et al., 2010). Sendo assim, buscava-se uma avaliação de possível ação sinérgica das bactérias do gênero *Helicobacter* no aparecimento de sintomas gástricos e lesões secundárias ao mastocitoma, contudo tal relação não pôde ser estabelecida. Guerra (2014), afirma que a presença da bactéria nem sempre está relacionada a ocorrência de dano tecidual detectável, tornando o papel do gênero *Helicobacter*, como determinante de gastrites em pequenos animais, tema ainda controverso.

No presente estudo, a concordância entre os achados endoscópicos e histológicos foi observada em apenas 11 (26,8%) dos casos estudados. Em estudo realizado em humanos com gastrite erosiva e/ou duodenite, Elta et al. (1987), mostraram uma fraca concordância entre os achados endoscópicos e os achados histopatológicos (56%), sendo que a concordância foi maior no duodeno (85%) do que no estômago, que variou entre 43 e 55% dependendo do local avaliado (fundo, corpo e antro). Day et al. (2008) sugerem que a interpretação das amostras na histologia, frequentemente, se torna difícil devido ao número e qualidade das amostras de tecido enviadas, fragmentação ou orientação desfavorável dos tecidos durante processamento e falta de um padrão internacional difundido para análise microscópica das alterações presentes nos tecidos.

A patogenia da ulceração gastrintestinal associada ao mastocitoma parece ser causada por um aumento nos níveis sanguíneos de histamina, que promovem excessiva produção de ácido gástrico por estimulação de receptores H₂ nas células parietais, aumento da motilidade e danos ao endotélio vascular de arteríolas e vênulas, levando a trombose intravascular e necrose isquêmica da mucosa (FOX et al., 1990; WELLE et al., 2008; DALECK, 2009; LONDON & THAMM, 2013). Alguns estudos sugerem que os cães com mastocitoma apresentam níveis de histamina plasmática significativamente mais altos do que cães normais (FOX et al., 1990; VAN GELDEREN et al., 2011),

entretanto, no presente estudo, não foram encontradas diferenças estatísticas entre a concentração de histamina plasmática nos animais acometidos por mastocitoma e no grupo controle. Semelhantemente, Ishiguro et al. (2003), também não constataram diferenças estatísticas na concentração plasmática de histamina, coletada dois dias antes do procedimento cirúrgico, radioterápico ou quimioterápico, entre o grupo de cães com mastocitoma (n=11) e o grupo controle (n=5). No entanto, os mesmos autores, ao separar os cães com mastocitoma cutâneo em: cães com presença de doença macroscópica e cães com presença de doença microscópica, Ishiguro et al. (2003), observaram diferenças estatísticas significantes entre o grupo de cães com doença microscópica e o grupo de cães com doença macroscópica evidente, de maneira que a concentração plasmática de histamina média foi maior no grupo de animais com doença macroscópica evidente do que no grupo com doença microscópica. No presente estudo, todos os animais apresentavam doenças macroscópicas evidentes, entretanto a mediana da concentração plasmática de histamina tanto no grupo de animais com MCT como no grupo controle, foi significativamente menor do que a mediana observada nos estudos de Van Gelderen et al. (2011) (mediana MCT: 0,7 ng/mL; mediana controle: 0,3 ng/mL), de Ishiguro et al. (2003) (mediana MCT: 0,39 ng/mL; mediana controle: 0,19 ng/mL) e do que a média observada por Fox et al. (1990) (média $2,9 \pm 2,2$ ng/mL). Sendo assim, sugere-se que tal diferença observada seja em decorrência do perfil dos cães incluídos no presente estudo, uma vez que devido aos critérios de inclusão, a grande maioria (82,9%) dos cães não apresentavam sinais clínicos intensos de degranulação mastocitária.

Dos cinco cães que tinham simultaneamente sinais clínicos, lesões gastrintestinais e elevação no valor dos níveis de histamina plasmática, um se destacou por apresentar valor da amina vasoativa consideravelmente acima do valor encontrado nos demais (2,59ng/mL). Além disso, este paciente apresentava sinais evidentes de degranulação mastocitária (edema peritumoral, aumento local da temperatura, aumento significativo do volume tumoral após realização de CAAF) e comportamento biológico mais agressivo. Embora, observado em apenas um caso, sugere-se que os valores plasmáticos da histamina possam ser mais elevados nesses casos. Da mesma forma, a progressão da doença neoplásica também parece contribuir com a elevação dos valores plasmáticos da histamina (ISHIGURO et al., 2003).

