

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

SÍNDROME PARANEOPLÁSICA GASTRINTESTINAL E RELAÇÃO COM O  
PROGNÓSTICO EM CÃES COM MASTOCITOMA CUTÂNEO: ESTUDO  
RETROSPECTIVO ENTRE OS ANOS DE 2013 E 2020

Gabriela Reis Ledur

PORTO ALEGRE

2023

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

**SÍNDROME PARANEOPLÁSICA GASTRINTESTINAL E RELAÇÃO COM O  
PROGNÓSTICO EM CÃES COM MASTOCITOMA CUTÂNEO: ESTUDO  
RETROSPECTIVO ENTRE OS ANOS DE 2013 E 2020**

**Autora: Gabriela Reis Ledur**

**Orientador: Prof. Dr. Laerte Ferreira**

**Co-orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi**

**Tese apresentada como requisito  
para a obtenção do grau de Doutor  
em Ciências Veterinárias, na área  
de concentração de Medicina  
Veterinária Preventiva e Patologia,  
na Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul**

**PORTO ALEGRE**

**2023**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

#### CIP - Catalogação na Publicação

Ledur, Gabriela Reis  
Síndrome paraneoplásica gastrointestinal e relação com prognóstico em cães com mastocitoma cutâneo: estudo retrospectivo entre os anos de 2013 e 2020 / Gabriela Reis Ledur. -- 2023.  
60 f.  
Orientador: Laerte Ferreira.

Coorientador: Daniel Guimarães Gerardi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Tempo livre de doença. 2. Sobrevida. 3. Estômago. 4. Duodeno. 5. Lesão gastroduodenal. I. Ferreira, Laerte, orient. II. Gerardi, Daniel Guimarães, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado

**SÍNDROME PARANEOPLÁSICA GASTRINTESTINAL E RELAÇÃO COM O  
PROGNÓSTICO EM CÃES COM MASTOCITOMA CUTÂNEO: ESTUDO  
RETROSPECTIVO ENTRE OS ANOS DE 2013 E 2020**

Elaborada por

**Gabriela Reis Ledur**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Doutor em Ciências Veterinárias**

**Comissão Examinadora**

---

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi, UFRGS

---

Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi, UNESP

---

Prof. Dr. Cristiano Gomes, UFRGS

---

Prof. Dr. Anelise Bonilla Trindade-Gerardi, UFRGS

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Faculdade de Veterinária por terem me acolhido nestes 10 anos. Ao Hospital de Clínicas Veterinárias por fornecer recursos, apoiar a execução do projeto em todas as suas etapas e ter se tornado meu local de trabalho e segunda casa.

Aos tutores e cães inclusos nesta pesquisa, por terem cedido seus queridos *pets* ao estudo. Por terem ajudado da melhor maneira possível na obtenção das informações retrospectivas e por terem estado comigo durante estes anos de acompanhamento.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Laerte Ferreira.

Ao meu querido Coorientador e amigo Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi com quem sempre pude contar, seja no campo profissional ou no campo pessoal. Ele que me acompanha desde graduação na Universidade de Brasília acreditando sempre em mim. Ele foi parte essencial nesta caminhada, me fazendo até aqui. A ele todo meu carinho, respeito e admiração!

A Prof. Anelise Bonilla Trindade-Gerardi sempre esteve ao meu lado como uma grande amiga e ótima profissional.

Agradeço ao Setor de Patologia Veterinária, em especial ao Prof. Saulo Pavarini e a amiga e colega de trabalho Marcele Bandinelli por terem sempre me recebido com atenção e transmitido seu conhecimento em uma área que é um grande desafio para mim. A Marcele, em especial, agradeço toda a ajuda na busca dos blocos de parafina, a pesquisa dos laudos, os cafezinhos, os momentos do choro e desespero e por todo o conhecimento que sempre transmite a cada conversa. A ela minha admiração pela pessoa e profissional que é!

As queridas estagiárias Keylla e Cris por todo o apoio durante as intempéries que enfrentamos para execução desta tese. A Keylla, que agora além de estagiária se tornou uma grande amiga, agradeço por cada telefonema, cada e-mail e mensagem de *what's* enviada aos tutores na busca das informações. Agradeço a tese que me trouxe uma pessoa tão especial.

Agradeço a minha família por terem sido minha base e meu sustento nestes 10 anos fora de casa. Em especial a minha mãe Sônia, meu pai Heitor (*in memoriam*), minha irmã Michelle, minha prima Eliane e minhas tias Cristina, Marcella e Cidinha. Meu pai, meu grande incentivador na carreira de Médica Veterinária fica a saudade e amor. Tenho certeza de que onde quer que ele esteja está orgulhoso de mais esta conquista.

A nova família que eu ganhei no ano de 2020. Agradeço ao Fabian, Michelle, Noemi, Bruna e Marco La Porta.

Aos meus colegas de trabalho (médicos veterinários TAE's do HCV-UFRGS) por estarem sempre comigo. Entenderem as ausências em determinados momentos. Por dividirem o dia-a-dia, serem colegas de trabalho, amigos e psicólogos ao mesmo tempo.

Agradeço a todos os funcionários do HCV-UFRGS que me auxiliaram de maneira direta ou indireta na execução da pesquisa.

Agradeço aos meus cães que criaram em mim o amor pela Medicina Veterinária (Lion, Ana Raio, Luna, Duke, Dara, Happy e Summer).

Por fim, agradeço a Deus por todos os momentos vividos, todas as pessoas maravilhosas que cruzaram meu caminho, por toda saúde e força que me deu para chegar ao fim de mais uma etapa.

## **Síndrome paraneoplásica gastrointestinal e a relação com o prognóstico em cães com mastocitoma cutâneo: estudo retrospectivo entre os anos de 2013 e 2020**

Autora: Gabriela Reis Ledur

Orientador: Prof. Dr. Laerte Ferreira

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi

### **RESUMO**

As síndromes paraneoplásicas (SPN) são um grupo heterogêneo de alterações e sinais clínicos não associadas as ações invasivas das neoplasias e/ou suas metástases. Rotineiramente, as SPN comprometem a condição clínica do paciente, aumentam a morbidade e mortalidade, contribuindo para um pior prognóstico e menor expectativa de vida. Na espécie canina o mastocitoma é um tumor cutâneo, frequentemente, associado a ocorrência de SPN graves, sendo a ulceração gastroduodenal (UGD) a principal delas. A fisiopatogênia da UGD ainda não é bem elucidada, contudo é sugerida uma associação com valores séricos elevados de histamina. Informações sobre a real incidência de SPN na Medicina Veterinária ainda são inconsistentes e, em se tratando dos mastocitomas, desconhece-se outros estudos relacionando a ocorrência de sinais clínico, valores de histamina e lesões gastrointestinais macroscópicas e microscópicas com intervalo livre de doença (ILD) e sobrevida (SV) em cães. Assim sendo, esta tese foi dividida em dois capítulos. O primeiro deles, trata-se de uma revisão de literatura sobre o mastocitoma cutâneo canino e alguns de seus fatores prognósticos mais utilizados. O segundo capítulo trata-se de um artigo original retrospectivo, no qual buscou-se observar a ocorrência de SPN e sua relação com intervalo livre de doença e sobrevida, pela revisão de prontuários e acompanhamentos ao longo dos anos de 2013 a 2020. Para tal foram avaliados 41 prontuários e, após seleção, foram incluídos 38 cães com diagnóstico histológico de mastocitoma. Todos os cães passaram por avaliação clínica, endoscópica e dosagem de histamina plasmática no momento do diagnóstico. Foi considerada SPN a ocorrência de sinais clínicos GI e/ou presença de lesão GI na macroscopia e/ou microscopia. Devido à falta de um ponto de corte em relação aos níveis séricos de histamina, optou-se por estratificar aleatoriamente estes valores em três subcategorias, buscando relacionar estas categorias com o ILD e a SV. Foram observados sinais clínicos em 57,9% dos casos, 68,4% apresentavam lesão macroscópica GI e 42,1% lesão GI microscópica. A mediana do valor de histamina plasmática foi de 0,01ng/mL e, aproximadamente metade dos cães (52,6%) apresentaram valores inferiores ao valor da mediana. O intervalo livre de doença teve uma mediana de 18,1 meses. Com relação a SV, ao final do estudo (dez/2020), 71,1% dos cães vieram a óbito e 28,9% estão em seguimento. Neste grupo avaliado, a análise estatística não foi capaz de demonstrar relação entre a ocorrência de SPN e valores de histamina plasmática e as variáveis de tempo livre de doença e expectativa de vida, todavia não se descarta tal hipótese, pois acredita-se que o perfil da população que em sua maioria foi composta por casos leves da doença, possa ter contribuído para estes resultados.

**Palavras chaves:** tempo livre de doença, sobrevida, estômago, duodeno, lesão gastroduodenal.

**Gastrointestinal paraneoplastic syndrome and the relationship with prognosis in dogs with cutaneous mast cell tumor: a retrospective study between the years 2013 and 2020.**

Author: Gabriela Reis Ledur

Advisor: Prof. Dr. Laerte Ferreira

Co-supervisor: Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi

**ABSTRACT**

Paraneoplastic syndromes (PNS) are a heterogeneous group of alterations and clinical signs that are not associated with the invasive actions of the neoplasms and/or their metastases. Routinely, PNS can compromise the patient's clinical conditions, increase the morbidity and mortality, consequently, contribute to a worse prognosis and a shorter life expectancy. In canine specie, mastocytoma is a cutaneous neoplasm, often associated with the occurrence of serious PNS with gastroduodenal ulceration being the main one. The physiopathogenesis of the gastroduodenal ulceration is still not well understood, however an association with elevated histamine values has been suggested. In Veterinary Medicine information on the real incidence of PNS is still inconsistent and in the case of mast cell tumors other studies relating the occurrence of clinical signs, plasma histamine values and macroscopic and/or microscopic gastrointestinal (GI) lesions with disease-free-interval and survival (SV) time are unknown. Therefore, this dissertation was divided into two chapters. The first one is a literature review on canine mast cell tumor and some of its most widely used prognostic factors. The second chapter is an original retrospective article in which we observed the occurrence of PNS and its relationship with disease-free-interval and survival time, by reviewing medical records and follow-up over the years 2013 to 2020. For this purpose, 41 records were evaluated and, after selection, 38 dogs with histological diagnosis of mast cell tumor were included. All dogs underwent clinical, endoscopic and plasma histamine measurements at the time of diagnosis. PNS was considered to be the occurrence of clinical GI signs and/or presence of lesions in macroscopy and/or microscopy. Due to the lack of a cutoff point for histamine serum values, it was decided to randomly stratify these values into three categories, seeking to relate these categories to DFI and SV. Clinical signs were observed in 57,9% of the cases, 68,4% had macroscopic GI lesions and 42,1% had microscopic GI lesions. The median plasma histamine value was 0,01ng/mL and approximately half of the dogs (52,6%) had values below the median value. The disease-free interval had a median of 18,1 months. Regarding SV, at the end of the study (Dec/2020), 71,1% of the dogs died and 28,9% are being followed up. In this evaluated group, the statistical analysis was not able to demonstrate a relationship between the occurrence of PNS and the histamine plasma values and the variables DFI and life expectancy, however this hypothesis is not discarded as it is believed that the profile of the population, in general mild cases of the disease, may have contributed to these results.

**Key words:** disease-free-interval, survival time, stomach, duodenum, gastroduodenal injury.



# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>3. CAPÍTULO 1</b> .....	<b>13</b>
<b>1 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
1.1 MASTOCITOMA CUTÂNEO CANINO .....	14
1.1.1 Aspectos epidemiológicos e etiopatogenia.....	14
1.1.2 Histórico e sinais clínicos .....	14
1.2 SÍNDROME PARANEOPLÁSICA .....	16
1.2.1 Ulceração gastrintestinal.....	17
1.2.2 Concentração plasmática de histamina .....	18
1.3 PROGNÓSTICO DO MASTOCITOMA .....	19
1.3.1 Classificação histopatológica .....	20
1.3.1.1 Classificação histopatológica de Patnaik; Ehler; Macewen (1984) .....	20
<b>GRAU HISTOLÓGICO</b> .....	21
<b>DESCRIÇÃO</b> .....	21
1.3.1.2 Classificação histopatológica segundo Kiupel et al (2011).....	21
1.3.2 Índice Mitótico .....	22
1.3.3 Estadiamento clínico.....	22
1.3.4 Avaliação do linfonodo regional.....	23
1.3.5 Aspectos clínicos do mastocitoma.....	24
1.3.6 Marcadores moleculares.....	25
<b>2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>27</b>
<b>4. CAPÍTULO 2</b> .....	<b>35</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
SELEÇÃO DOS PACIENTES .....	38
AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO TUMOR E ÍNDICE MITÓTICO.....	43
TRATAMENTO .....	43
INTERVALO LIVRE DE DOENÇA E SOBREVIDA .....	43
<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>43</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>54</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>58</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 01** Achados de necrópsia evidenciando áreas de ulceração no duodeno e presença de pequeno nódulo metastático no fígado.....45.
- Figura 02** Achado de necrópsia evidenciando duodeno com impregnação por bile, espessamento difuso moderado da parede e duas áreas focais de ulceração.....45
- Figura 03** Curva Kaplan-Meier mostrando a probabilidade global acumulada do tempo livre de doença ao longo do tempo calculado em meses e quadro demonstrativo das probabilidades ao longo de seis anos.....46
- Figura 04** Curva Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem sinal clínico e quadro demonstrativo das probabilidades ao longo de seis anos.....47
- Figura 05** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem lesão GI macroscópica e quadro demonstrativo das probabilidades ao longo de seis anos.....47
- Figura 06** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem alteração histopatológica GI (lesão microscópica) e quadro demonstrativo das probabilidades ao longo de seis anos.....48
- Figura 07** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre os subgrupos aleatórios da concentração de histamina plasmática no momento do diagnóstico e quadro demonstrativo dos três subgrupos da concentração de histamina plasmática e a probabilidade acumulada ao longo de seis anos.....49
- Figura 08** Curva de sobrevida Kaplan-Meier mostrando da taxa de sobrevida global acumulada ao longo do tempo e quadro demonstrativo das probabilidades de sobrevida global ao longo de um período de 6 anos...50
- Figura 09** Curva de sobrevida Kaplan-Meier mostrando a taxa de sobrevida acumulada e sua relação com a ocorrência de sinais clínicos e quadro demonstrativo das probabilidades de sobrevida em ambos os grupos ao longo de 6 anos.....50
- Figura 10** Curva de sobrevida Kaplan-Meier mostrando a taxa de sobrevida acumulada e sua relação com a ocorrência de sinais GI macroscópicos (macro) e quadro demonstrativo das probabilidades de sobrevida em ambos os grupos ao longo de 6 anos.....51
- Figura 11** Curva de sobrevida Kaplan-Meier mostrando da taxa de sobrevida acumulada e sua relação com a ocorrência de alterações histológicas GI e quadro demonstrativo das probabilidades de sobrevida em ambos os grupos ao longo de 6 anos.....52
- Figura 12** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada de sobrevida e a relação entre os subgrupos aleatórios da concentração de histamina plasmática no momento do diagnóstico. Quadro demonstrativo dos três subgrupos da concentração de histamina plasmática e a sobrevida ao longo de seis anos.....53

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 01

- Tabela 01** - Tabela demonstrando a classificação histológica dos mastocitomas cutâneos caninos segundo os critérios propostos por Patnaik; Ehler; Macewen (1984).....21
- Tabela 02** - Tabela demonstrando a classificação histológica dos mastocitomas cutâneos caninos segundo os critérios propostos por Kiupel *et al.*, (2011).....22
- Tabela 03** - Tabela demonstrativa do sistema do estadiamento clínico para o mastocitoma cutâneo segundo critérios propostos pela Organização Mundial de Saúde.....23

### CAPÍTULO 02

- Tabela 01** - Tabela demonstrativa de todas as variáveis avaliadas no momento do diagnóstico (entre os anos 2013 e 2015) nos 38 cães inclusos neste estudo retrospectivo longitudinal.....39
- Tabela 02** - Tabela demonstrativa da escala adaptada para o presente estudo usada na avaliação dos sinais gastrintestinais dos pacientes com mastocitoma cutâneo.....40
- Tabela 03** - Tabela demonstrativa dos dados demográficos dos 41 cães inclusos no estudo prévio prospectivo e transversal entre os anos de 2013 e 2015.....42
- Tabela 04** - Tabela descritiva dos principais sinais gastrointestinais e seus valores relativos e absolutos dos 38 cães inclusos neste estudo retrospectivo.....44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNor	Regiões Organizadoras de Nucléolares
AI	Amostra inconclusiva
Cep	Cabeça e Pescoço
CMA	Campos de Maior Aumento
E	Escroto
Ed	Edema
Elisa	Ensaio enzimático de imunoabsorção
Er	Eritema
G1	Grupo 01
G2	Grupo 02
GI	Gastrintestinal
HCV-UFRGS	Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
I	Inguinal
IHQ	Imunohistoquímica
ILD	Intervalo livre de doença
ILD <sup>T</sup>	Inferior ao limite de detecção do teste
IM	Índice mitótico
Kit	Receptor de Tirosina Kinase
LR	Linfonodo Regional
M	Membro
Ñ	Não
N	Número
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCNA	Antígeno de Proliferação Celular
PNS	Paraneoplásic Syndromes
RNA	Ácido ribonucléico
S	Sim
S/A	Sem alteração
SCF	<i>Stem cells factors</i>
SPN	Síndrome paraneoplásica
SV	Sobrevida
T	Tronco
UG	Ulceração gastrintestinal
UGD	Ulceração gastroduodenal
UI	Ulceração
V	Vulva

## 1 INTRODUÇÃO

A pele é considerada o maior órgão do corpo e desempenha inúmeras funções, sendo a principal delas a de proteção do organismo. No Brasil, de maneira similar ao observado na Medicina, na Medicina Veterinária, os tumores de pele estão entre os tipos neoplásicos mais diagnosticados representando de 8,8 a 26,9% de todos os diagnósticos histológicos em cães. Nesta espécie, o mastocitoma é o tumor cutâneo mais diagnosticado, correspondendo a 17,1% dos casos (GERARDI, 2020).