No presente estudo não foi possível observar relação significativa entre a presença ou ausência de sinais GI com os valores plasmáticos da histamina. No entanto Ishiguro et

al. (2003) sugerem que quando os sinais gastrintestinais não conseguem ser controlados com o tratamento, provavelmente os valores de histamina estão bastante elevados. No mesmo animal supracitado, com o valor de histamina plasmática inicial de 2,59 ng/mL, com o avançar da doença, surgiram vômitos incontroláveis e perda de peso acentuada. Este mesmo animal acabou vindo a óbito e ulcerações características do mastocitoma (HOWARD et al., 1969) foram observadas na mucosa do esôfago, estômago e duodeno no exame de necropsia.

Até o momento, pouco se sabe sobre o padrão de liberação de histamina em cães com mastocitoma. Em estudo realizado em cães com dermatite atópica, ao se comparar a capacidade de liberação de histamina nos cães doentes e nos cães saudáveis, diferenças estatísticas entre ambos os grupos não foram observadas. Entretanto, com a utilização estimulantes da degranulação mastocitária (cálcio ionóforo A23187 e concavalina A), a capacidade de liberação de histamina nos cães alérgicos foi duas vezes maior do que nos cães saudáveis com o uso da concavalina A (DeMORA et al., 1996). As razões para essa diferença não foram esclarecidas no estudo anteriormente citado, contudo os autores sugerem que a via de atuação do estimulante, bem como o estado de ativação observado nos mastócitos dos cães atópicos em comparação a forma não ativada observada nos cães saudáveis possam ter influenciado, aumentando a capacidade de liberação de histamina em cães alérgicos. Da mesma forma, apesar da ausência de estudos similares em cães com mastocitoma, pode-se sugerir que o padrão de liberação da histamina e, conseqüentemente, os picos de hiperhistaminemia possam ser diferentes, dependendo do grau de ativação do mastócito e do fator estimulante da degranulação, conforme observado em cães com dermatite atópica.

Sendo assim, outra questão a se discutir, refere-se ao valor e o tempo de exposição mínimos, necessários para causar lesão gástrica e, conseqüentemente, aparecimento de sintomas GI. Sabe-se que alguns fatores tais como, manipulação local do nódulo/tumor; frio, picadas de insetos, alguns fármacos (POHLMAN, 2010), podem desencadear a degranulação dos mastócitos e, conseqüente, liberação de histamina. Contudo, segundo Church & Levi-Shaffer (1987), os efeitos da liberação de histamina são rápidos, pois as enzimas (histamina-N-metiltransferase e diamina oxidase - histaminase) metabolizam a histamina em um período de 1-2 minutos, tornando difícil entender a influência da histamina em cães com mastocitoma. No presente estudo, a avaliação do valor de

histamina foi realizada de maneira pontual, não sendo possível estabelecer o padrão de liberação, a intensidade e duração da hiperhistaminemia nos cães avaliados.

Nenhuma correlação estatística foi estabelecida entre o valor de histamina plasmática e o tamanho tumoral, corroborando com os achados de Fox et al. (1990). Ishiguro et al. (2003) evidenciaram correlação estatística positiva entre o tamanho tumoral inicial e a dosagem de histamina, entretanto tal correlação não se manteve na avaliação final do tamanho tumoral. Sendo assim, os próprios autores do trabalho sugerem que a diferença encontrada em relação aos trabalhos de Fox et al. (1990), provavelmente se deva ao pequeno número de animais (n=11) no estudo e, ao fato de que a maioria destes animais apresentavam tumores grau II.

Ishiguro et al. (2003), observaram que a concentração de histamina foi maior em animais com envolvimento do linfonodo regional, sugerindo, que o valor de histamina plasmática possa estar correlacionado ao grau de disseminação tumoral. Entretanto no presente estudo, nenhuma associação positiva foi observada entre essas variáveis. Acredita-se que as diferenças entre os resultados possam ser em decorrência das diferentes taxas de metástase observadas. Ishiguro et al. (2003), obtiveram elevadas taxas de metástase (54,54%) e, no presente estudo, essa taxa foi de somente 29,3%.

Segundo sugerido por Fox et al. (1990), os valores de histamina nos cães com mastocitoma variam consideravelmente com o grau de anaplasia e celularidade do tumor. Contudo, nos estudos de Fox et al. (1990) e no presente estudo, não foram observadas correlações estatísticas positivas entre o grau histológico e os valores de histamina plasmática. Ao compararmos ambos os estudos, os resultados obtidos, no presente trabalho, para tumores indiferenciados (grau III/alto grau), foram bem inferiores e, possivelmente, por esse motivo uma relação positiva não foi estabelecida entre grau histológico e aumento de histamina plasmática. Com relação aos estudos de Fox et al. (1990), acredita-se que essa associação não foi estabelecida devido ao baixo número de animais na população estudada (n=17).