Morfologicamente, os mastocitomas podem ter uma grande variação sendo, frequentemente, confundidas com condições não neoplásicas. Apresenta um comportamento biológico bastante variável, com proliferações neoplásicas que podem apresentar um comportamento, praticamente, benigno até formações com características metastáticas, infiltrativas e associadas a ocorrência de graves síndromes paraneoplásicas (HOWARD *et al.*, 1969; FOX *et al.*, 1987; ISHIGURO *et al.*, 2003; WELLE *et al.*, 2008; BLACKWOOD *et al.*, 2012). Diversos estudos tentam prever o prognóstico da doença, bem como a expectativa de vida, tomando como base fatores clínicos e histológicos tais como: estadiamento clínico tumoral; velocidade de crescimento; características macroscópicas do nódulo e localização tumoral, classificação histopatológica, índice mitótico, marcadores moleculares, entre outros (MADEWELL, 2001; MULLINS *et al.*, 2006; SCASE, *et al.*, 2006; ROMANSIK *et al.*, 2007; WEBSTER *et al.*, 2007; STREFEZZI *et al.*, 2010; MACKOWIAK *et al.*, 2012, HORTA *et al.*, 2018; MOORE *et al.*, 2020).

Sabe-se que, frequentemente, os mastocitomas podem estar associados a sinais clínicos decorrentes da liberação de mediadores inflamatórios contidos no interior dos seus grânulos citoplasmáticos. Dentre as diversas substâncias liberadas pelo mastócito maligno, destaca-se a histamina por ser considerada a principal substância associada às síndromes paraneoplásicas (ulceração gastroduodenal, distúrbios de coagulação, glomerulonefrites, choque anafilático e hipotensivo, etc) nos casos de mastocitoma cutâneo (HOWARD *et al.*, 1969; ISHIGURO *et al.*, 2003; VAN GELDEREN; ARCHER; HERRTAGE, 2011, BLACKWOOD *et al.*, 2012).

A ulceração gastroduodenal é a principal SPN associada ao mastocitoma, sendo uma complicação importante e grave. É mais frequentemente diagnosticada no estômago

e com menor frequência no duodeno. Dados de avaliação *post mortem*, sugerem uma incidência de 83% de ulceração gastroduodenal, sendo que em 15% dos casos essas úlceras estavam perfuradas (HOWARD *et al.*, 1969). A ocorrência de lesão GI pode estar associada a presença sinais clínicos tais como: apatia, anorexia/hiporexia, perda de peso, vômitos e diarreia, que tendem a aumentar a morbidade e mortalidade associadas à doença, agravando o prognóstico e, conseqüentemente, reduzindo a expectativa de vida (HOWARD *et al.*, 1969; FOX *et al.*, 1967; MOIRANO *et al.*, 2018; PIZZONI *et al.*, 2018).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar se a presença de síndrome paraneoplásica, caracterizada pela ocorrência de sinais clínicos GI, presença de lesão GI macroscópica e microscópica e valor de histamina plasmática no momento do diagnóstico tem influência na sobrevida e intervalo livre de doença em cães com mastocitoma cutâneo.

### **2.2 Objetivos específicos**

Verificar se outros marcadores prognósticos já estabelecidos [número de nódulos, tamanho tumoral, presença de ulceração, prurido local, edema peritumoral, ocorrência de eritema e/ou placas eritematosas, localização anatômica, velocidade de crescimento, estadiamento tumoral segundo critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS); envolvimento de linfonodo regional; classificação histopatológica e índice mitótico] apresentam relação com menor intervalo livre de doença e menor sobrevida.

### 3. CAPÍTULO 1

Mastocitoma cutâneo canino e marcadores prognósticos:  
Revisão de literatura

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Mastocitoma cutâneo canino

#### 1.1.1 Aspectos epidemiológicos e etiopatogenia

O mastocitoma cutâneo é um dos tipos neoplásicos que ocorre com maior frequência na espécie canina (SOUZA *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 2015). Sua etiologia parece ser multifatorial, contudo a razão para sua elevada incidência ainda não está completamente esclarecida (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). Alterações na via supressora do tumor p53 e nas proteínas p21 e p27 também foram identificadas (WU; HAYASHI; INOUE, 2004). Atualmente, o fator etiológico mais aceito refere-se a anomalias no sistema c-kit/SCF (*stem cells factor*) (KITAYAMA *et al.*, 1996). Estudos mostraram que entre 15 e 40% de todos os mastocitomas caninos sofrem mutações neste sistema (c-kit/SCF) (DOWNING *et al.*, 2002; WEBSTER *et al.*, 2006; WEBSTER *et al.*, 2007).

Desta forma, uma a maior incidência é observada em certas raças, sugerindo uma possível base genética. Acredita-se que a transmissão hereditária dos genes que predispõe a essa neoplasia possa ocorrer, porém o desenvolvimento do tumor propriamente dito está relacionado a outros fatores, como agentes carcinogênicos e infecções virais (DALECK *et al.*, 2009). Diversas raças parecem apresentar maior predisposição ao seu desenvolvimento, incluindo: cães da raça Boxer, Boston Terrier, English Bulldog, Labrador e Golden Retrievers, Cocker Spaniel, Schanuzer, Teckel e Shar-pei chinês (BAKER-GABB; HUNT; FRANCE, 2003; NATIVIDADE *et al.*, 2014; WARLAND *et al.*, 2014). Em geral, são diagnosticados em cães idosos com idade aproximada de oito a nove anos e não apresenta predileção sexual (O'CONNELL; THOMSON, 2013; FURLANI *et al.*, 2008; SHOOP *et al.*, 2015).

#### 1.1.2 Histórico e sinais clínicos

A grande maioria dos mastocitomas ocorrem na derme e tecidos subcutâneos (WELLE *et al.*, 2008; LONDON, THAMM, 2013). A doença pode apresentar-se nas



formas cutâneas e extracutâneas. A forma visceral denominada mastocitoma sistêmico ou mastocitose, pode ocorrer em cães e, normalmente, é precedida de nódulo indiferenciado na pele. Nestes casos, as principais alterações observadas são linfadenopatia, esplenomegalia, hepatomegalia e efusão peritoneal e pleural (O'KEEFE *et al.*, 1990; DE SOUZA *et al.*, 2000; TAKAHASHI *et al.*, 2000; OZAKI *et al.*, 2002; THAMM; VAIL, 2007; DALECK *et al.*, 2009)

A forma cutânea geralmente cursa como um nódulo único, embora 11 a 14 % dos cães apresentem múltiplas lesões (MULLINS *et al.*, 2006; FURLANI *et al.*, 2008; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016). Aproximadamente 50% dos nódulos localizam-se no tronco, abdômen e nas regiões perineal, inguinal e genital, 40% nos membros e 10% na cabeça e no pescoço (KIUPEL *et al.*, 2005; FULCHER *et al.*, 2006; O'CONNELL; THOMSON, 2013; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

A forma cutânea tem uma aparência macroscópica bastante variável e, por diversas vezes, pode ser confundida com lesões não neoplásicas (MURPHY, 2007). A forma cutânea, em sua maioria, surge como nódulos ou placas alopécicas, eritematosas e edematosas. Pode ser constituída por proliferações solitárias ou multifocais de mastócitos e o tamanho da lesão pode variar desde alguns milímetros a vários centímetros (POGGIANI *et al.*, 2012; LONDON; THAMM, 2013; NATIVIDADE *et al.*, 2014; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016).

Em 50% dos casos de mastocitoma, o paciente pode apresentar sinais clínicos secundários a liberação de histamina, heparina e outras aminas vasoativas em decorrência da degranulação de mastócitos (ISHIGURO *et al.*, 2003; LONDON; THAMM, 2013; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016). A liberação massiva destas substâncias pode levar a ocorrência de diversas alterações, tais como: glomerulonefrites, aumento nos tempos de coagulação (OLIVEIRA *et al.*, 2008), retardo na cicatrização, 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).

## 1.2 Síndrome paraneoplásica

Por definição, síndrome paraneoplásica (SPN) é um conjunto de sinais e sintomas que ocorrem distante do tumor ou de suas metastases e não são causadas por invasão, obstrução ou efeito direto da neoplasia (DALECK *et al.*, 2009). Na Medicina relatos sugerem uma incidência entre 30 e 85% dos casos. Atualmente, na Veterinária, dados relativos a prevalência de SPN ainda são escassos, mas acredita-se que seja próximo a 27% em gatos e 4% em cães (MANGIERI, 2016; FERREIRA *et al.*, 2018).

O diagnóstico de um distúrbio paraneoplásico pode anteceder em dias ou semanas da detecção da neoplasia propriamente dita, de forma que pode ser utilizado também como sinalizador da doença (RAMOS *et al.*, 2008; BERGMAN, 2013). O reconhecimento precoce de uma SPN é de grande importância, pois pode ser o primeiro sinal de alguma malignidade (BERGMAN, 2013).

A ocorrência de uma SPN agrava o quadro do paciente, aumentando a morbidade e mortalidade associadas a doença. Sua gravidade pode predizer a atividade relacionada as células neoplásicas, sugerindo uma possível regressão ou progressão do caso. De modo geral, pode-se dizer que as SPN são consideradas fatores prognósticos negativos em pacientes com câncer (BERGMAN, 2013; MANGIERI, 2016).

Os mastócitos malignos contêm mais histamina que os mastócitos normais (MACY, 1985). Em mais da metade dos cães portadores do mastocitoma, complicações associadas à degranulação levam a ocorrência de síndromes paraneoplásicas e, conseqüentemente, ao agravamento do histórico e da apresentação clínica da doença. Por esse motivo, rotineiramente, os cães com mastocitoma cutâneo são avaliados devido a sinais clínicos secundários a ação de histamina, heparina e outras aminas vasoativas contidas no interior dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos (O'KEEFE, 1990; ISHIGURO *et al.*, 2003; LONDON; THAMM, 2013; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016). Dentre os diversos sinais clínicos associados a liberação destes mediadores, as úlceras gastroduodenais (UGD) são descritas como a principal SPN associada aos mastocitomas cutâneos (HOWARD *et al.*, 1969; FOX *et al.*, 1990).

### 1.2.1 Ulceração gastrintestinal

Além de ser a principal SPN associada ao mastocitoma cutâneo em cães, a ulceração gastrintestinal é considerada uma complicação grave na maior parte dos casos (HOWARD *et al.*, 1969; BLACKWOOD *et al.*, 2012). A real incidência, bem como a severidade destes eventos, ainda não é muito esclarecida. Dados da literatura descrevem valores entre 35 e 83% de ocorrência de SPN nos casos de mastocitoma (HOWARD *et al.*, 1969; FOX *et al.*, 1990). Em estudo mais recente deste mesmo grupo de pesquisa, os dados preliminares mostram uma incidência de 41,5% de sinais gastrintestinais, sendo a redução do apetite o sinal mais frequente (33,3%) seguido pelos vômitos (38,1%), dor abdominal (14,3%), fezes amolecidas (9,5%) e redução do peso (4,8%) (LEDUR, 2015).

Com relação as úlceras gastroduodenais, em estudo *post-mortem*, 83% dos cães apresentaram lesão na região fúndica, piloro e segmento anterior do duodeno e, em 15% destes casos, haviam úlceras intestinais perfuradas. As úlceras ocorreram com mais frequência no estômago em relação ao duodeno, foram usualmente múltiplas e variavam desde erosões puntiformes até amplas perfurações (HOWARD *et al.*, 1969).

Os mecanismos envolvidos na fisiopatogênia da ulceração gastrintestinal ainda não estão completamente elucidados, contudo parecem estar diretamente relacionados a degranulação dos mastócitos neoplásicos com conseqüente aumento da histamina no sangue. Os níveis elevados de histamina promovem estímulo dos receptores H<sub>2</sub> das células parietais no estômago levando a uma produção excessiva de ácido clorídrico e aumento da motilidade gástrica (VAN GELDEREN; ARCHER; HERRTAGE, 2011; DALECK, ROCHA FERREIRA, 2016). Além disso, os cães com mastocitoma também parecem apresentar concentrações menores de gastrina. A gastrina é um hormônio secretado pelas células G na região do antro gástrico em resposta a uma hipersecreção de ácido clorídrico, de forma que este mecanismo de *feedback* negativo fica inibido em cães com mastocitoma (FOX *et al.*, 1990; DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016). 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, podendo levar a coagulação intravascular e necrose isquêmica da mucosa (FOX *et al.*, 1990; DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016).

Em consequência, sinais clínicos associados, tais como: vômitos, anorexia, diarreia, melena, dor abdominal, anemia ferropriva, perfuração gástrica e peritonite, além de choque anafilático, podem estar presentes (HOWARD *et al.*, 1969; ISHIGURO *et al.*, 2003; DALECK, ROCHA, FERREIRA 2016; VAN GELDEREN; ARCHER; HERRTAGE, 2011; NATIVIDADE *et al.*, 2014; MOIRANO *et al.*, 2018; PIZZONI *et al.*, 2018). Atualmente sabe-se que a ocorrência de sinais clínicos e alterações GI, significativamente, aumenta a morbidade e mortalidade associada a doença. Além disso, dados da literatura sugerem que a ocorrência de SPN possa estar associada a graus mais avançados da doença, mesmo na ausência de metástases detectáveis (MARCONATO *et al.*, 2018) e, por este motivo parece estar associada a um pior prognóstico (NATIVIDADE *et al.*, 2014; MARCONATO *et al.*, 2018).

### 1.2.2 Concentração plasmática de histamina

Em cães com mastocitoma, a elevação nos níveis plasmáticos de histamina é considerada o principal fator envolvido na ocorrência das lesões gastrintestinais (ISHIGURO *et al.*, 2003). Dados da literatura sugerem que os animais com tumor de mastócitos apresentaram níveis mais elevados de histamina no sangue (FOX *et al.*, 1990; VAN GELDEREN; ARCHER; HERRTAGE, 2011), e resultados preliminares, parecem sugerir que a elevação da histamina possa ser uma ferramenta útil no acompanhamento da progressão da doença (ISHIGURO *et al.*, 2003; VAN GELDEREN; ARCHER; HERRTAGE, 2011).

Dependendo da sua celularidade e do grau de anaplasia celular, a concentração de histamina irá variar (HOWARD *et al.*, 1969). Nos cães doentes, informações sobre o valor de histamina plasmática, bem como padrão e fatores desencadeantes da sua liberação ainda são limitados. Fox e colaboradores (1990) observaram que cães com mastocitoma apresentavam valores mais elevados do que cães saudáveis, entretanto não conseguiram estabelecer nenhuma relação com estágio da doença, gradação histológica ou tamanho do tumor. Em trabalho anterior, realizado por nosso grupo de pesquisa, observou-se que o valor de histamina plasmática coletado, imediatamente, antes do procedimento cirúrgico não apresentou diferença estatística entre os cães portadores de mastocitoma e o grupo controle, bem como não apresentava relação com as variáveis analisadas (classificação histopatológica, índice mitótico, velocidade de crescimento, número de nódulos, tamanho

tumoral, envolvimento de linfonodo regional, localização e estadiamento) (LEDUR, 2015). Ishiguro e colaboradores (2003) verificaram que os animais doentes não apresentaram valores de histamina superiores aos animais saudáveis. Todavia, a observação dos valores de histamina ao longo do tempo sugeriu que sua elevação possa estar relacionada com a progressão e agravamento da doença, de forma que quadros de hiperhistaminemia foram notados em aproximadamente 63% dos cães (sete dos 11 cães) ao longo do tempo. Destes sete cães, todos apresentaram um agravamento dos sintomas e morreram em decorrência do mastocitoma (ISHIGURO *et al.*, 2003).