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos, conclui-se que apesar de frequentes, as lesões gastroduodenais foram consideradas leves no momento do diagnóstico e condizentes com os valores de histamina encontrados. No entanto, a ausência de relação significativa entre os fatores analisados sugere que a heterogeneidade da população possa ter contribuído para a obtenção dos resultados ou que outros fatores possam influenciar na degranulação dos mastócitos neoplásicos, causando hiperhistaminemia consistente e, conseqüente desenvolvimento de lesões GI.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AROCK, M. Similitudes et différences entre les mastocytes et le polynucléaire basophile. **Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique**, v. 44, n. 1, p. 23-36, 2004.

AUXILIA, S.; HILL, P. Mast cell distribution epidermal thickness and hair follicle density in normal canine skin: possible explanation for the predilection sites of atopic dermatitis? **Veterinary Dermatology**, v.11, n. 4, p. 247-254, 2000.

BAKER-GABB, M.; HUNT, G.; FRANCE, M. Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs: clinical behaviour and response to surgery. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. 12, p. 732-738, 2003.

BARSOTTI, G.; MARCHETTI, V.; ABRAMO, F. Primary conjunctival mast cell tumor in a Labrador retriever. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 1, p. 60-64, 2007.

BEAUMONT, P. R. et al. Mast cell sarcoma of the larynx in a dog: case report. **Journal of Small Animal Practice**, v. 20, v.1, p. 19-25, 1979.

BENINGO, K. E. et al. Subepidermal linear alignment of mast cells in inflammatory dermatoses of the dog. **Veterinary Dermatology**, v. 11, n. 1, p. 13-16, 2000.

BOOK, A. P. et al. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. **Radiology & Ultrasound**, v. 52, n. 5, p. 548-554, 2011.

BOOKBINDER, P. F.; BUTT, M. T.; HARVEY, H. J. Determination of the number of mast cell in lymph node, bone marrow, and buffy coat cytologic specimens from dogs. **Journal of American Medical Association**, v. 200, n. 11, p. 1648-1650, 1992.

BOSTOCK D. E.; DYE M. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 14, n. 1, p. 27-40, 1973.

BOSTOCK, D. E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **British Veterinary Journal**, v. 147, n. 1, p. 1-19, 1986.

BLACKWOOD, L. et al. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary Comparative Oncology**, v. 10, n. 3, e1-e29, 2012.

CAHALANE, A. K. et al. Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumours treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). **Journal of the American Medical Association**, v. 225, n. 3, p. 401-408, 2004.

CARBERRY, C. A.; FLANDERS, J. A.; ANDERSON, W. I et al. Mast cell tumor in the mandibular salivary gland in a dog. **The Cornell Veterinarian**, v. 77, n. 4, p. 362-366, 1987.

CASCON, C. M. **Avaliação clínica, endoscópica e histopatológica de cães com doença intestinal inflamatória**. 2011. 67.f. (Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

CHOI, Y. J. et al. Accuracy of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer bleeding. **Helicobacter**, v. 17, n. 2, p. 77-85, 2012.

CHURCH, M. K.; LEVE-SCHAFFER, F. The human mast cell. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 99, n. 2, p. 155-160, 1997.

CRUVINEL, W. M. et al. Sistema Imunitário Parte I- fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

DALECK, C. R. et al. Mastocitoma. In: DALECK C.R.; DE NARDI A.B.; RODASKI S. **Oncologia em cães e gatos**, 1 ed. São Paulo: Roca, 2009, cap. 16, p. 282-292.

DAY, M. J. et al. Histopathological Standards for the Diagnoses of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Sample from dog and cat: A report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of Comparative Pathology**, v. 138, n. 1, p. S1-S43, 2008.

DEAN, P. Mast cell tumors in dogs: diagnoses, treatment and prognosis. **Veterinary Medicine**, v. 83, p. 185-188, 1998.

DeMORA, F. et al. Skin mast cell releasability in dogs with atopic dermatitis. **Inflammation Research**, v. 45, n. 8, p. 424-427, 1996.

DOBSON, J.; SCASE, T. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 8, p. 424-431, 2007.

DOWNING, S. et al. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 12, p. 1718-1723, 2002.

ECKERSLEY, G. N.; BASTIANELLO, S.; VAN HEERDEN, J. An expansile secondary hypophyseal mastocytoma in a dog. **The Journal of South African Veterinary Association**, v. 60, n.2, p. 113-116, 1989.