### 1.3 Prognóstico do mastocitoma

Na espécie canina, os mastocitomas são tumores que apresentam características clínicas e comportamento biológico bastante variável. Os mastocitomas podem surgir tanto com nódulos praticamente benignos, bem como nódulos extremamente agressivos, com infiltração local e elevado potencial metastático (LONDON; THAMM, 2013). Por esse motivo, em se tratando do mastocitoma cutâneo canino, a determinação do prognóstico e, conseqüentemente, da expectativa de vida é bastante desafiadora (DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016).

O grau de malignidade, o prognóstico, o tempo livre de doença e a expectativa de vida são estabelecidos tomando-se como base uma associação entre critérios clínicos e histopatológicos. Contudo, por diversas vezes, mesmo a associação de diversos marcadores prognósticos não é capaz de prever de maneira adequada como será a evolução da doença e a resposta a terapia nos mais diversos tipos de mastocitomas (DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016).

Tradicionalmente, sabe-se que a classificação histopatológica é considerada o marcador mais preciso para o mastocitoma cutâneo canino. Neste campo de pesquisa, a cada dia, novos parâmetros clínicos e marcadores biológicos, tais como: índice mitótico, Ki-67, regiões organizadoras nucleolares (AgNOR), antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), tamanho e localização do tumor, velocidade de crescimento, estadiamento tumoral, presença de metástases em linfonodo regional (LR) ou metástases a distância, entre outros, se somam a classificação histológica para auxiliar no estabelecimento de um prognóstico adequado e preciso (MUKARATIRWA, 2005; ROMANSIK *et al.*, 2007; WEBSTER *et al.*, 2007; BLACKWOOD *et al.*, 2012;

VASCELLARI *et al.*, 2012; NATIVIDADE *et al.*, 2014; DALECK; ROCHA; FERREIRA, 2016; PIZZONI *et al.*, 2018; REYNOLDS *et al.*, 2019).

### 1.3.1 Classificação histopatológica

A classificação histopatológica é, ainda hoje, considerada o padrão ouro do diagnóstico e prognóstico da doença (BLACKWOOD *et al.*, 2012; TAKEUCHI *et al.*, 2013). Atualmente, duas classificações estão disponíveis, sendo a primeira delas proposta por Patnaik, Ehler, Macewen (1984) e a segunda por Kiupel *et al.* (2011).

A classificação de Kiupel *et al.* (2011) surgiu com a intenção de reduzir a variação interobservador do sistema de classificação anterior de Patnaik; Ehler; Macewen (1984), bem como, identificar de forma mais acurada aqueles mastocitomas que apresentassem um comportamento biológico mais agressivo e com maior chance de metástase (KIUPEL *et al.*, 2011; SABATTINI *et al.*, 2014).

#### 1.3.1.1 Classificação histopatológica de Patnaik; Ehler; Macewen (1984)

Este sistema classifica os tumores em três graus (I, II e III) utilizando critérios como extensão da doença neoplásica, celularidade e morfologia celular e nuclear (Tabela 01). Os tumores de grau I são bem diferenciados e apresentam um bom prognóstico. Representam cerca de 30 a 55% de todos os mastocitomas diagnosticados, são considerados benignos e a cirurgia geralmente é curativa. Por outro lado, 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 (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984).

**Tabela 01** - Classificação histológica dos mastocitomas segundo critérios estabelecidos por Patnaik; Ehler; Macewen (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.
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, arranjadas 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, Ehler, Macewen, 1984.

### 1.3.1.2 Classificação histopatológica segundo Kiupel et al (2011)

A classificação de Kiupel *et al.* (2011), baseia-se no número de figuras em fase de mitose em combinação com cariomegalia, presença células multinucleadas (3 núcleos ou mais) ou de núcleos bizarros (Tabela 02) (KIUPEL *et al.*, 2011). Este sistema de classificação parece predizer de maneira mais acurada o prognóstico, de forma que os tumores de alto grau apresentam um pior prognóstico quando comparados aos tumores de baixo grau (SABATTINE *et al.*, 2014)

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

<b>Grau Histológico</b>	<b>Crítérios</b>
Alto grau	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 7 ou mais figuras de mitose/10 campos de maior aumento (CMA);</li> <li>✓ 3 ou mais células multinucleadas/10 CMA</li> <li>✓ 3 ou mais núcleos bizarros/10 CMA</li> <li>✓ Cariomegalia (10% dos núcleos em pelo menos 2 campos)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Cariomegalia (10% dos núcleos em pelo menos 2 campos)</li> </ul> <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.

### 1.3.2 Índice Mitótico

O índice mitótico (IM) ou contagem de figuras de mitose é realizado para a avaliação proliferativa das neoplasias. É utilizado tanto para o diagnóstico quanto para prognóstico e terapia. Nunca deve ser utilizado de maneira isolada, devendo sempre estar associado à classificação histopatológica (PREZIOSI; SARLI; PALTRINIERI, 2007; NATIVIDADE *et al.*, 2014).

Em estudo realizado com 148 cães com diagnóstico confirmado para mastocitoma, uma relação direta entre o IM e a classificação de Patnaik; Ehler; Macewen (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 (ROMANSIK *et al.*, 2007).

### 1.3.3 Estadiamento clínico

O sistema de estadiamento clínico, proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS), define quatro estádios para a doença (Tabela 03). Leva em consideração



parâmetros como tamanho do tumor, número de nódulos, infiltração em linfonodo regional e metástases a distância (DALECK *et al.*, 2009).

**Tabela 03:** Demonstrativa do Sistema de estadiamento clínico para o mastocitoma canino, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS)

Estádio	Descrição
0	Tumor único, incompletamente excisado da derme, identificado histologicamente, sem envolvimento de linfonodos regionais
1	Tumor único confinado à derme sem envolvimento dos linfonodos regionais
2	Tumor único confinado à derme com envolvimento dos linfonodos regionais
3	Tumor dérmico múltiplo ou tumor amplamente infiltrado com ou sem envolvimento dos linfonodos regionais
4	Qualquer tumor com metástase a distância ou recorrência com metástases, incluindo envolvimento sanguíneo ou da medula óssea

**Fonte:** Daleck *et al.*, 2009.

Historicamente, utiliza-se o estadiamento clínico das neoplasias com o intuito de estabelecer um prognóstico adequado, bem como avaliar melhor a extensão da neoplasia (LONDON; THAMM, 2013; DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016). Em relação aos mastocitomas, tem-se questionado a utilidade de tal classificação, principalmente, no estágio III (múltiplos nódulos). Vários estudos não sugerem um pior prognóstico para pacientes com mais de um nódulo quando comparados aos pacientes com nódulos únicos com mesmo grau histológico (MURPHY *et al.*, 2006; O'CONNELL; THOMSON 2013; BLACKWOOD *et al.*, 2012; LONDON; THAMM, 2013; DALECK, ROCHA, FERREIRA, 2016). Desta forma, tem-se que, atualmente, o estadiamento clínico não é usado de forma individual, mas sim em associação ao grau histológico como forma de auxiliar no estabelecimento do prognóstico e na seleção da terapia (GOVIER, 2003; DOBSON; SCASE, 2007; MARCONATO *et al.*, 2008; LONDON; THAMM, 2013).

#### 1.3.4 Avaliação do linfonodo regional

Apesar da falta de consenso sobre qual a forma mais adequada de se estabelecer o estadiamento clínico preciso, a avaliação do linfonodo regional (LR) é parte essencial nesta busca (KIUPEL; CAMUS, 2019). Aproximadamente 20% dos cães com mastocitoma cutâneo terão metástase no LR (estádio II) no momento do diagnóstico e, além disso, diversos estudos mostram que a metástase linfática está associada a um

decréscimo na sobrevivência (SLEDGE; WEBSTER; KIUPEL, 2016; MARCONATO *et al.*, 2018; MENDEZ *et al.*, 2020).

A avaliação dos linfonodos regionais quanto a possíveis alterações em seu tamanho e consistência é recomendada em todos os casos e, sempre que possível, os LNs devem ser aspirados e/ou preferencialmente biopsiados (LONDON; SEGUIN, 2003; BLACKWOOD *et al.*, 2012; FERRARI *et al.*, 2018). Todavia, a interpretação da amostra citológica é um desafio, pois mastócitos podem ser encontrados em linfonodos saudáveis (DOBSON; SCASE, 2007; MARCONATO *et al.*, 2008). Sendo assim, Krick *et al.* (2009) buscaram estabelecer critérios para diferenciação entre linfonodos metastáticos e reativos em amostras de citologia. Para que seja considerado metastático, atualmente, recomenda-se que a população de mastócitos encontrada no aspirado seja superior à 3% (KRICK *et al.*, 2009). 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 para confirmação (BOOKBINDER; BUTT; HARVEY, 1992; MARCONATO *et al.*, 2018).

### 1.3.5 Aspectos clínicos do mastocitoma

Uma relação entre o aspecto clínico e o grau de diferenciação histológica pode ser observada (BOSTOCK; DYE, 1973). De modo geral, pode-se sugerir que os mastocitomas solitários, com diâmetro variando entre um e quatro centímetros, crescimento lento, não ulcerados e com consistência amolecida tem uma maior tendência a serem bem diferenciados (LONDON; SEGUIN, 2003; THAMM; VAIL, 2007). Ao contrário, os mastocitomas indiferenciados, tendem a apresentar um crescimento rápido, ulceração, eritema e/ou edema em tecidos circunvizinhos (GOVIER, 2003) e, podem, por vezes, desenvolver pequenos nódulos satélites em sua periferia (THAMM; VAIL, 2007).

Apesar da falta de consenso entre os autores, a localização do nódulo é considerada, por alguns, como fator prognóstico. Nódulos em regiões mucocutâneas, perineo, prepúcio, região inguinal, extremidade de membros e cabeça parecem apresentar um pior prognóstico (GIEGER *et al.*, 2003; CAHALANE *et al.*, 2004; SFILIGOI *et al.*, 2005; POGGIANI *et al.*, 2012; NATIVIDADE *et al.*, 2014; DE NARDI *et al.*, 2018).

### 1.3.6 Marcadores moleculares

Na atualidade, o estudo de biomarcadores com significância prognóstica tem se mostrado um dos campos mais importantes e promissores na oncologia médica e veterinária (MUKARATIRWA, 2005). Neste campo, em se tratando dos mastocitomas, diversos marcadores, tais como: contagem de células positivas para Ki-67, determinação da frequência de AgNOR, contagem de células positivas para PCNA, expressão imuno-histoquímica (IHQ) do receptor de tirosina kinase (KIT), mutações no gene *c-KIT* que codifica a proteína KIT, entre outros, se somam aos demais parâmetros prognósticos, em especial a classificação histológica, para auxiliar no estabelecimento de um prognóstico mais preciso (SCASE *et al.*, 2006; WEBSTER *et al.*, 2007; HORTA *et al.*, 2018).

O receptor de tirosina kinase (KIT) tem um papel essencial na sobrevivência, proliferação, diferenciação e migração de mastócitos (KIUPEL; CAMUS, 2019; THAMM *et al.*, 2019). Expressões aberrantes da proteína KIT avaliadas por imuno-histoquímica (IHQ) sugerem pior prognóstico associado aos mastocitomas cutâneos (KIUPEL *et al.*, 2004). Atualmente são descritos três padrões de expressão, sejam eles: 1) Perimembranoso (associado a mastocitomas bem diferenciados e não agressivos/ padrão I); 2) Citoplasmático focal (padrão II); 3) Citoplasmático difuso (padrão III) (KIUPEL *et al.*, 2004; KIUPEL; CAMUS, 2019). Apesar de alguns resultados conflitantes (KIUPEL *et al.*, 2004; COSTA-CASAGRANDE *et al.*, 2013; HORTA *et al.*, 2019), a marcação citoplasmática (padrões II e III) são ainda associadas a um pior prognóstico, maior taxa de recidiva e menor sobrevivência, contudo não deve ser utilizada como único método de avaliação (THAMM *et al.*, 2019).

Adicionalmente aos padrões de expressão IHQ da proteína KIT, mutações no *exons* 11, 8 e 9 são comumente observados no gene *c-KIT* que codifica essa proteína (LETARD *et al.*, 2008). Tais mutações, em especial no exon 11, podem ser observadas em aproximadamente 15% dos casos de mastocitomas com uma chance maior de 35% de serem observadas em tumores de alto grau, conferindo então um maior risco de recorrência local e metástase, além de uma diminuição no intervalo livre de doença e sobrevivência (LETARD *et al.*, 2008; THAMM *et al.*, 2019).

Os marcadores de proliferação celular (AgNOR, PCNA, Ki-67) fornecem informações complementares importantes sobre o prognóstico em cães com mastocitoma

(STREFEZZI *et al.*, 2010; KIUPEL; CAMUS, 2019). A marcação IHQ do Ki-67 é considerada um dos principais marcadores proliferativos nos mastocitomas cutâneos caninos. O Ki-67 é uma proteína nucleolar expressa somente na fase ativa do ciclo não sendo detectada em células em repouso, expressando, desta forma, uma fração de crescimento celular. O PCNA é uma proteína necessária a síntese e reparo do DNA e o AgNOR são proteínas envolvidas na transcrição ribossomal do RNA (MADEWELL, 2001; WEBSTER *et al.*, 2007).

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BERGMAN, P. J. Paraneoplastic Syndromes. *In*: WITHROW S. J.; VAIL D. M.; PAGE R. L. **Small Animal Clinical Oncology**. 5 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. p. 83-97.

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.

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.

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.

COSTA CASAGRANDE, T. A. *et al.* The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 01, p. 1-10, 2013.

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.

DALECK C. R.; ROCHA, N. S.; FERREIRA, M. G. P. A. Mastocitoma. *In*: DALECK, C. R. & DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**, 2. Ed- Rio de Janeiro: Roca, 2016, p.649-659.

DE NARDI, A. B. *et al.* Brazilian consensus for the diagnosis, treatment and prognosis of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Investigação: Revista oficial do CBCAV – Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária**, v. 17, n. 01, p. 01-15, 2018.

DE SOUZA, M. L. Peritoneal effusion in a dog secondary to visceral mast cell tumor: a case report. **Acta Cytologica**, v. 45, n. 01, p. 89-92, 2000.

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.

FERNANDES, C. C. *et al.* Frequência de Neoplasias Cutâneas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia durante os anos 2000 a 2010. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 02, p. 541-548, 2015.

FERRARI, R. *et al.* The impact of extirpation of non palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, p. 505-510, 2018.

FERREIRA, M. G. P. A. *et al.* Síndrome paraneoplásicas em cães e gatos: Parte I. **Investigação**. Revista oficial do CBCAV: Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, v. 17, n. 01, p. 24-34, 2018.

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.

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.

FURLANI, J. M. *et al.* Mastocitoma Canino: Estudo Retrospectivo. **Ciência Animal Brasileira**, 2008. v. 9, n. 1, p. 242-250.

GERARDI, D. G. Dermatopatias neoplásicas. In: LARSSON, C. E. **Tratado de Medicina Externa: Dermatologia Veterinária**, 2. Ed- São Caetano do Sul, São Paulo: Interbook, 2020, p. 1077-1153.

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.

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

HORTA, R. S. *et al.* Assessment of canine mast cell tumor mortality risk based on clinical, histologic, immunohistochemical, and molecular features. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 2, p. 212-223, 2018.

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

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.

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.* The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tools for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 41, p. 371-377, 2004.

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.

KIUPEL, M.; CAMUS, M. Diagnosis and prognosis of canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 49, p. 819-836, 2019.

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.

- LEDUR, G. R. Frequência e intensidade de lesões gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2015.
- LETARD, S. *et al.* Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. **Molecular Cancer Research**, v. 06, n. 07, p. 1137-1145, 2008.
- LONDON, C. A., 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.
- 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.
- MANGIERI, J. Síndromes paraneoplásicas em cães e gatos. *In*: DALECK, C. R. & DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**, 2. Ed- Rio de Janeiro: Roca, 2016, p.325-338.
- 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.



MARCONATO, L. *et al.* Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine Stage II cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, p. 580-589, 2018.

MENDEZ, S. E. *et al.* Treating the locoregional lymph nodes with radiation and/or surgery significantly improves outcome in dogs with high-grade mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, p. 239-246, 2020.

MOIRANO, S. J. *et al.* Association of prognostic features and treatment on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, p. E194-E201, 2018.

MOORE, A. S. *et al.* Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours, **Veterinary and Comparative Oncology**, p. 1-7, 2020.

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. *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.

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.

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

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, 2013.

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.

OZAKI, K. *et al.* Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 557-564, 2002.