EISNBERG, A. L. A. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. TNM: classificação de tumores malignos/ traduzido por Ana Lúcia Amaral Eisenber. 6 ed. Rio de Janeiro: INCA, 2004, 254p.

Disponível em <<http://www1.inca.gov.br/tratamento/tnm/>>. Acesso em 20 mar. 2015.

EKMAN, E.; FREDRIKSSON, M.; TROWALD-WIGH, G. Helicobacter spp. In the saliva, stomach, duodenum and faeces of colony dogs. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 1, p. 127-129, 2013.

ELSTON, L. B.; SUEIRO, F. A. R.; CAVALCANTI, J. N. Letter to the editor: The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. **Veterinary Pathology**, n. 46, n. 2, p. 362-365, 2009.

ELTA, G. H. et al. A study of the correlation between endoscopic and histological diagnoses in gastroduodenitis. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 82, n. 8, 1987.

FOX, L. E. et al. Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, n. 5, p. 242-246, 1990.

FOX, L. E. Mast cell tumors. In: MORRISON, William (Ed.). **Cancer in dogs and cats medical and surgical management**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. p. 479-488.

FULCHER, R. et al. Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 288, n. 2, p. 210-215, 2006.

GIEGER, T.,L. et al. Biologic behavior and prognostic factors for mast cell tumors of the canine muzzle: 24 cases (1990-2001), **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 5, p. 687-692, 2003.

GLEIXNER, K. et al. Synergistic antiproliferative effects of KIT tyrosine kinase inhibitors on neoplastic canine mast cells. **Experimental Hematology**, v. 35, n. 10, p. 1510-1521, 2007.

GOLDSCHMIDT, M.; HENDRICK, M. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: MEUTEN D.J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. Cap. 2, p.45-117.

GOMBAC, M. et al. Histological changes in stomachs of apparently healthy dogs infected with *Helicobacter*. **Acta Veterinaria**, v. 60, n. 2-3, p. 173-182, 2010.

GRAHN, B.; WOLFER, J.; RANDALL, J. Diagnostic ophthalmology orbital mast cell neoplasia. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 35, n. 11, p. 730-731, 1994.

GOVIER, S. Principles of Treatment for Mast Cell Tumors. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 103-106, 2003.

GROSS, T.; IHRKE, P.; WALDER, E. Histiocytic and mast cell tumors. In:_____. **Veterinary Dermatopathology**, St. Louis: Mosby, 1992. p. 465-73.

GROSS, T. L. et al. Mast cell tumors. In:_____. **Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathological Diagnosis**. 2 ed. Oxford: Blackwell Science, 2005. cap 36, p. 853-865.

GUERRA, P. R. **Detecção do gênero *Helicobacter* em fragmentos de biópsia gástrica de cães e gatos**, 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2014.

HALLSTROM, M. Mastocytoma in the third eyelid of a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 11, n. 7, p. 469-472, 1970.

HARVEY, H. J.; SYKES, G. Tracheal mast cell tumor in a dog. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 180, n. 9, p. 1097-1100, 1982.

HILL, P.; MARTIN, R. A review of mast cell biology. **Veterinary Dermatology**, v. 9, p. 145-166, 1998.

HOWARD, E. B. et al. Mastocytoma and gastroduodenal ulceration. **Veterinary Pathology**, v. 6, n. 2, p. 146-158, 1969.

HUME, C. T. et al. Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 47, n. 01, p. 37-44, 2011.

ISHIGURO, T. et al. Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 194-198, 2003.

IWATA, N. et al. Canine Extracutaneous Mast Cell Tumors Consisting of Connective Tissue Mast Cells. **Journal of Comparative Pathology**, v. 123, n. 4, 306-310, 2000.

KAWAKAMI, T.; GALLI, S. Regulation of mast cell and basophil function and survival by IgE. **Nature reviews: Immunology**, v. 2, n. 10, p. 773-783, 2002.

KIRSHENBAUM, A. Regulation of mast cell number and function. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 14, n. 3, p. 497-516, 2000.

KITAYAMA, H. et al. Neoplastic Transformation of Normal Hematopoietic Cells by Constitutively Activating Mutations of c-Kit Receptor Tyrosine Kinase. **Blood**, v. 88, n. 3, p. 995-1004, 1996.

KIUPEL, M. et al. Impact of tumour depth, tumor location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, n. 6, p-280-286, 2005.

KIUPEL, M. et al. Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 147-155, 2011.

KRICK, E. L. et al. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 2, p. 130-138, 2009.

LENNARTSSON, J. et al. Normal and Oncogenic Forms of the Receptor Tyrosine Kinase Kit. **Stem Cell**, v. 23, n. 1, p. 16-43, 2005.

LIDBURY, J. A.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M. Gastric Histopathology abnormalities in dogs: 67 cases (2002 – 2007). **Journal of the American Medical Association**, v. 234, n. 9, 2009.

LONDON, C., Biologia dos tumores In: Ettinger & Feldman. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 01, cap. 94, p.506-512.

LONDON, C.; SEGUIN, B. Mast cell tumors in the dog. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 473-489, 2003.

LONDON, C. A.; THAMM, D. H. Mast Cell Tumors. In: WITHROW S. J.; VAIL D. M.; PAGE R. L. **Small Animal Clinical Oncology**. 5 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. p. 335-355.

MACKOWIAK, I. I. et al. E-cadherin in canine mast cell tumors: Decreased expression and altered subcellular localization in grade 3 tumors. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 3, p. 405-411, 2012.

MACY, D. W. Canine mast cell tumours. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 15, n. 4, p. 783-803, 1985.

MACY, D. W. Canine and Feline mast cell tumors: Biologic behavior, diagnosis, and therapy. **Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)**, v. 01, p. 72-83, 1986.

MADEWELL, B. R. Cellular proliferation in tumours: a review of methods, interpretation, and clinical applications. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n. 4, p. 334-340, 2001.

MARCONATO, L. et al. Morphometrical approach for predicting regional lymph node micrometastatic load in canine mast cell tumours: preliminary results. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 3, p. 162-170, 2008.

METCALFE, D. D. Mast cells and mastocytosis. **Blood**, v. 112, n. 4, p. 946-956, 2008.

MISDORP, W. Mast cells and canine mast cell tumours: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 26, n. 4, p. 156-169, 2004.

MOORE, A. Radiation therapy for the treatment of tumours in small companion animals. **Veterinary Journal**, v. 164, n. 3, p. 176-187, 2002.

MUKARATIRWA, S. Prognostic and predictive markers in canine tumours: rationale and relevance. **A review of Veterinary Quarterly**, v. 27, n. 2, p. 52-64, 2005.

MULLINS, M. N. et al. 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). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n.1, p. 91-95, 2006.

MURPHY, S. Mast Cell Tumors. In: DOBSON, J. M.; LASCELLES, D. B. X. **BSAVA: manual of Canine and Feline Oncology**, 3 ed. Gloucester: BSAVA, 2007, p. 161-167, 2007.

MURPHY, S. et al. Effects on stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. **The Veterinary Record**, v. 158, n. 9, p. 287-291, 2006.

NAGANOBU, K. et al. Mast Cell Tumor in the Nasal cavity of a dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, n. 9, p. 1009-1011, 2000.

NATIVIDADE, F. S. et al. Análise de sobrevivência e fatores prognósticos de cães com mastocitoma cutâneo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 874-884, 2014.

NORTHROP, E. W. et al. 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**, v. 17, n. 6, p. 561-564, 2005.

NOVIANA, D. et al. Distribution, histochemical and enzyme histochemical characterization of mast cells in dogs. **Journal of Molecular Histology**, v. 35, n.2, p. 123-32, 2004.

O'CONNELL, K.; THOMSON, M. Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 11, n. 1, p. 51-62, 2011.

O'KEEFE, D. A. et al. Systemic mastocytosis in 16 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 1, n. 2, p. 75-80, 1987.

O'KEEFE, D. Canine Mast Cell Tumors. **The Veterinary Clinics of Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 1105-1115, 1990.

OLIVEIRA, J. M .P. **Aspectos patológicos do mastocitoma cutâneo canino: relação com características epidemiológicas e clínicas e seu valor prognóstico**. 2008. 237f. (Tese de doutorado apresentada ao programa de pós-graduação em ciências veterinárias) Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real 2008.

PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 5, p. 561-564, 1984.

POHLMAN, L. M. Basophils, Mast Cells, and their Disorders. In: WEISS D. J.; WARDROP K. J. (Eds.). **Schalm's: Veterinary hematology**. 6. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. cap. 44. p. 290-297.

PREZIOSI, R.; SARLI, G.; PALTRINIERI, M. Multivariate Survival Analysis of Histological Parameters and Clinical Presentation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumours. **Veterinary Research Communication**, v. 31, n. 3, p. 287-296, 2007.

PROPHET, E. B.; MILLS, R. Laboratory Methods in Histotechnology. **Armed Forces Institute of Pathology**, Washington, DC, p.279, 1992.

REGUERA, M.; FERRER, L.; RABANAL, R. Evaluation of an intron deletion in the c-kit gene of canine mast cell tumors. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63 n 9, p. 1257-1261, 2002.