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

PIZZONI, S. *et al.* Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, p. 28-36, 2018.

POGGIANI, S. S. C. *et al.* Canine cutaneous mast cell tumor: Biologic behavior and its correlation with prognostic indicators. **Journal of Veterinary Medicine**, v.02, p.255-261, 2012.

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.

RAMOS, R.S. *et al.* Estudo da prevalência das principais síndromes paraneoplásicas de 14 cães com linfoma – relato de casos. **Veterinária e Zootecnia**. supl. ao v.15, n.3, dez., p.38-39, 2008.

REYNOLDS, B. D. *et al.* Patient and tumour factors influencing canine mast cell tumour histological grade and mitotic index. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, p. 338-344, 2019.

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.

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.

SHOOP, S. J. W. *et al.* Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. **Canine Genetics and Epidemiology**, v. 02, n. 01, p. 2-10, 2015.

SLEDGE, D. G.; WEBSTER, J.; KIUPEL, M. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. **The Veterinary Journal**, v. 215, p. 43-54, 2016.

SOUZA, T. M. De *et al.* Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 555-560, 2006.

STREFEZZI, R. De. 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.

TAKEUCHI, Y. Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A retrospective cohort study. **The Veterinary Journal**, v. 196, p. 492-498, 2013.

THAMM, D. H. *et al.* Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, p. 451-455, 2019.

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.

TAKAHASHI, T. *et al.* Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 02, p. 222-225, 2000.

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.

VASCELLARI, M. *et al.* Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 01, p. 110-121, 2012.

WARLAND, J. *et al.* The utility of staging in canine mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology** v. 12, n. 4, p. 287–298, 2014.

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

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.

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.

## 4. CAPÍTULO 2

Influência da presença da síndrome paraneoplásica gastrointestinal sobre o tempo livre de doença e sobrevida em cães com mastocitoma cutâneo

Manuscrito a ser submetido para a revista

*Pesquisa Veterinária Brasileira*

**RESUMO.** [Influência da presença da síndrome paraneoplásica gastrointestinal sobre o tempo livre de doença e sobrevida em cães com mastocitoma cutâneo.]

Por definição, síndrome paraneoplásica (SPN) refere-se aos sinais e sintomas não relacionados a presença física do tumor e/ou de suas metástases. Frequentemente, ocorrem em pacientes oncológicos, agravando o quadro geral e o prognóstico. Na Medicina Veterinária, os mastocitomas cutâneos são comumente associados a ocorrência de SPN graves em decorrência da liberação massiva de histamina no organismo. Dentre as SPN associadas ao tumor de mastócitos, a ulceração gastrointestinal se destaca, com dados da literatura mostrando uma incidência de 83% em achados de necrópsia. Desta forma, o presente trabalho trata-se de um estudo retrospectivo (2013-2020) que tem como objetivo verificar a ocorrência de SPN em cães com resultado histológico de mastocitoma cutâneo no momento do diagnóstico, buscando relacionar sua ocorrência com intervalo livre de doença (ILD) e sobrevida (SV). Para tal, prontuários médicos foram revisados e 38 cães foram selecionados, contudo somente 32 passaram para avaliação do ILD devido à perda de acompanhamento. Foi considerado SPN a ocorrência de sinais GI e/ou ocorrência de lesão GI macroscópica e/ou microscópica. Com relação aos valores séricos de histamina, optou-se por estratificar aleatoriamente em três categorias uma vez que não se tem um ponto de corte para definir os quadros de hiperhistaminemia. Os resultados mostram que 57,9% cães apresentavam sinais clínicos, 68,4% apresentavam algum tipo de lesão macroscópica no estômago e/ou no duodeno e 42,1% apresentavam alguma alteração histopatológicas nos mesmos locais. A intensidade dos sinais clínicos foi avaliada e, a maioria dos pacientes apresentavam somente sinais leves (93,75%). A mediana do valor de histamina plasmática foi 0,010ng/mL e a aproximadamente metade dos cães (52,6%) apresentava valores de histamina plasmática inferior a 0,01ng/mL. A recidiva da doença foi observada em 50% casos e a mediana do intervalo livre de doença foi de 18,1 meses. Ao final do estudo (dez/2020), 71,1% dos pacientes vieram ao óbito seja por causas relacionadas ao tumor ou não e 28,9% estavam vivos. A análise estatística não demonstrou relação entre a ocorrência de SPN no diagnóstico e as variáveis tempo livre de doença e sobrevida, contudo não se descarta esta hipótese, pois os acredita-se que devido aos critérios de inclusão e exclusão houve uma tendência de seleção de casos brandos da doença.

**Termos de indexação:** Síndrome paraneoplásica, úlcera gástrica, duodeno, histamina.

**ABSTRACT [Clinical signs and gastrointestinal injury in dogs with cutaneous mast cell tumors and its relationship with the disease-free-interval and survival time: a retrospective study of 38 cases.]**

By definition, paraneoplastic syndrome (PNS) refers to the signs and symptoms that are unrelated to the physical presence of the tumor and / or its metastases. They often occur in cancer patients, worsening the general condition and prognosis. In Veterinary Medicine, cutaneous mast cell tumors are commonly associated with the occurrence of severe PNS due to the massive release of histamine in the body. Among the PNS associated with the mast cell tumor, gastrointestinal ulceration is the most important, with data from the literature demonstrating an incidence of 83% in necropsy findings. Thus, the present work is a retrospective study (2013-2020) that aims to verify the occurrence of PNS in dogs with histological diagnosis of cutaneous mastocytoma, seeking to relate its occurrence with disease-free interval (DFI) and survival (SV) time. Medical records were reviewed and 38 dogs were selected, however only 32 dogs went in the DFI analysis due to loss of follow up. Paraneoplastic syndrome was considered the occurrence of GI signs and/or the occurrence of macroscopic and/or microscopic GI lesions. Regarding serum histamine values, we choose to stratify randomly into three categories since there is no cut-off point for defining hyperhistaminemia. The results show that 57.9% dogs had clinical signs, 68.4% had some type of macroscopic lesion in the stomach and/or in duodenum and 42.1% had some histopathological alterations in the same locations. The intensity of clinical signs was assessed and most patients presented only mild clinical signs (93.75%). The median plasma histamine value was 1ng/mL and most dogs (52.6%) had plasma histamine values below 0.01ng/mL. The disease relapsed was observed in 50% of the cases and the median disease-free interval was 18.1 months. At the end of the study (Dec / 2020), 71.1% of patients died, either due to causes related to the tumor or not, and 28.9% were still alive. The statistical analysis showed no relationship between the occurrence of PNS in the diagnosis and the variables disease-free interval and survival time, however this hypothesis is not ruled out, as the authors believe that due to the inclusion and exclusion criteria there was a tendency to select mild cases of the disease.

**Index terms:** Paraneoplastic syndrome, gastric ulcer, duodenum, histamine.

## INTRODUÇÃO

Em cães e gatos, o tegumento é um dos sítios anatômicos mais acometidos por neoplasmas. No Brasil, as neoplasias cutâneas representam de 8,8 a 26,9% de todos os diagnósticos histológicos na espécie canina. Nesta espécie, o mastocitoma é considerado a principal neoplasia cutânea primária diagnosticada, ocorrendo em 17,1% dos casos (Gerardi, 2020).

O mastocitoma apresenta um comportamento biológico e aparência clínica bastante variáveis e, frequentemente, cursa com sinais clínicos sistêmicos graves relacionados a sua presença (Howard et al. 1969, O'Keefe et al. 1987, Blackwood et al. 2012). Devido a sua grande variabilidade, estudos buscam estabelecer uma associação entre diferentes marcadores clínicos e histológicos e o comportamento biológico da doença. Atualmente, fatores tais como: idade, raça, sexo, estadiamento clínico, localização tumoral, tempo de evolução, metástase em linfonodo regional, ocorrência de sinais clínicos secundários e marcadores biomoleculares que associados a classificação histopatológica (padrão ouro) são amplamente pesquisados (Mullins et al. 2006, Costa Casagrande et al. 2013, Ferrari et al. 2018, Moirano et al. 2018, Moore et al. 2020).

Sabe-se que a ocorrência de síndrome paraneoplásica (SPN) secundária ao mastocitoma está diretamente associada à liberação de substâncias biologicamente ativas, tais como a histamina, heparina e outras enzimas proteolíticas contidas no interior dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos malignos (Fox et al. 1990, Rogers et al. 1996, Ishiguro et al. 2003, Van Gelderen et al. 2011). A liberação destes mediadores pode ser desencadeada por eventos imunológicos, químicos, neurológicos ou físicos (Van Gelderen et al. 2011, Blackwood et al. 2012, London & Thamm, 2013), sendo a elevação na concentração destas substâncias responsável por quadros de ulceração e/ou perfuração gastroduodenal, choque hipotensivo, anormalidades na coagulação, cicatrização retardada de feridas, hiperemia e edema no local da lesão cutânea (Howard et al. 1969, Fox et al. 1990, Ishiguro et al. 2003, Blackwood et al. 2012, London & Thamm, 2013, Daleck et al. 2016).

Em cães, as lesões gastroduodenais são a principal consequência da SPN associada aos mastocitomas cutâneos. É uma complicação importante e grave, ocorrendo com maior frequência no estômago em relação ao duodeno. Em estudo *post mortem*, observou-se elevada incidência (83%) de ulceração gastroduodenal em região fúndica, piloro e segmentos anteriores do duodeno, sendo que em 15% dos casos essas úlceras estavam perfuradas (Howard et al. 1969). Sinais clínicos tais como, vômitos, anorexia, diarreia, melena, dores abdominais podem ocorrer em animais com lesões gastroduodenais, aumentando significativamente a morbidade e mortalidade associadas a doença e, conseqüentemente, agravando o prognóstico (Howard et al. 1969, Ishiguro et al. 2003, Natividade et al. 2014, Moirano et al. 2018, Pizzoni et al. 2018).

A fisiopatogenia da ulceração GI em cães com mastocitoma cutâneo não está completamente elucidada, contudo sabe-se que o seu mecanismo, em grande parte, está relacionado ao aumento dos níveis sanguíneos de histamina (Fox et al. 1990; Ishiguro et al. 2003, Van Gelderen et al. 2011). Dados preliminares sugerem que o valor de histamina plasmática possa ser utilizado como marcador prognóstico, pois os cães que apresentam quadros de hiperhistaminemia consistente parecem apresentar sinais graves e não passíveis de tratamento, evoluindo para óbito relacionado a doença (Ishiguro et al. 2003).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar se a presença da síndrome paraneoplásia gastrointestinal apresenta influência sobre a evolução de cães com mastocitoma cutâneo canino. Para tal, será avaliado a influencia da presença de sinais gastrointestinal, lesão macro e microscópica GI e valores séricos de histamina sobre o tempo livre de doença e sobrevida.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Seleção dos Pacientes

Trata-se de um estudo retrospectivo no qual foram analisados os registros médicos de um grupo de 38 cães com diagnóstico confirmado de mastocitoma cutâneo. Estes cães foram atendidos no setor de clínica médica/ oncológica do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) e participaram de estudo anterior do mesmo grupo de pesquisa



(cadastrado sob o protocolo número 25301) no período compreendido entre os anos de 2013 e 2015 (Ledur, 2015). Todos os pacientes passaram por avaliação clínica de rotina e tiveram o diagnóstico de mastocitoma obtido pelo exame citológico que foi, posteriormente, confirmado por exame histológico. Dados demográficos como raça, idade, sexo, condição reprodutiva, peso e escore corporal foram registrados (Tabela 01).

Todas as variáveis clínicas e histológicas analisadas no momento do diagnóstico estão mostradas individualmente na tabela 02. As informações sobre evolução do paciente foram obtidas durante retornos ao HCV-UFRGS (variando com a necessidade individual de cada paciente). Os retornos foram realizados pela equipe do grupo de pesquisa e, nestas ocasiões, foram registrados se haviam recidivas locais, surgimento de novos mastocitomas e metástases regionais ou à distância pela observação local, exames de imagens, citológico e/ou histológico.

Em caso de interrupção do seguimento clínico, os dados de acompanhamento foram obtidos por contato telefônico e/ou via e-mail. Foram excluídos os pacientes que não retornaram nenhuma vez ao HCV-UFRGS após o procedimento cirúrgico e que nenhuma forma de contato com o tutor foi possível.

**Tabela 01:** Dados demográficos dos 38 cães com mastocitoma cutâneo.

Variáveis:	N (%)	Variáveis	N (%)	Variáveis:	Média (±desvio padrão)
<b>Raça:</b>		<b>Sexo:</b>		<b>Idade</b>	7,92 (2,57)
Sem raça definida (SRD)	16 (42,1)	Fêmea	24 (63,2)	<b>Peso corporal</b>	23,8 (13,1)
Boxer	8 (21,1)	Macho	14 (36,8)	<b>Escore Corporal</b>	6,0 (1,3)
Pitbull	4 (10,6)	<b>Condição reprodutiva:</b>			
Rottweiler	2 (5,3)	Castrado	19 (50)		
Labrador	2 (5,3)	Não castrado	19 (50)		
American Bulldog Campeiro	1 (2,6)				
Dachshund (Teckel)	1 (2,6)				
Dogue Alemão	1 (2,6)				
Pinscher	1 (2,6)				
Shih-tzu	1 (2,6)				

**Tabela 02:** Variáveis avaliadas dos 38 cães com mastocitoma canino imediatamente antes da exérese cirúrgica (LEDUR, 2015).

Cão	Velocidade de crescimento	Número de nódulos	Localização tumoral	Características macroscópicas do tumor	Metástase em LN regional	Estadiamento tumoral	Classificação Histotológica (Kiupel et al. 2011)	Classificação Histológica (Patnaik et al. 1964)	Índice mitótico	Valor de histamina (ng/mL)
1	Rápido	1	M	Ed	S	4	Baixo	2	>5	0,016
2	Estável	2	M	S/A	S	3	Alto	3	≤5	0,005
3	Estável	1	M, T	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	0,001
4	Estável	1	M	S/A	N	0	Baixo	2	≤5	0,001
5	Rápido	1	M	Ul	N	1	Baixo	2	≤5	0,018
6	Lento	1	T	S/A	N	1	Baixo	2	≤5	0,001
7	Rápido	1	I	S/A	N	1	Alto	2	≤5	ILDT
8	Lento	2	T	Er	N	3	Baixo	2	≤5	0,669
9	Lento	2	M	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	ILDT
10	Estável	1	E	S/A	N	1	Baixo	2	≤5	0,001
11	Lento	1	T	Er	N	2	Baixo	2	≤5	0,010
12	Lento	1	T	Er	N	1	Baixo	1	≤5	0,004
13	Rápido	2	T	Er	S	3	Alto	3	>5	0,179
14	Rápido	1	M	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	0,048
15	Estável	1	T	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	ILDT
16	Rápido	1	M	Ed; Er; Ul	S	3	Alto	3	≤5	0,018
17	Estável	1	M	S/A	N	1	Baixo	1	≤5	0,021
18	Rápido	1	M, T	S/A	S	3	Baixo	2	≤5	0,059
19	Rápido	1	T	S/A	AI	3	Baixo	2	≤5	0,029
20	Lento	1	V	Er	S	3	Baixo	2	≤5	0,002
21	Rápido	1	I	S/A	S	2	Baixo	1	≤5	0,007
22	Rápido	2	T	S/A	N	3	Alto	3	≤5	0,024
23	Estável	1	M	S/A	N	1	Baixo	2	≤5	0,010
24	Rápido	1	M	S/A	S	3	Alto	3	>5	0,157
25	Lento	2	M; T	S/A	S	3	Baixo	2	≤5	ILDT
26	Lento	1	M	Er	N	1	Alto	2	≤5	0,010
27	Estável	1	T	S/A	N	1	Baixo	1	≤5	0,004
28	Rápido	1	T	S/A	N	1	Baixo	2	≤5	0,010
29	Rápido	1	M; T; CeP	Ul	N	3	Baixo	2	≤5	0,328
30	Rápido	1	CeP	Ed	S	3	Alto	3	>5	2,597
31	Lento	1	T	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	0,604

32	Lento	1	T	Ed	N	3	Baixo	2	≤5	0,205
33	Rápido	1	T	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	0,190
34	Rápido	1	M	S/A	N	3	Baixo	2	≤5	0,003
35	Lento	1	M; T	S/A	S	3	Baixo	2	≤5	ILDT
36	Rápido	2	T	Ul; Ed; Er	S	3	Alto	3	>5	0,004
37	Rápido	1	M	Er	S	3	Baixo	2	≤5	0,083
38	Rápido	1	I	S/A	N	1	Baixo	2	≤5	0,769

**Legendas:** M (membros); T (Tronco); I (Região inguinal); E (escroto); V (vulva); CeP (cabeça e pescoço); Ed (edema); Ul (Ulceração); Er (Eritema); S/A (sem alterações); S (Sim); N (Não); AI (amostra inconclusiva); ILDT (inferior ao limite de detecção do teste)

Para padronização da gravidade dos sinais clínicos, os cães foram avaliados segundo as variáveis (atitude/atividade, apetite, vômito e consistência das fezes) conforme os critérios utilizados na classificação de pacientes com doença intestinal inflamatória [Canine Inflammatory Bowel Disease Index] segundo Jergens et al. (2003) e adaptada para o estudo (Ledur, 2015).