RIVA, F. et al. A Study of Mutations in the c-kit gene of 32 Dogs with Mastocytoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 4, p. 385-388, 2005.

ROBBIE-RYAN, M.; BROWN, M. A. The role of mast cells in allergy and autoimmunity. **Current opinion in Immunology**, v. 14, n. 6, p. 728-733, 2002.

RODASKI, S.; WERNER, S. Neoplasias de pele. In: DALECK C.R., DE NARDI A.B.; RODASKI S. **Oncologia em cães e gatos**. 1 ed. São Paulo: Roca, 2009. cap 15, p. 254-279.

ROGERS, K. S. Mast cell tumors: Dilemmas of diagnosis and treatment. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v.26, n. 1 p.87-102, 1996.

ROMANSIK, E.,M. et al. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 3 p. 335-341, 2007.

SABATTINI, S. et al. Histologic grading of canine mast cell tumor: Is 2 better than 3? **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 1, p. 1-4, 2014.

SCASE, T. J. et al. Canine mast cell tumors: Correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 1, p. 335-341, 2006.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. G. Mast cell tumour. In: _____. **Small Animal Dermatology**, 6 ed. St. Louis, MO: W.B. Saunders, 2001, p. 1320-1330.

SFILIGOI, G. et al. Outcome of dogs with mast cell tumours in the inguinal or perineal region versus other cutaneous location: 124 casos (1990-2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 8, p. 1368-1374, 2005.

SHIMIZU, H. et al. Demonstration of chymotryptic and tryptic activities in mast cells of rodents: comparison of 17 species of the family muridae. **Journal of Comparative Pathology**, v. 125, n. 1, p. 76-79, 2001.

STEFFEY, M. et al. Ureteral mast cell tumor in a dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 1, p. 82-85, 2004.

STREFEZZI, R. F. et al. Avaliação da proliferação celular como indicador prognóstico para mastocitomas cutâneos caninos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 07, p. 559-565, 2010.

TAULESCU, M. et al. Morphological aspects in Gastritis induced by *Helicobacter pylori* in dogs. **Veterinary Medicine**, v. 65, n. 1, 2008.

THAMM, D.; VAIL, D. Mast cell tumors. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. **Small Animal Clinical Oncology**. 4. ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2007. p. 402-424.

THARP, M.; LONGLEY, B.J. Jr. Mastocytosis. **Dermatologic Clinics**, v. 19, n. 4, p. 679-696, 2001.

VALE, F. F.; MÉGRAUD, F.; VÍTOR, M. B. J. Geographic distribution of methyl transferases of *Helicobacter pylori*: evidence of human host population isolation and migration. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 193, p.1-10, 2009.

VAN GELDEREN, A.; ARCHER, J.; HERRTAGE, M. E. Pre and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumors. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, n. 3, p. 209-215, 2011.

VIEIRA, F. T. et al. Frequência e distribuição de *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica de cães. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 25-31, 2012.

WEBSTER, J. D.; KIUPEL, M.; YUZBASCIYAN-GURKAN, V. Evaluation of the kinase domain of *c-KIT* in canine cutaneous mast cell tumors. **BMC Cancer**, v. 6, n 85, p. 1-8, 2006a.

WEBSTER, J. D. et al. The role of tumorigenesis: Evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. **Neoplasia**, v. 8, n. 2, p. 104-111, 2006b.

WEBSTER, J. D. et al. Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with *c-KIT* and Its Role in prognostication. **Veterinary Pathology**, v. 44, p. 298-308, 2007.

WELLE, M. M. et al. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 6, p. 321-339, 2008.

WILCOCK, B. Histopathology. In: WASHABAU, R. J. & DAY, M. J. Canine & Feline Gastroenterology, 1 ed. St. Louis: Elsevier, 2013. cap 29, p. 333-385.

WU, H.; HAYASHI, T.; INOUE, M. Immunohistochemical expression. of p27 and p21 in canine cutaneous mast cell tumors and histiocytomas. **Veterinary Pathology**, v. 4, n. 3, p. 296-299, 2004.

YONG, L. C. J. The mast cell: origin, morphology, distribution, and function. **Experimental Toxic Pathology**, v. 49, n. 6, p. 409-424, 1997.

ZAPPULLA, J. P. et al. **Mast cells**: new targets for multiple sclerosis therapy? **Journal of Neuroimmunology**, v. 131, n. 1, p. 05-20, 2002.

ZAVODOVSKAYA, R.; CHIEN, M.; LONDON, C. Use of kit internal tandem duplication to establish mast cell tumor clonality in 2 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 6, p. 915-17, 2004.

ZEMKE, D.; YAMINI, B.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. Mutations in the justamembrane domain of c-KIT are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 5, p 529-535, 2001.

ANEXO 1 – Carta de Aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 25301

Título: Frequência e intensidade de lesões gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo e associação com características clínica, histopatológica e imuno-histoquímica

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

DANIEL GUIMARÃES GERARDI - coordenador desde 01/08/2013
LUCIANA OLIVEIRA DE OLIVEIRA - pesquisador desde 01/08/2013
DAVID DRIEMEIER - pesquisador desde 01/08/2013
LUCIANA SONNE - pesquisador desde 01/08/2013
ANELISE BONILLA TRINDADE - pesquisador desde 01/08/2013
SAULO PETINATTI PAVARINI - pesquisador desde 01/08/2013
YURI MACHADO LOPES - pesquisador desde 01/08/2013
Gabriela Reis Ledur - pesquisador desde 01/08/2013

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 12/08/2013 - Sala do 2º andar, prédio da Reitoria, Campus Centro, Porto Alegre, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 50 cães, de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.

Porto Alegre, Segunda-Feira, 26 de Agosto de 2013

STELA MARIS KUZE RATES
Coordenador da comissão de ética

APÊNDICE 1 – Termo de compromisso livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**Dados de Identificação**

Título do Projeto: Avaliação de alterações gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo

Pesquisador responsável: Daniel Guimarães Gerardi

Instituição a que pertence o pesquisador responsável: UFRGS

Telefones para contato: (____) _____ (____) _____

Nome do proprietário: _____

R.G: _____

Nome do animal: _____ **Idade:** _____ **Raça:** _____

Sexo: _____ **Número da ficha:** _____

Seu cão está sendo convidado para participar da pesquisa **“Avaliação de alterações gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo”**

Seu cão foi selecionado e a participação do mesmo não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir e retirar seu consentimento para o seu cão fazer parte da pesquisa. Sua recusa não trará nenhum prejuízo na relação do seu animal com o pesquisador ou com a instituição.

O projeto consiste na avaliação, por meio de endoscopia, da mucosa do estômago e do duodeno (parte inicial do intestino), dos cães com diagnóstico confirmado de mastocitoma canino. O mastocitoma é um câncer de pele originado de células chamadas de mastócitos. Os mastócitos normais fazem parte do sistema imune e participam dos processos de alergia. Essas células liberam uma substância chamada histamina que entre outras ações pode provocar vômitos decorrentes de gastrite e úlcera gastroduodenal. Nos cães com mastocitoma, os mastócitos cancerosos podem liberar uma quantidade aumentada de histamina e, portanto é relativamente comum o surgimento desses sintomas.

Para avaliar se existem sintomas de gastrite e/ou úlcera gastroduodenal nos cães com mastocitoma indica-se a realização de exame de endoscopia digestiva alta. Esse exame consiste da avaliação com aparelho endoscópico que por meio de fibras ópticas

acopladas a uma fonte de luz e uma câmera de vídeo permite o exame da superfície da mucosa do estômago e do duodeno. Também por esse exame consegue-se retirar pequenos fragmentos da mucosa desses dois órgãos para exame microscópico (histopatológico).

Os objetivos deste estudo são realizar a avaliação endoscópica de possíveis lesões gastroduodenais em cães portadores de mastocitoma cutâneo. Ao autorizar a participação do seu cão nesta pesquisa, por meio da assinatura do presente termo, ele será submetido a exame clínico completo, coleta de sangue venoso, radiografia de tórax, ultrassonografia abdominal e exame citológico do tumor por meio de punção por agulha fina. Após a confirmação do diagnóstico de mastocitoma será agendado o procedimento endoscópico e cirúrgico que serão realizados com o paciente sob anestesia geral. Durante o procedimento endoscópico será verificada a presença de lesões no estômago e no duodeno. Além disso serão coletados pequenos fragmentos da camada superficial desses órgãos para exame microscópico (histopatológico).

Os benefícios relacionados com a participação do seu cão são a completa caracterização do estado geral, da presença de lesões em estômago e duodeno e do câncer em questão. Não há riscos à saúde do seu cão relacionados com a participação dele na pesquisa, somente aqueles inerentes à própria doença que seu cão já apresenta e ao procedimento anestésico.

As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a participação do seu cão. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do seu cão, agora ou a qualquer momento.

Data, nome e assinatura do pesquisador

Av. Bento Gonçalves, 9090 – Agronomia, Porto Alegre/RS

CEP: 91540-000

Telefone: 51 3308-6922

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da participação do meu cão na pesquisa e concordo em participar do mesmo. Ao assinar esse termo você autoriza também o registro audiovisual do seu cão.