Cada parâmetro era avaliado de forma independente e valores de zero a três pontos eram atribuídos (Tabela 03). O somatório dos parâmetros categorizava os pacientes em: sinais leves (0-3 pontos); moderados (4-5 pontos); graves (6-8 pontos) e sinais de comprometimento completo (mínimo de 9 pontos) (Ledur, 2015).

**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:** Adaptação de Jergens et al. 2003.

A ausência ou presença de lesões gastrointestinais foi determinada por exame endoscópico, imediatamente, antes do procedimento de exérese tumoral. O exame endoscópico foi realizado sob anestesia (propofol na dose de 6mg.kg<sup>-1</sup>, i.v para indução e manutenção com isoflurano vaporizado em oxigênio 100%) antes da aplicação de qualquer outro fármaco necessário para remoção do nódulo cutâneo. Os cães foram posicionados em decúbito lateral esquerdo e o exame realizado com um fibroscópio flexível (Fujinon® - Sano City/Japão), de 9,8 mm de diâmetro e 300 cm de comprimento. Foram avaliadas, sequencialmente, as mucosas do esôfago, estômago e duodeno quanto a sua coloração, ocorrência de edema, presença de erosões, granulosidade, friabilidade, forma, calibre e distensibilidade. A avaliação do duodeno não foi possível em alguns pacientes devido ao tamanho do animal em relação ao aparelho. Fragmentos de todas as regiões do estômago e do duodeno foram coletadas com auxílio de uma pinça de biópsia e, imediatamente, fixados em solução de formalina tamponada a 10% e encaminhados para a análise histológica no Setor de Patologia da UFRGS (Ledur, 2015).

Os laudos histopatológicos referentes as amostras de estômago e duodeno foram revisados e, para análise estatística, os pacientes que apresentassem alguma alteração na avaliação histopatológica em alguma destas regiões foram considerados como pertencente ao grupo de pacientes com lesão gastroduodenal.

Para a dosagem de histamina, utilizou-se o teste imunoenzimático (ELISA) competitivo, para determinação quantitativa de histamina (Histamine ELISA, IBL Internacional, Hamburg, Germany) com limite de detecção de 0,002ng/mL.

Também foram extraídos dos prontuários médicos dos cães dados relativos ao número de nódulos (nódulo único ou múltiplos nódulos); tamanho tumoral (maior diâmetro medido em centímetros), características macroscópicas do tumor (ulceração, prurido local, edema peritumoral, eritema e presença de placas eritematosas); localização anatômica (membros, tronco, cabeça/pescoço, região inguinal, vulva/ escroto e prepúcio); velocidade de crescimento (lento, rápido, estável) observada segundo percepção do tutor de acordo com o tempo transcorrido entre a observação da lesão inicial e o tempo necessário para que a mesma dobrasse de tamanho (Tabela 2).

Para a realização do estadiamento, todos os cães passaram por exames de pesquisa de metástase a distância (ultrassonografia abdominal e radiografia de tórax) e punção aspirativa do linfonodo regional. Os dados sobre estadiamento tumoral também foram obtidos pelos registros médicos no momento do diagnóstico (Tabela 2).

Os laudos citológicos e/ou histopatológicos de pesquisa de metástases foram revisados pelo mesmo patologista. Todos os linfonodos regionais, mesmo quando considerados normais no exame

clínico (tamanho, consistência e forma) foram submetidos ao exame citológico por agulha fina e, se considerados metastáticos na citologia, foram removidos e encaminhados para análise histopatológica. Aqueles linfonodos considerados não metastáticos pelo exame citológico ou com punção insatisfatória não foram submetidos a linfadenectomia. Formações nodulares em órgão abdominais foram revisadas nos laudos de imagem ao longo do tempo e, quando realizados os exames citológicos e/ou histopatológicos destas formações, os mesmos foram registrados no estadiamento tumoral.

### **Avaliação histopatológica do tumor e índice mitótico**

A avaliação histopatológica foi realizada sempre pelo mesmo patologista conforme os critérios de 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.

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). Foi considerado um ponto de corte de maior que cinco figuras de mitose conforme proposto por Romansik et al. (2007).

### **Tratamento**

Todos os pacientes passaram por cirurgia de remoção do nódulo cutâneo com margens adequadas (3cm em todas as direções e um plano fascial em profundidade) (Blackwood et al. 2012) e intenção curativa. As demais terapias complementares variaram de acordo com a necessidade individual de cada paciente. Para fins estatísticos os pacientes foram agrupados em: 1) Tratamento cirúrgico; 2) Tratamento cirúrgico e quimioterapia adjuvante. No grupo que realizou tratamento quimioterápico não foi considerado o fármaco e o protocolo utilizado.

### **Intervalo livre de doença e sobrevida**

Para o cálculo do intervalo livre de doença (ILD) e tempo de sobrevida (TS), os cães incluídos foram divididos de acordo com as variáveis de interesse no momento do diagnóstico (dia 0): ausência ou presença de sinais clínicos gastrointestinais (vômito, hiporexia ou anorexia, perda de peso e alteração de consistência/coloração das fezes); presença ou ausência de lesões gastroduodenais macro e/ou microscópica; e valores séricos de histamina categorizados de forma arbitrária: 1) valores menores ou iguais a 0,01ng/mL; 2) cães com valores entre 0,01 e 0,05ng/mL; 3) cães com valores maiores ou iguais a 0,05ng/mL.

Foi estabelecido que ILD seria calculado como o período compreendido entre a data do procedimento cirúrgico e o aparecimento de uma nova lesão, recidiva ou metástases regionais ou à distância. Estes dados foram obtidos pelos e registros dos prontuários e de exames citológico e/ou histológicos no Setor de patologia Veterinária da UFRGS. Foram excluídos da análise da análise do ILD aqueles pacientes que não tiveram os dados de evolução da doença registrados adequadamente no prontuário clínico.

O TS foi calculado a partir da exérese do tumor até o momento do óbito do paciente por causas relacionadas ao tumor ou não. Da mesma forma, as informações foram extraídas dos prontuários ou pelo contato telefônico e/ou correio eletrônico com o tutor. Foram realizados contatos telefônicos e via e-mail direcionados, preferencialmente, à pessoa mais envolvida com o paciente. Foram realizadas perguntas relativas à sobrevida, causa de morte, data e local do óbito, informações sobre possíveis avaliações em outros estabelecimentos veterinários e informações sobre possíveis avaliações *pos mortem* foram pesquisadas. Para os pacientes que seguem vivos e em acompanhamento estabeleceu-se uma censura em 31 de dezembro de 2020 para o cálculo da sobrevida.

## **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Para avaliação estatística, os dados foram tabelados no programa Excel e, posteriormente, exportados para o programa SPSS versão 21.0. As variáveis quantitativas foram descritas por média

e desvio padrão e as categóricas por frequências absolutas e relativas. As curvas de sobrevida global e livre de evento foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste *log-rank*. Foi realizada análise univariada do tempo livre de doença e sobrevida em relação a presença de sinais gastrintestinais, lesões GI macroscópicas e/ou microscópicas e concentração de histamina plasmática no momento do diagnóstico. Para avaliação combinada de possíveis fatores de risco para sobrevida e ILD, caso seja observada significância na análise univariada, será realizada avaliação multivariada incluindo as demais variáveis secundárias (número de tumores, tamanho tumoral, presença de metástase, velocidade de crescimento, índice mitótico, classificação histopatológica). O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Destes 38 cães, 16 (42,1%) apresentavam sinais clínicos GI e 22 (57,9%) não apresentavam nenhum sinal GI no momento do diagnóstico. De acordo com classificação proposta, ao se considerar a intensidade dos sinais GI, foi observado que somente um cão (6,25%) apresentou sinal clínico considerado moderado e 15 (93,75%) apresentavam sinais clínicos considerados leves. As frequências absoluta e relativa dos sinais clínicos gastrintestinais avaliados estão descritas na tabela 04.

Com relação a lesão gastrintestinal macroscópica, observada durante exame endoscópico, 26 (68,4%) apresentavam algum tipo de lesão no estômago e/ou no duodeno e 12 (31,6%) não apresentavam lesão. Na análise histológica destas regiões, 16 (42,1%) apresentavam alterações nas amostras de estômago e/ou duodeno e 22 (57,9%) não apresentavam lesão tecidual.

**Tabela 04:** Tabela descritiva dos principais sinais clínicos gastrintestinais e seus valores relativos e absolutos dos 38 cães incluídos neste estudo retrospectivo.

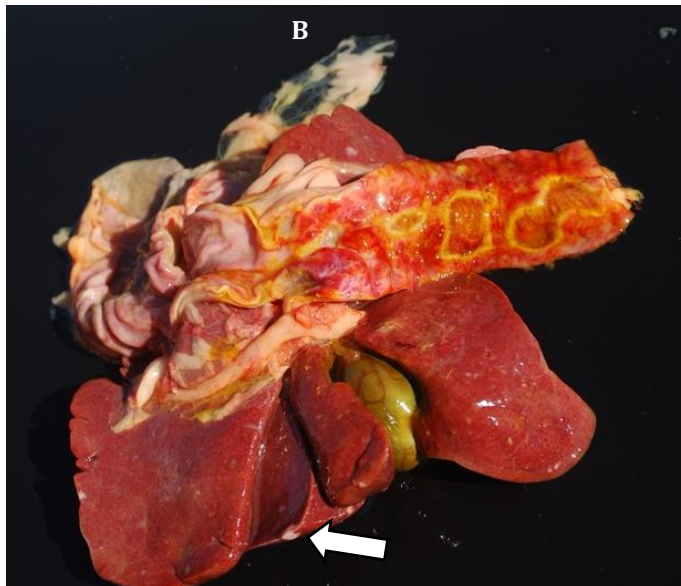
Sinais Clínicos GI	Valores Absolutos	Valores Relativos (%)
<b>Vômitos</b>		
Sim	8	21,1
Não	30	78,9
<b>Alteração na coloração/ consistência das fezes</b>		
Sim	2	5,3
Não	36	94,7
<b>Redução no apetite</b>		
Sim	7	18,4
Não	31	81,6
<b>Perda de peso</b>		
Sim	1	2,6
Não	37	97,4

Dentre as três categorias propostas de histamina séricas, 20 (52,6%) cães apresentavam valores menores ou iguais a 0,01ng/mL, sete (18,4%) valores entre 0,01 e 0,05ng/mL e 11 (28,9%) valores maiores ou iguais a 0,05ng/mL. A mediana do valor de histamina plasmática foi de 0,010ng/mL e os valores mínimo e máximo, foram de 0,002 ng/mL (limite inferior de detecção do teste) e 2,56 ng/mL, respectivamente.

O valor máximo de histamina (2,56ng/mL) foi observado em um dos cães (Paciente número 30, tabela 02), com sinais evidentes de degranulação local de mastócitos (edema peritumoral, eritema, prurido aumento de temperatura local e deiscência de sutura no pós-operatório). Esta paciente evoluiu negativamente e apresentou recidiva da doença após 1 mês. Juntamente com a recidiva, a paciente manifestou hematemesa diariamente, melena, anorexia e perda de peso severa. Devido à perda da qualidade de vida, a tutora optou pela eutanásia da paciente. No entanto, no

momento do diagnóstico os sinais clínicos GI foram classificados leves e o exame endoscópico mostrava apenas mucosa hiperêmica, friável e com placas de Peyer evidentes. A histologia da mucosa apresentava-se sem alteração (S/A). No exame de necrópsia foram observadas diversas úlceras no esôfago, estômago e duodeno (Figuras 01 e 02).

**Figura 01:** Achados de necrópsia evidenciando áreas de ulceração no duodeno e presença de pequeno nódulo metastático no fígado (seta).



**Fonte:** Foto gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Saulo Pavarini

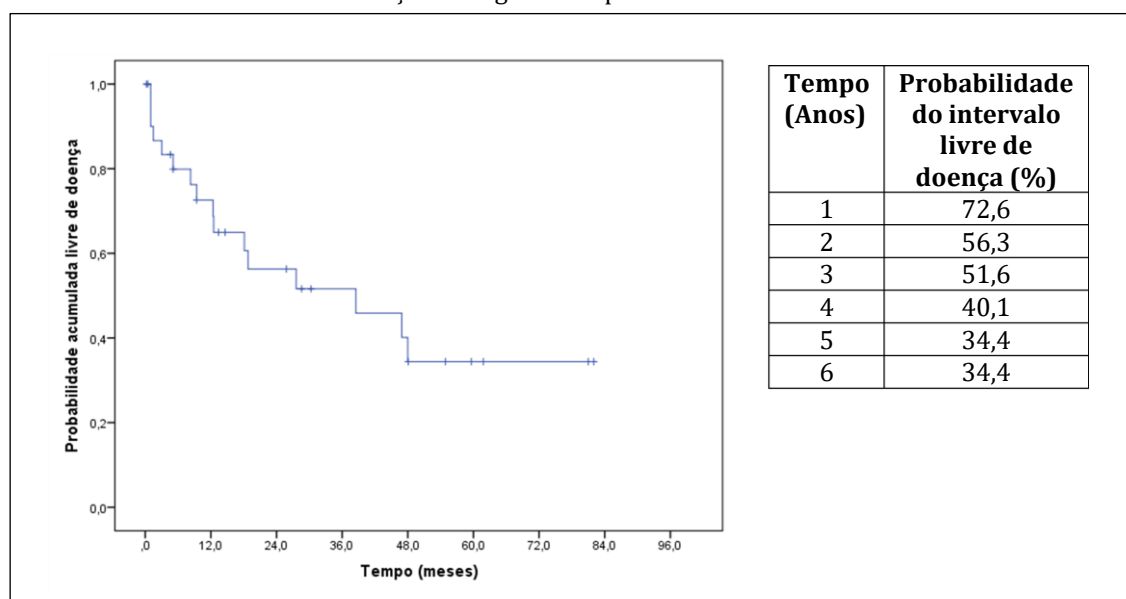
**Figura 02:** Achado de necropsia evidenciando duodeno com impregnação por bile, espessamento difuso moderado da parede e duas áreas focais de ulceração (setas).



**Fonte:** Foto gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Saulo Pavarini

Dos 38 cães, seis pacientes perderam o seguimento clínico presencial e foram excluídos desta análise, pois as informações obtidas por telefone ou e-mail foram consideradas imprecisas. Dessa forma completaram o estudo 32 cães. O ILD, calculado em meses, variou entre 1 e 48 meses, sendo a mediana global de 38,5 meses. Dezesesseis cães (50,0%) apresentaram recidiva local e/ou ocorrência de metástases regionais ou a distância. Na figura 03 está evidenciada a curva de probabilidade do intervalo livre de doença e as probabilidades ao longo de seis anos. Observou-se que 72,6% e 34,4% dos cães não apresentaram recidiva ou metástases no primeiro e sexto anos, respectivamente.

**Figura 3:** Curva Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do tempo livre de doença ao longo do tempo calculado em meses. Ao lado estão dispostas as probabilidades de sobrevida livre de doença ao longo de um período de seis anos.

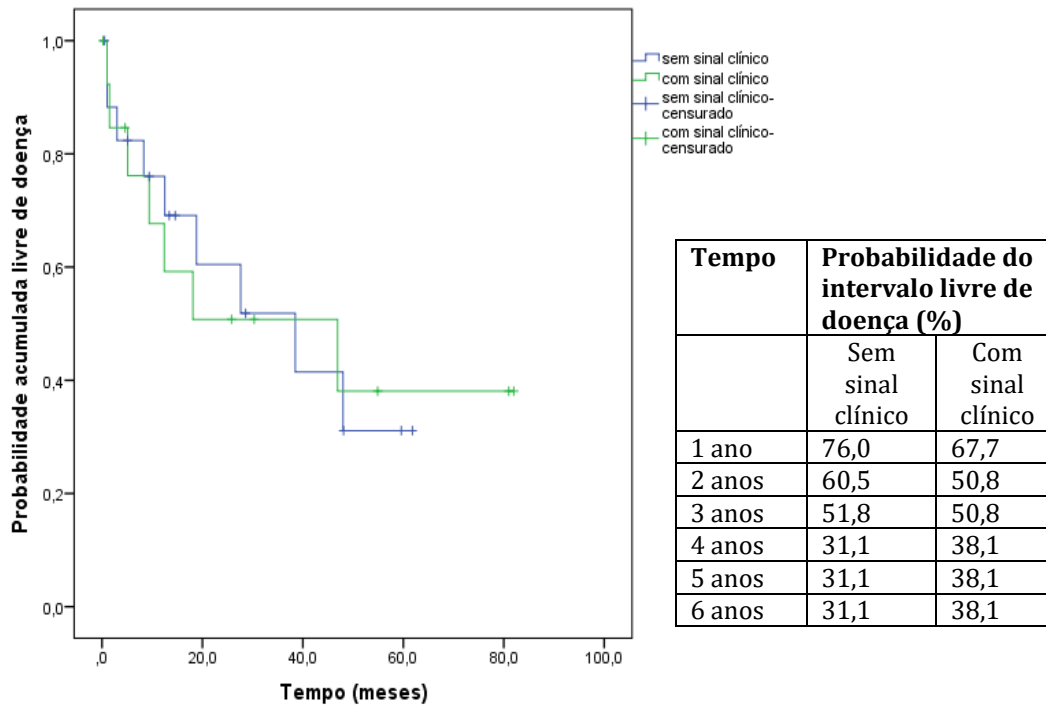


A relação do ILD bem como suas probabilidades ao longo de um período de seis anos em relação as variáveis sinais clínicos, lesão gastrointestinal macroscópica; lesão gastrointestinal microscópica e valor de histamina estão demonstradas nas figuras 4 a 7. Em relação ao intervalo livre de doença e a ocorrência de sinal clínico, observou-se uma mediana 25,1 meses para pacientes com sinal clínico e 14,8 meses para pacientes sem sinal clínico. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos pacientes com e sem sinal clínico e o ILD ( $p=0,0966$ , IC de 95%). As probabilidades do ILD e da variável ocorrência de sinal clínico ao longo do tempo mostraram para o primeiro e sexto ano, valores de 76% e 31,1%, respectivamente para pacientes sem sinal clínico e de 67,7% e 38,1% para pacientes com sinal clínico.

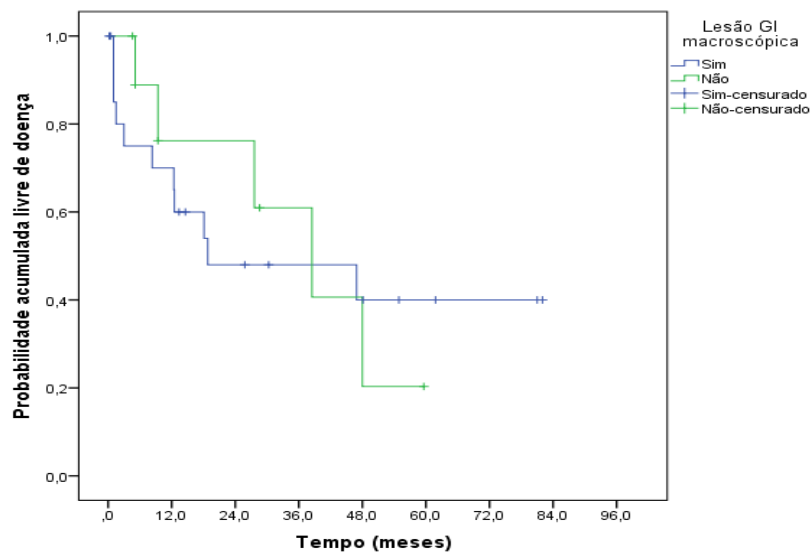
Para as variáveis lesão GI macroscópica e lesão GI microscópica, a mediana foi de 18,8 para cães com lesão macroscópica; 38,5 para cães sem lesão macroscópica; 48,0 meses para cães sem lesão microscópica e de 18,8 meses para cães com lesão microscópica. No entanto, não foi verificada diferença estatística significativa entre o ILD as nos cães com ou sem lesão GI macroscópica ( $p=0,873$ , IC de 95%) e microscópica ( $p=0,245$ , IC de 95%). Ao se considerar as probabilidades ao longo do tempo, tem-se que para os pacientes sem lesão GI macroscópica no primeiro ano a porcentagem foi de 76,2% e no sexto de 20,3% e para pacientes com lesão GI macroscópica a porcentagem foi de 70% para o primeiro ano e de 40% para o sexto ano. Da mesma forma, em relação a lesão GI microscópica foi observado uma porcentagem de 62,3% no primeiro ano e de 28,9% no sexto ano para pacientes sem lesão GI microscópica e para os pacientes com lesão GI microscópica foi de 90,9% no primeiro ano e de 42,4% no sexto ano.



**Figura 4:** Curva Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem sinal clínico. Ao lado estão dispostas as probabilidades ao longo de seis anos.

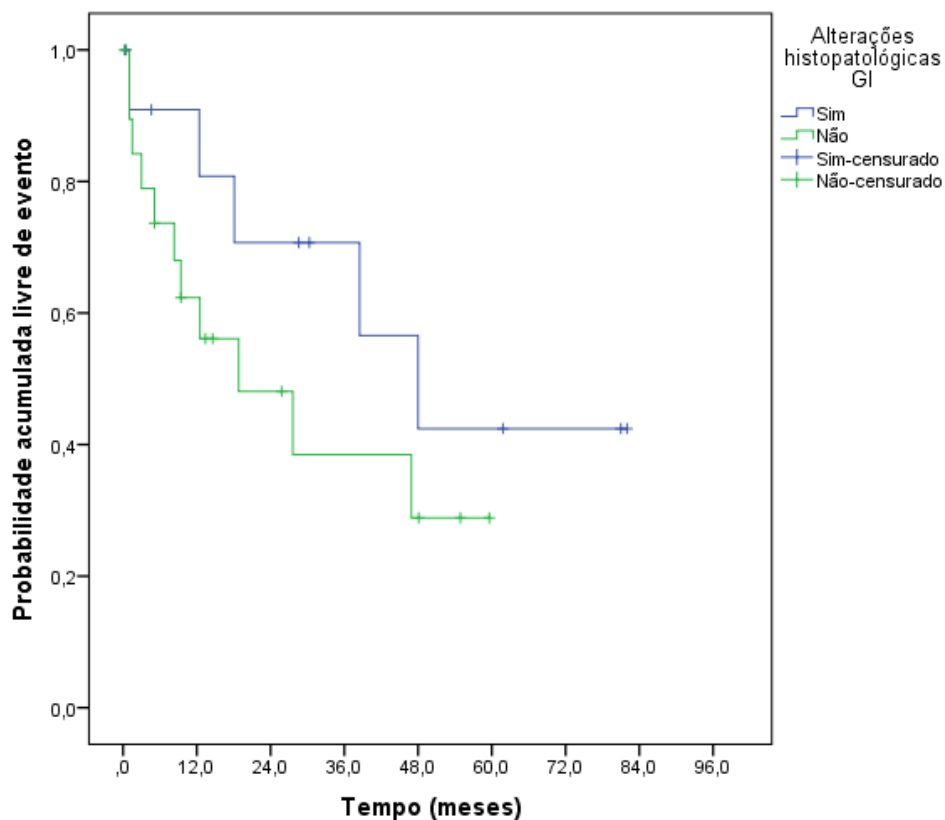


**Figura 05.** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem lesão GI macroscópica. Abaixo estão dispostas as probabilidades ao longo de seis anos



Tempo	Probabilidade do intervalo sobrevida livre de doença (%)	
	Sem lesão GI macroscópica	Com lesão GI macroscópica
1 ano	76,2	70,0
2 anos	76,2	48,0
3 anos	61,0	48,0
4 anos	20,3	40,0
5 anos	20,3	40,0
6 anos	20,3	40,0

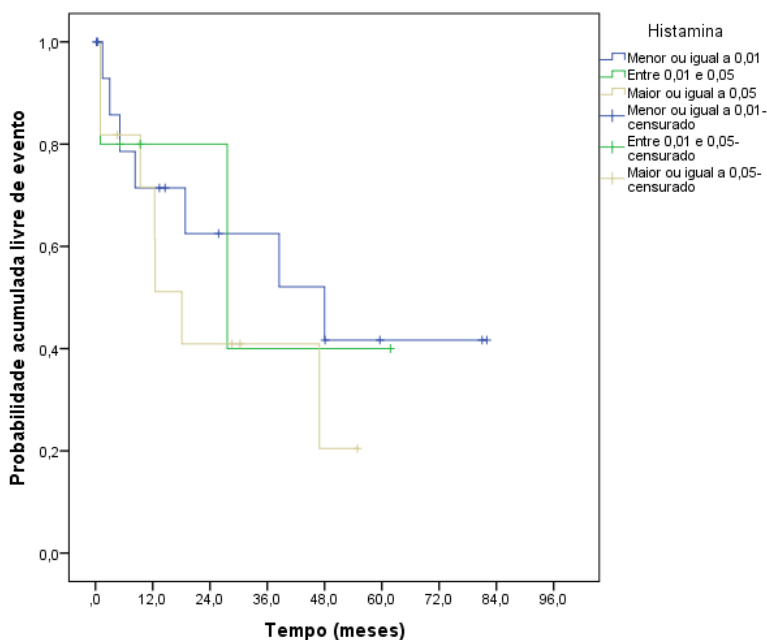
**Figura 06.** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre pacientes com e sem alteração histopatológica GI (lesão microscópica). Ao lado estão dispostas as probabilidades ao longo de seis anos.



Tempo	Probabilidade do intervalo livre de doença (%)	
	Sem lesão GI microscópica	Com lesão GI microscópica
1 ano	62,3	90,9
2 anos	48,1	70,7
3 anos	38,5	70,7
4 anos	28,9	42,4
5 anos	28,9	42,4
6 anos	28,9	42,4

Para a variável histamina, valores menores ou iguais a 0,01ng/mL apresentaram uma mediana de ILD de 49 meses; valores entre 0,01 e 0,05ng/mL a mediana foi de 27,6 meses e valores maiores ou iguais a 0,05ng/mL a mediana foi de 18,1 meses. Da mesma forma que as demais variáveis analisadas, o valor de histamina não apresentou associação estatística significativa em nenhum dos subgrupos da concentração de histamina plasmática ( $p=0,592$ , IC de 95%). Na figura 07, são mostradas as probabilidades do ILD nos três subgrupos. Nota-se que para valores de histamina maiores ou iguais a 0,05ng/mL para o primeiro ano a probabilidade de ILD é de 71,6% e para o sexto ano de 20,5%. Para os valores de histamina entre 0,01 e 0,05ng/mL as probabilidades de ILD foram de 80% no primeiro ano e 40% no sexto ano e, para o subgrupo de histamina menor ou igual a 0,01ng/mL obteve-se 71,4% e 41,7% para o primeiro e sexto ano, respectivamente.

**Figura 07.** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada do ILD (meses) e a relação entre os subgrupos aleatórios da concentração de histamina plasmática no momento do diagnóstico. A baixo estão dispostos os três subgrupos da concentração de histamina plasmática e a probabilidade acumulada ao longo de seis anos.



Tempo	Probabilidade de intervalo livre de evento (%)		
	≤0,01	0,01 a 0,05	≥0,05
1 ano	71,4	80,0	71,6
2 anos	62,5	80,0	40,9
3 anos	62,5	40,0	40,9
4 anos	41,7	40,0	20,5
5 anos	41,7	40,0	20,5
6 anos	41,7	40,0	20,5

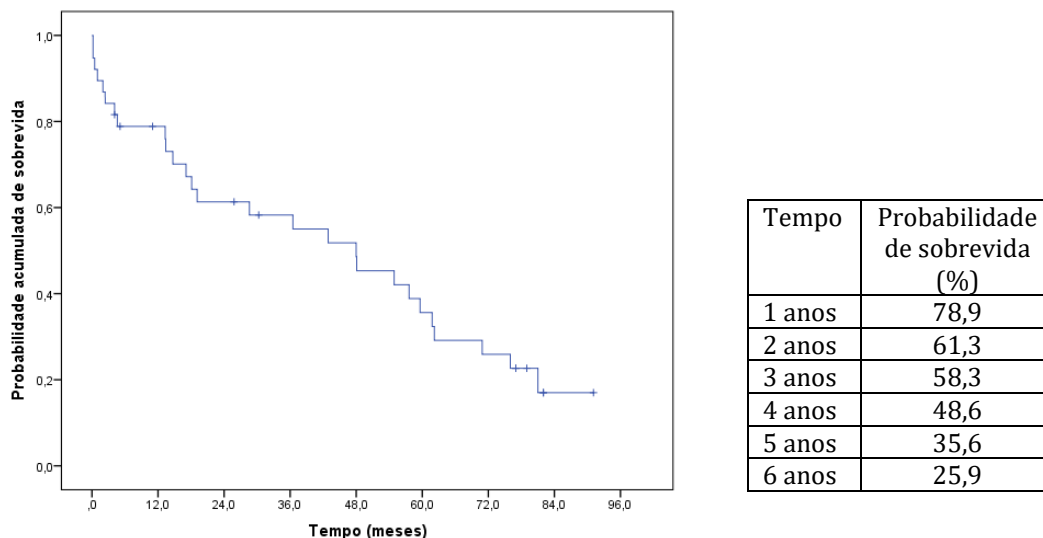
Ao final do estudo (dezembro 2020), 27 (71,1%) cães vieram a óbito por causas relacionadas ao tumor ou não e 11 (28,9%) cães ainda vivos, foram censurados. A mediana global de sobrevida foi de 48 meses. Na figura 08 estão representadas a curva de probabilidade de sobrevida, bem como a probabilidade de SV ao longo de um período 6 anos, sendo possível observar que para o primeiro ano a porcentagem de SV foi de 78,9% e para o sexto ano de 25,9%.

Dos cães que foram censurados, quatro seguem em acompanhamento (média de seguimento de 82,2 meses, variando entre 77 e 91,1 meses) e sete cães perderam o seguimento (média de seguimento 33,6 meses, variando entre 4,1 e 82 meses). Dos 27 cães que vieram a óbito, a morte foi relacionada ao mastocitoma em seis casos, os outros 21 cães morreram por: causas desconhecidas 11 cães (média de sobrevida 39 meses variando entre 0,2 e 81 meses); cardiopatia dois cães (61,8 / 48,1 meses), perfuração intestinal (intestino grosso) um cão (48 meses); acidente automobilístico um cão (0,2 meses); diabetes melitus e hiperadrenocorticismo um cão (76 meses); cinomose um cão (0,5 meses); metástase de tumor de mama um cão (59,6 meses); tumor de ovário infiltrativo um cão (28,6 meses); insuficiência hepática por cirrose um cão (2,4 meses) e ruptura de bexiga um cão (14,7 meses).

Os pacientes que apresentaram morte por causas desconhecidas não foram acompanhados e estas informações foram obtidas por contato não presencial com o tutor (telefone ou e-mail). Para a maioria destes casos, os tutores afirmavam mortes por comorbidades (doença renal e cardiopatias),

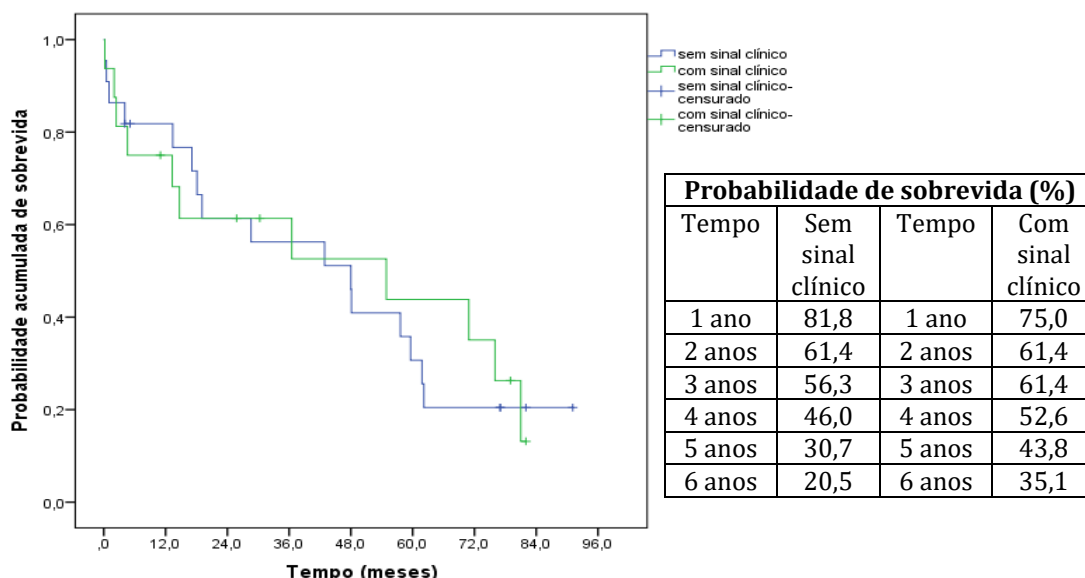
entretanto estes animais não passaram por avaliação ou necropsia para pesquisa exata da causa *mortis*, não sendo possível afirmar que tenham alguma relação com o mastocitoma.