Data, nome e assinatura do proprietário/responsável pelo cão

APÊNDICE 2- Achados endoscópicos separados por região (esôfago, estômago e duodeno) de cada paciente.

Animal	Raça	Sexo	Idade	Peso/EC	Esôfago	Estômago	Duodeno
1	SRD	Macho	5 a.	17,5 / 5	S/A	S/A	PPE
2	Rottweiler	Macho	7 a.	54 / 8	S/A	S/A	S/A
3	Bulldog	Macho	3 a.	34,5 / 6	ER	S/A	DNA
4	SRD	Fêmea	7 a.	16,3 / 5	S/A	HR	S/A
5	Pitbull	Fêmea	9 a.	20 / 4	S/A	S/A	S/A
6	Boxer	Fêmea	10 a.	28,7 / 5	S/A	HR	S/A
7	Pitbull	Fêmea	9 a.	37 / 5	ER	HG	S/A
8	Boxer	Fêmea	7 a.	20,9 / 5	S/A	HG; P	S/A
9	Pinscher	Fêmea	7 a.	6 / 6	S/A	HR	S/A
10	Pitbull	Fêmea	9 a.	19 / 5	S/A	HR	MI
11	Shih-Tzu	Macho	7 a.	5 / 6	S/A	S/A	S/A
12	Boxer	Macho	9 a.	34,5 / 7	S/A	ME	DNA
13	Boxer	Macho	7 a.	32,5 / 5	S/A	S/A	MI
14	Rotweiller	Macho	3 a.	45,5 / 5	S/A	S/A	S/A
15	SRD	Fêmea	7 a.	24 / 6	S/A	HR; ME	DNA
16	Dachshund	Macho	4 a.	6 / 5	S/A	HR	DNA
17	SRD	Fêmea	15 a.	38,7 / 6	S/A	S/A	DNA
18	Boxer	Macho	7 a.	40,7 / 7	S/A	HR; ME	S/A
19	SRD	Fêmea	10 a.	8,1 / 7	S/A	AG	HG; MF; PPE
20	SRD	Fêmea	5 a.	9,1 / 7	S/A	AG	DNA
21	Boxer	Macho	6 a.	20,94 / 5	S/A	S/A	HG
22	Boxer	Fêmea	6 a.	28,8 / 6	S/A	EM	MF
23	SRD	Fêmea	10 a.	36 / 8	S/A	S/A	HG
24	SRD	Macho	6 a.	20 / 5	S/A	MI	S/A
25	SRD	Fêmea	5 a.	14 / 9	S/A	S/A	MI
26	Boxer	Macho	7 a.	39 / 6	S/A	HG	S/A
27	SRD	Fêmea	8 a.	15 / 9	S/A	HR	S/A
28	Dogue Alemão	Fêmea	10 a.	41,1 / 5	S/A	HG; P	DNA
29	Boxer	Fêmea	9 a.	32 / 8	S/A	S/A	DNA
30	Labrador	Fêmea	5 a.	36,5 / 5	S/A	S/A	HG
31	SRD	Fêmea	13 a.	6,45 / 5	S/A	P	HG
32	American	Fêmea	6 a.	22,55 / 6	S/A	S/A	HG
33	Pitbull	Fêmea	9 a.	31,7 / 6	S/A	S/A	S/A
34	SRD	Macho	7,5 a.	11,8 / 6	S/A	S/A	DNA
35	SRD	Fêmea	12 a.	15,8 / 7	S/A	S/A	S/A
36	SRD	Fêmea	8,5 a.	9,2 / 8	S/A	MF	MF
37	SRD	Macho	10 a.	17,5 / 5	S/A	HR; AG	S/A
38	Labrador	Fêmea	9 a.	32,2 / 5	S/A	HR; AG	S/A
39	SRD	Macho	11 a.	16 / 5	S/A	S/A	AG
40	Pitbull	Fêmea	4 a.	22,4 / 5	S/A	S/A	AG
41	SRD	Fêmea	8 a.		S/A	LHP	HG; AG

PPE = Placas de Peyer evidentes; ER = Esofagite de refluxo; HR = Hiperemia regional de mucosa; HG = Hiperemia generalizada de mucosa; P = Pólipo; MI= Mucosa Irregular; ME = Mucosa erosiva; AG = Aumento da granulosidade; MF = Mucosa friável; EM =

edema de mucosa; LHP = Lesões hemorrágicas puntiformes; S/A = Sem alteração; DNA = Duodeno não avaliado; EC = Escore corporal.