**Figura 08.** Curva de sobrevivência Kaplan-Meier mostrando a taxa de sobrevivência acumulada ao longo do tempo. Ao lado são representadas as probabilidades de sobrevivência global ao longo de um período de 6 anos.



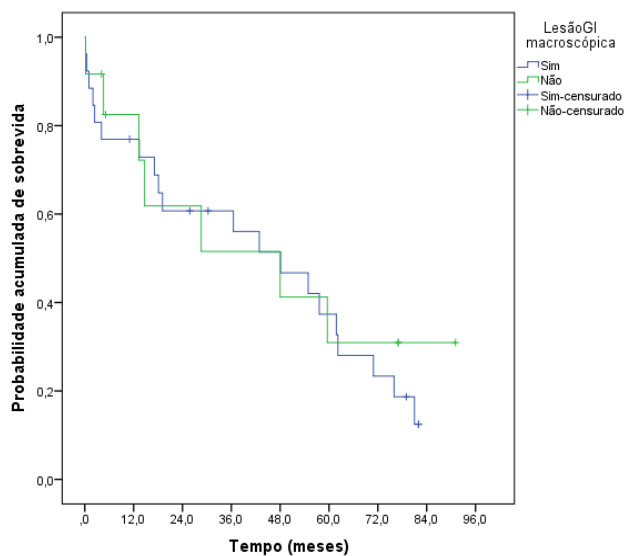
Por fim, em se considerando a taxa de sobrevivência dos pacientes e suas probabilidades ao longo de seis anos em relação às variáveis sinais clínicos, lesão GI macroscópica e lesão GI microscópica e valor de histamina tem-se os seguintes resultados (Figuras 9 a 12). Com relação à variável sinal clínico, a mediana da sobrevivência em meses para pacientes com sinal clínico foi de 54,9 e sem sinal 48,0 meses. Não foram observadas diferenças estatísticas entre estas variáveis ( $p=0,870$ . IC de 95%). Para a variável ocorrência de sinal clínico, as probabilidades de sobrevivência ao longo do tempo foram de 81,8% no primeiro ano e de 20,5% no sexto ano para pacientes sem sinal clínico. Para pacientes com sinal clínico essas probabilidades foram de 75% no primeiro ano e 35,1% no sexto ano.

**Figura 09.** Curva de sobrevivência Kaplan-Meier mostrando a taxa de sobrevivência acumulada e sua relação com a ocorrência de sinais clínicos. Ao lado são representadas as probabilidades de sobrevivência em ambos os grupos ao longo de 6 anos.



Cães com lesão GI macroscópica apresentaram mediana de sobrevida de 48,1 meses para cães com lesão, já os cães que não apresentaram lesão GI a mediana foi de 48,0 meses ( $p=0,636$ , IC de 95%). Para as probabilidades de SV ao longo de seis anos foi observado nos pacientes sem lesão GI macroscópica 82,5% e 30,9% no primeiro e no sexto ano, respectivamente e nos pacientes com lesão GI macroscópica 76,9% e 23,4% no primeiro e sexto ano, respectivamente.

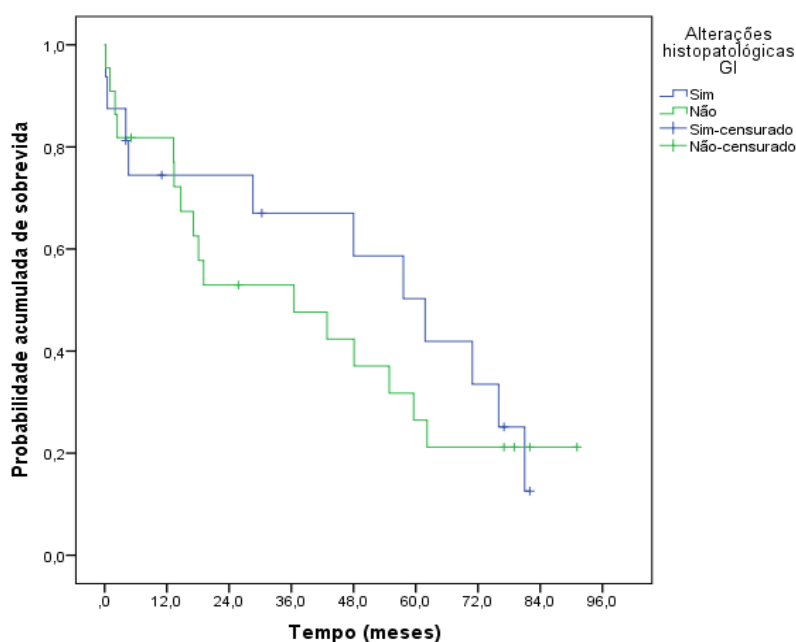
**Figura 10.** Curva de sobrevida Kaplan-Meier mostrando a taxa de sobrevida acumulada e sua relação com a ocorrência de sinais GI macroscópicos (macro). Ao lado são representadas as probabilidades de sobrevida em ambos os grupos ao longo de 6 anos.



Tempo	Probabilidade de sobrevida (%)	
	Sem lesão GI macroscópica	Com lesão GI macroscópica
1 ano	82,5	76,9
2 anos	61,9	60,7
3 anos	51,6	60,7
4 anos	41,3	46,7
5 anos	30,9	37,4
6 anos	30,9	23,4

Para a variável lesão histopatológica GI, a mediana foi de 61,8 meses para pacientes com lesão microscópica e de 36,5 meses sem lesão microscópica, no entanto não foi observado diferença significativa ( $p=0,609$ , IC de 95%). Em relação as probabilidades de SV ao longo do tempo foi observado que para pacientes sem alterações GI histológicas a probabilidade foi de 81,8% no primeiro ano e de 21,2 no sexto ano e para os pacientes com alterações GI histológicas, a probabilidade foi de 74,5% no primeiro ano e de 33,5% no sexto ano.

**Figura 11.** Curva de sobrevivência Kaplan-Meier mostrando da taxa de sobrevivência acumulada e sua relação com a ocorrência de alterações histológicas GI. Abaixo são representadas as probabilidades de sobrevivência em ambos os grupos ao longo de 6 anos.

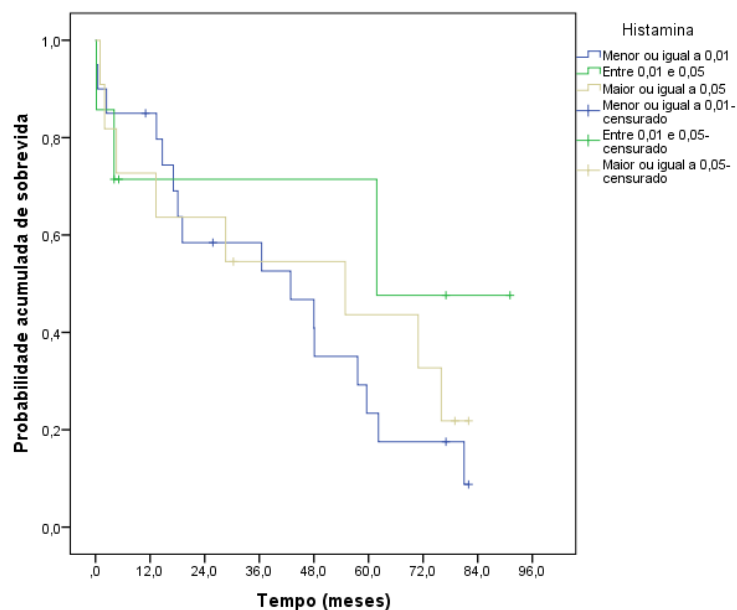


Tempo	Probabilidade de sobrevivência (%)	
	Sem alterações histopatológicas GI	Com alterações histopatológicas GI
1 ano	81,8	74,5
2 anos	52,9	74,5
3 anos	52,9	67,0
4 anos	42,4	58,7
5 anos	26,5	50,3
6 anos	21,2	33,5

Com relação às subcategorias de histamina, tem-se uma mediana de sobrevivência de 42,9 meses para valores menores ou iguais a 0,01ng/mL; de 61,8 meses para valores entre 0,01ng/mL e 0,05ng/mL e de 54,9 meses para valores maiores ou iguais a 0,05ng/mL ( $p=0,545$ , IC de 95%). Ao se considerar a variável SV e sua probabilidade ao longo do tempo em relação às subcategorias de valor de histamina, tem-se que para o grupo com valores maiores ou iguais a 0,05ng/mL a probabilidade foi de 72,7% no primeiro ano e de 32,7% no segundo ano. Para a subcategoria intermediária (valores entre 0,01 e 0,05ng/mL) as probabilidades de SV foram de 71,4% e 47,6% no primeiro e sexto ano respectivamente e para a categoria com menor valor de histamina plasmática (igual ou inferior a 0,01ng/mL) as probabilidades foram de 85% no primeiro ano e de 17,5% no sexto ano.

As análises multivariadas das demais variáveis não foram realizadas, pois diferenças estatísticas não foram observadas nas análises univariadas.

**Figura 12.** Curva de Kaplan-Meier mostrando a probabilidade acumulada de sobrevivida (meses) e a relação entre os subgrupos aleatórios da concentração de histamina plasmática no momento do diagnóstico. A baixo estão dispostos os três subgrupos da concentração de histamina plasmática e a sobrevivida ao longo de seis anos.



Tempo	Probabilidade de sobrevivida (%)		
	$\leq 0,01$	0,01 a 0,05	$\geq 0,05$
1 ano	85,0	71,4	72,7
2 anos	58,4	71,4	63,6
3 anos	58,4	71,4	54,5
4 anos	40,9	71,4	54,5
5 anos	23,4	71,4	43,6
6 anos	17,5	47,6	32,7

## DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou, retrospectivamente, a ocorrência de síndrome paraneoplásica gastrointestinal associada ao mastocitoma cutâneo no momento do diagnóstico, buscando verificar sua influência sob o ILD e a SV. Por definição, entende-se síndrome paraneoplásica como um conjunto de sinais e sintomas que ocorrem distante da neoplasia primária e/ou de suas metástases e não apresentam relação com a presença física da neoplasia ou de seus focos metastáticos (Daleck et al. 2016). Nos mastocitomas a ocorrência de SPN gastrointestinal caracteriza-se por sinais clínicos tais como vômitos, diarreia, anorexia, perda de peso, sangramento intestinal em decorrência da presença de lesões gastroduodenais em região de fundo do estômago, piloro e bulbo duodenal (Howard et al. 1969, Welle et al. 2008). No presente estudo, considerou-se a presença de sinais clínicos GI e/ou ocorrência de lesão no exame de endoscopia ou na análise histológica das mucosas gástrica e intestinal como alterações decorrentes de SPN associada ao mastocitoma cutâneo. Os valores séricos de histamina também foram considerados como parte da avaliação de SPN, contudo devido à falta de um ponto de corte, buscou-se verificar a influência dos três níveis de histamina sob o ILD e a sobrevida.

Com relação a ocorrência de sinais clínicos no momento do diagnóstico, os resultados evidenciaram que 42,1% apresentavam algum sinal clínico GI, corroborando com outros estudos que observaram frequências similares também no diagnóstico, sendo observado sinais clínicos em 50% dos casos (O'Keefe et al. 1987); 42,2% (Pizzoni et al. 2018) e 50% (Moirano et al. 2018). Outros dois estudos que observaram a evolução ao longo do tempo e não somente no diagnóstico, também demonstraram porcentagens de ocorrência de sinais clínicos similares, sendo 35% segundo Fox et al. (1990) e 36% segundo Ishiguro et al. (2003). Por outro lado, alguns trabalhos mostraram frequências menores: 20% (Mullins et al. 2006) no momento do diagnóstico e em outras duas pesquisas retrospectivas que não deixaram explícitos o momento exato da avaliação, mostram valores de 15,8% (Book et al. 2011) e 22,7% (Natividade et al. 2014). Poucos estudos descrevem quais os principais sinais clínicos observados nos casos de mastocitoma. No presente estudo o vômito (21,1%), seguido da redução no apetite (18,4%) e alteração na coloração/consistência das fezes (5,3%) foram os mais observados. Nota-se que estas frequências são menores quando comparadas a um estudo anterior que evidenciou 44% de vômito, 31% de anorexia, 19% de diarreia (O'Keefe et al. 1987). Da mesma forma, mais recentemente, outra pesquisa avaliou cães com quadros de mastocitose e observou que os sinais clínicos consistiam de letargia (40%), anorexia (35%), vômitos (20%) e diarreia (18%) (Moirano et al. 2018). Pizzoni et al. (2018) avaliaram pacientes estágio V da doença e citaram, sem destacar os valores relativos, que vômitos, anorexia, melena e diarreia foram os sinais mais frequentes.

Apesar da ocorrência, relativamente, elevada de sinais clínicos GI evidenciada neste estudo, em se tratando de intensidade, tem-se que a maioria dos cães apresentavam sinais leves (93,75%). Os autores desconhecem estudos que tenham sugerido uma classificação de intensidade sinais clínicos em cães com mastocitoma cutâneo, de forma que não é possível estabelecer uma comparação com outras pesquisas já realizadas (Howard et al. 1969, O'Keefe et al. 1987, Ishiguro et al. 2003, Book et al. 2011, Natividade et al. 2014, Moirano et al. 2018, Pizzoni et al. 2018). No entanto, acredita-se que o fato de a maioria dos cães apresentarem sinais clínicos GI leves no momento do diagnóstico pode ter influenciado na ausência de diferenças significativas no ILD e SV.

A fisiopatogenia da ocorrência de SPN nos casos de mastocitoma é ainda controversa. Sabe-se que tem associação com níveis elevados de histamina plasmática e, possivelmente, com quadros mais agressivos e infiltrativos da doença devido a degranulação dos mastócitos neoplásicos (Fox et al. 1990, Ishiguro et al. 2003, Van Gelderen et al. 2011, Blackwood et al. 2012). Moirano et al. (2018), destacam que todos os pacientes com apresentação visceral do mastocitoma tinham também sinais sistêmicos, sugerindo uma possível relação entre a ocorrência de SPN e infiltração tumoral. Em estudo anterior realizado com achados *post mortem*, tal relação já havia sido sugerida (Howard et al. 1969). Da mesma forma, Pizzoni et al. (2018) também descreve a ocorrência de sinais clínicos em pacientes classificados como estágio V, ou seja, com infiltração tumoral sistêmica.

Diante do exposto, em se tratando dos resultados dos principais sinais clínicos observados e da intensidade destes, os autores acreditam que as diferenças evidenciadas em relação aos demais estudos possam ter relação com o grau histológico, a gravidade e o nível de infiltração tumoral. Comparativamente, os estudos anteriores exibem graus histológicos e taxas de infiltração em linfonodos regionais ou a distância mais elevadas. No presente estudo, observa-se que a população selecionada apresenta graus histológicos menos agressivos, sendo que somente 18,4% apresentavam tumores grau III conforme Patnaik et al., (1984) e, conforme Kiupel et al., (2011), essa



frequência é de 23,7% para tumores alto grau. Em relação as metástases, os valores são ainda mais discrepantes, com 34,2% apresentando envolvimento linfático e somente um cão (2,6%) com metástases a distância confirmada, indicando que provavelmente o perfil desta população possa estar associado a uma menor chance de ocorrência e menor gravidade de SPN. No estudo de O'Keefe et al. (1987), 77% da população apresentavam tumores, histologicamente, classificados como grau III. Pizzoni et al. (2018) e Moirano et al. (2018), tinham 41% e 44,4% de tumores grau III, respectivamente e, em se considerando a classificação de Kiupel et al. (2011), os tumores de alto grau correspondiam a 64,4% (Moirano et al. 2018). Em relação a infiltração neoplásica, 20% (n=7/35) tinham metástase no LN regional e 80% (n=28/35) metástases a distância (Moirano et al. 2018) e, nos estudos de Pizzoni et al. (2018), 91,1% tinham infiltração neoplásica no LN regional e 100% tinham metástases a distância. O'Keefe et al. (1987) também demonstraram valores altos de metástase, com envolvimento de LN e baço em 75% dos casos, fígado em 70% e medula óssea em 58%.

A avaliação macroscópica e microscópica da mucosa gástrica e/ou intestinal mostrou haver lesão em 68,4% e 42,1%, respectivamente. Os autores deste estudo destacam que a avaliação macroscópica e microscópica GI fazem parte de uma mesma análise, contudo foram consideradas em separado pois não houve concordância entre estes achados. Em humanos, em um estudo realizado com gastrite erosiva e/ou duodenite, mostraram uma fraca concordância entre os resultados endoscópicos e histológicos (Elta et al. 1987). 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.

Dados da literatura sugerem que cães com mastocitoma apresentam níveis de histamina plasmática significativamente mais altos do que cães normais (Fox et al., 1990; Ishiguro et al. 2003, Van Gelderen et al. 2011). Entretanto, ainda se desconhece qual seria a concentração plasmática normal de histamina e a partir de qual concentração os pacientes com mastocitoma começam a apresentar lesões e sintomas GI evidentes (Fox et al. 1990; Welle et al. 2008, London & Thamm, 2013, Daleck et al. 2016). Assim sendo, da mesma forma que os demais parâmetros avaliados foram leves, a maior parte dos cães 52,6% apresentava valores de histamina menores ou iguais a 0,01ng/mL.

Em relação as dosagens de histamina plasmática, a paciente que apresentou o maior valor merece destaque por apresentar um curso agressivo da doença e achados de necropsia compatíveis com de lesão GI secundária ao mastocitoma, segundo padrão estabelecido por Howard et al. (1969). Ishiguro et al. (2003) sugerem que as elevações no valor de histamina possam ser utilizadas como marcador prognóstico do mastocitoma e que cães que evoluem para quadros de hiperhistaminemia não irão responder ao tratamento clínico para os sintomas GI desenvolvidos. No presente estudo, a avaliação desta paciente foi pontual não sendo possível evidenciar elevações no valor de histamina ao longo do tempo, contudo pode-se observar que durante o período de seguimento, esta paciente evoluiu para vômitos incontroláveis, anorexia, diarreia e perda de peso acentuada. No estudo anterior, 7 dos 11 cães avaliados evoluíram para quadros de hiperhistaminemia com valor médio de 12,2ng/mL (variando entre 3,42 - 30,1 ng/mL) valores estes, 64 vezes maiores do que o grupo controle (Ishiguro et al. 2003). Desta forma, acredita-se que a cadela aqui destacada ao longo do curso da doença possa ter atingido concentrações de histamina plasmática similares as observados por Ishiguro et al. (2003).

O intervalo livre de doença observado neste trabalho teve uma mediana global de 38,5 meses, indiferentemente, do tipo de tratamento recebido (cirurgia como terapia única ou cirurgia mais quimioterapia adjuvante). Ao longo do tempo foi observada uma taxa global livre de doença de 72,6% no primeiro ano e 56,3% para o segundo ano. Dados da literatura são bastante variados no tocante ao intervalo livre de doença, a gravidade da doença e ao tipo de terapia instituída. Webster et al. (2008) observaram que para pacientes com tumores grau II o ILD foi de 14,1 meses e para tumores grau III foi de 7 meses para cães tratados com vimblastina e prednisona. Por outro lado, Thamm et al. (2006), ao avaliarem 61 cães submetidos ao mesmo tratamento, observaram um ILD maior de 43,5 meses (1305 dias). Mais recentemente, outro estudo, buscou avaliar casos de mastocitomas não operáveis e utilizou como terapia complementar o toceranib associado à lomustina, observando um ILD de 86 dias (2,8 meses) para os cães que apresentaram uma resposta objetiva ao tratamento (Bavcar et al. 2017).

No presente estudo, a ocorrência de recidiva foi observada em 50% dos casos (16/32). Corroborando com os resultados aqui encontrados, Horta et al (2018) observaram recidivas caracterizadas por metástases em órgãos internos ou na pele em 34% dos casos e não observaram

recidiva local em nenhum dos pacientes por eles avaliados. Da mesma forma Donnelly et al. (2013) evidenciaram recorrência em 36% dos mastocitomas alto grau e 4% em mastocitomas baixo grau. Mais recentemente, Moore et al. (2020) observaram uma taxa menor de recorrência de 18,4%.

Com relação as variáveis ocorrência de sinal clínico, lesão macroscópica e lesão microscópica ao longo do tempo, comparando-se os grupos com e sem ocorrência, os valores foram similares, de forma que a ocorrência de SPN não pode ser associada a recidiva da doença. Cabe ressaltar aqui que os autores acreditam que os resultados por ora apresentados possam ter relação com o perfil populacional desta amostragem. Acredita-se que devido aos critérios de exclusão, os pacientes selecionados não apresentavam sinais evidentes e graves de SPN e, por isso, não foram observadas diferenças estatísticas entre os subgrupos. Desta forma, sugere-se que em uma população com sinais clínicos GI acentuados os resultados poderiam ser diferentes para o ILD, pois trabalhos anteriores conseguiram demonstrar tal relação. Recentemente, Pizzoni et al. (2018) evidenciaram que a ocorrência de subestádio segundo classificação da OMS, ou seja, ocorrência de sinais clínicos sistêmicos (sinais não descritos), foi indicativa de menor intervalo livre de doença na análise univariada, contudo tal afirmação não foi confirmada na análise multivariada. Da mesma forma, Mullins et al. (2006) observou que na análise univariada a ocorrência de sinais clínicos (cutâneos e/ou GI) no diagnóstico, excisão incompleta e uso de terapias complementares tiveram influência negativa na ocorrência de recidivas, sendo que o sinal clínico foi a única variável que se confirmou nas análises multivariadas. Neste estudo de Mullins et al. (2006), são descritos sinais cutâneos (eritema, dor local, inchaço e ulceração) foram observados em nove cães e sinais GI (anorexia, vômito, melena e diarreia) em dois cães.

A taxa geral de sobrevida foi de 28,9% (n=11 cães vivos) até o fim do período de observação com uma mediana global de 48 meses. Em relação à sobrevida ao longo do tempo, tem-se que a probabilidade no primeiro ano foi de 78,9 % e 61,3% no segundo ano. Corroborando os resultados aqui apresentados, Moore et al (2020) obtiveram um valor de 79% no primeiro ano e de 73% no segundo ano. Da mesma forma, dados similares de sobrevida foram observados por Marconato et al. (2018) e Horta et al. (2018). No estudo de Marconato et al. (2018), foi feita diferenciação entre óbito associado a doença neoplásica (63,4%) e causas não relacionadas a neoplasia (14,1%). É importante ressaltar que nos dados aqui apresentados não foi feita diferenciação entre óbito por causas relacionadas ao tumor ou não, representando uma limitação deste estudo.

Em se tratando das variáveis de SPN consideradas (sinais GI, lesão GI macroscópica e microscópica e valor de histamina plasmática), não foi observada associação significativa com a sobrevida neste grupo de cães. Um estudo recente, avaliou, retrospectivamente, a resposta a terapia sistêmica em 40 cães com diagnóstico de mastocitose segundo os critérios estabelecidos por O'Keefe et al. (1987), sejam eles: 1) Presença de mastócitos no sangue periférico; 2) Infiltração na medula óssea; 3) Envolvimento hepático e/ou esplênico e 4) Envolvimento linfático distante do sítio primário. Neste estudo, foram pesquisados sinais sistêmicos, tais como letargia, vômito, anorexia e diarreia que podem estar relacionados a degranulação de mastócitos e, conseqüentemente, indicativo de processos neoplásicos mais extensivos e com pior prognóstico (Moirano et al. 2018).

No trabalho de Moirano et al (2018), a ocorrência de sinais sistêmicos foi observada em 50% dos casos e a sobrevida média nestes pacientes foi de 52 dias (1,7 meses) e, em pacientes sem sinal clínico, a SV foi de 122 dias (4 meses). Em relação a sobrevida global do mesmo estudo (119 dias/3,9 meses), os pacientes com sinais clínicos apresentaram uma expectativa média menor, contudo diferenças estatísticas não foram observadas. Acredita-se que não foi observado um resultado estatístico significativo em função do reduzido número de pacientes (Moirano et al. 2018). Comparativamente aos resultados de Moirano et al. (2018), a SV do presente estudo foi maior. Acredita-se que tais diferenças foram observadas em decorrência do perfil da população avaliada, pois no trabalho de Moirano et al. (2018) a população apresentava quadros de mastocitose, ou seja, uma apresentação mais disseminada e agressiva da doença e que por conseqüência, apresentava menor expectativa de vida. Diferentemente dos resultados aqui apresentados e dos resultados de Moirano et al. (2018), nos quais não foi observada relação estatística entre as variáveis sobrevida e ocorrência de sinais clínicos, outros dois estudos (Mullins et al. 2006, Pizzoni et al. 2018) observaram diferenças estatísticas nas análises univariadas de sobrevida associada a ocorrência de sinais clínicos sistêmicos e cutâneos (anorexia, vômito, melena, diarreia, eritema local, dor, inchaço e ulceração local).

Por fim, com relação aos resultados e limitações deste estudo, os autores sugerem que o perfil da população e o número de pacientes inclusos possam ter afetado os resultados. Em relação ao perfil populacional, notou-se que houve uma tendência na seleção de pacientes com quadros menos agressivos e com sinais sistêmicos brandos, como pôde ser observado nas diferentes variáveis

prognósticas avaliadas. Além disso, o carácter retrospectivo da pesquisa encontrou limitações na obtenção de informações obtidas por e-mail e/ou telefone. Assim sendo, acredita-se que estes dados possam servir para avaliação de SPN, sugerindo que pesquisas futuras, com dosagem de histamina e avaliação de diferentes graus de sinais clínicos, lesões gástricas macroscópicas e microscópicas ao longo do tempo sejam realizadas, buscando relacionar a ocorrência de síndrome paraneoplásica com tempo livre de doença e expectativa de vida.

### **CONCLUSÃO**

O presente estudo mostrou não haver associação entre a presença de sinais clínicos GI, lesões GI e concentração sérica de histamina no momento do diagnóstico sobre o ILD e SV dos cães com mastocitoma cutâneo canino. Contudo, não se descarta esta hipótese, pois os autores acreditam que pacientes com um perfil de neoplasias mais agressivas e infiltrativas, levariam a ocorrência de sinais clínicos GI mais evidentes, podendo ter influência sob os resultados, de forma que se sugere a realização de mais estudos prospectivos e longitudinais a cerca deste tema.

**REFERÊNCIAS**

Bavcar, S, Vos, J, Kessler, M, Fornel, P, Buracco, P, Murphy, S. 2017 Combination toceranib and lomustine shows frequent high grade toxicities when used for treatment of non-resectable or recurrent mast cell tumours in dogs: A European multicentre study. *Vet J.* 224: p. 1-6.

Blackwood L, Murphy S, Buracco P, DeVos JP, De Fornel-Thibaud P, Hirschberger J, Kessler M, Pastor J, Ponce F, Savary-Bataille K, Argyle DJ. 2012. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet. Comp. Oncol.* 10(3): p. e1-e29.

Book AP, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R, Mattoon. 2011. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 52(5): p. 548-554.

Costa Casagrande TA, Barros LMO, Fukumasu H, Cogliati B, Chaible LM, Dagli MLZ, Matera JM. 2013. The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 13(1): p. 1-10.

Daleck CR, Rocha NS, Ferreira MGPA. 2016. Mastocitoma, p. 649-659. In: Daleck CR, De Nardi AB (Eds), *Oncologia em cães e gatos*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro, RJ.

Day J, Bilzer T, Mansell J, Wilcockx B, Hall EJ, Jergens A, Minami T, Willard M, Washabau R. 2008. Histopathological Standards for the Diagnoses of Gastrintestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Sample from dog and cat: A report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *J. Comp. Path.* 138(1): p. S1-S43.

Donnelly L, Mullin C, Balko J, Goldschmidt M, Krick E, Hume C, Brown DC, Sorenmo K. 2013. Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 13(1): p. 70-76.

Elta GH, Appelman HD, Behler EM, Wilson JAP, Nostrant TJ. 1987. A study of the correlation between endoscopic and histological diagnoses in gastroduodenitis. *Am. J. Gastroenterol.* 82(8): p. 749-753.

Elston LB, Sueiro FAR, Cavalcanti JN. 2009. Letter to the editor: The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. *Vet. Pathol.* 46(2): p. 362-365.

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

Fox LE, Rosenthal RC, Twedt DC, Dubielzig RR, MacEwen EG, Grauer F. 1990. Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *J. Vet. Intern. Med.* 4(5): p. 242-246.

Gerardi, DG. 2020. Dermatopatias neoplásicas. In: LARSSON, CE, Lucas, R. (Eds), Tratado de Medicina Externa: Dermatologia Veterinária. 2. Ed, Interbook, São Caetano do Sul, São Paulo p. 1077-1153.

Horta RS, Lavalle GE, Monteiro LN, Souza MCC, Cassali GD, Araújo RB. 2018. Assessment of canine mast cell tumor mortality risk based on clinical, histologic, immunohistochemical, and molecular features. *Vet. Pathol.* 55(2): p. 212-223.

Kiupel MJ, Webster JD, Bailey KL, Best S, DeLay J, Detrisac CJ, Fitzgerald SD, Gamble D, Ginn PE, Goldschmidt MH, Hendrick MJ, Howerth EW, Janovitz EB, Langohr I, Lenz SD, Lipscomb TP, Miller MA, Misdorp W, Moroff S, Mullaney TP, Neyens I, O'Toole D, Ramos-Vara J, Scase TJ, Schulman FY, Sledge D, Smedley RC, Smith K, Snyder PW, Southorn E, Stedman NL, Steficek BA, Stromberg PC, Valli VE, Weisbrode SE, Yager J, Heller J, Miller R. 2011. Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Vet. Pathol.* 48(1): p. 147-155.

Ishiguro T, Kadosawa T, Takagi S, Kim G, Ohsaki T, Bosnakovski D, Okumura M, Fuginaga T. 2003. Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. *J. Vet. Intern. Med.* 17(2): p. 194-198.

Howard EB, Sawa TR, Nielsen SW, Kenyon AJ. 1969. Mastocytoma and gastroduodenal ulceration. *Vet. Pathol.* 6(2): p. 146-158.

Jergens, AE, Schreiner CA, Frank DE, Nivo Y, Ahrens FE, Eckersall PD, Benson TJ, Evans R. 2003. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J. Vet. Intern. Med.* 17: p. 291-297.

Ledur, GR. 2015. Frequência e intensidade de lesões gastroduodenais em cães com mastocitoma cutâneo. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

London CA, Thamm DH 2013. Mast Cell Tumors, p. 335-355. In: Withrow SJ, Vail DM e Page RL (Eds), *Small Animal Clinical Oncology*. 5ª ed. St. Louis, Elsevier Saunders.

Marconato L, Polton G, Stefanello D, Morello E, Ferrari R, Henriques J, Tortorella G, Benali SL, Bergottini R, Vasconi ME, Annoni M, Sabbatini S. 2018. Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine Stage II cutaneous mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 16: p. 580-589.

Moirano SJ, Lima SF, Hume KR, Brodsky EM. 2018 Association of prognostic features and treatment on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. *Vet. Comp. Oncol.* 16: p. E194-E201.

Moore AS, Frimberger, Taylor D, Sullivan N. 2020. Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours, *Vet. Comp. Oncol.* p. 1-7.

Mullins MN, Dernell WS, Withrow SJ, Ehrhart EJ, Thamm DH, Lana SE. 2006. Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998–2004). *JAVMA*. 228(1): p. 91-95.

Natividade FS, Castro MB, Silva AS, Oliveira LB, McManus CM, Galera PD. 2014. Análise de sobrevida e fatores prognósticos de cães com mastocitoma cutâneo. *Pesq. Vet. Bras.* 34 (9): p. 874-884.

O'Keefe DA, Couto CG, Burke-Schwartz C, Jacobs RM. 1987. Systemic Mastocytosis in 16 dogs, *J. Vet. Intern. Med.* 1:75-80.

Patnaik AK, Ehler WJ, Macewen EG. 1984. Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet. Pathol.* 21(5): p. 561-564.

Pizonni S, Sabattini S, Stefanello D, Dentini A, Ferrari R, Dacastos M, Giantin M, Laganga P, Amati M, Tortorella G, Marconato L. 2018. Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study. *Vet. Comp. Oncol.* 16: p. 28-36.

Rogers KS. 1996. Mast cell tumors: Dilemmas of diagnosis and treatment. *Vet. Clin. N. Am-Small.* 26(1): p. 87-102.

Romansik EM, Reilly Cm, Kass PH, Moore PF, London CA. 2007. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 44(3): p. 335-341.

Thamm, DH, Turek, MM, Vail, DM. 2006. Outcome and Prognostic Factors Following Adjuvant Prednisone/Vinblastine Chemotherapy for High-Risk Canine Mast Cell Tumour: 61 Cases. *Intern. Med.* 68(6): p. 581–587

Van Gelderen A, Archer J, Herrtage M. 2011. Pre and post-operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumors. *Comp. Clin. Pathol.* 20(3): p. 209-215.

Webster, JD, Yuzbasiyan-Gurkan, V, Thamm, DH, Hamilton, E, Kiupel, M. Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Vet. Res.* 4(32): p.1-8.

Welle MM, Bley CR, Howard J, Rüfenacht S. 2008. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet. Dermatol.* 19(6): 321-339.