



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Clínica e cirurgia de animais de companhia

Pedro Leonardo dos Santos David Torres Leiras

Orientador: Dr^a. Margarida Fragoso Costa

Co-orientador: Dr. Hugo Vilhena

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Monografia: Mastocitoma canino

Relatório de Estágio

Évora, 2014



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Clínica e cirurgia de animais de companhia

Pedro Leonardo dos Santos David Torres Leiras

Orientador: Dr^a. Margarida Fragoso Costa

Co-orientador: Dr. Hugo Vilhena

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Monografia: Mastocitoma canino

Relatório de Estágio

Évora, 2014

Agradecimentos

Ao Dr. Hugo Vilhena, do HVBV, meu co-orientador de estágio, pela disponibilidade e paciência que sempre demonstrou durante a realização deste relatório.

À Dr^a. Margarida Fragoso Costa, Universidade de Évora, minha orientadora de estágio, pela disponibilidade e apoio durante a realização do relatório.

A toda a equipa do HVBV, incluindo o corpo clínico, enfermeiros e pessoal auxiliar, pelos conhecimentos que souberam transmitir, que me fizeram crescer como profissional e como Homem, e pela responsabilidade que agora em mim depositam.

Aos meus colegas estagiários no HVBV, pela união e amizade.

A toda a equipa do laboratório INNO em Braga e do Hospital Veterinário da Universidade do Tennessee, EUA, pois ambas as experiências foram fulcrais para o meu desenvolvimento como estudante finalista de Medicina Veterinária.

À Dr^a. Elisa Gonçalves e ao Eng. Paulo Gonçalves, pela confiança que, desde o primeiro momento, sempre depositaram em mim.

A todos os amigos que em Évora tiraram o curso comigo e tornaram aqueles cinco anos numa experiência fantástica.

À minha família, especialmente ao meu pai e à minha mãe, pelos sacrifícios e pela confiança, à minha tia Armanda e tio Orlando pela inspiração que me deram para entrar neste curso e à minha irmã pelo apoio constante.

Resumo

O estágio curricular a que se refere o presente relatório, decorreu entre os dias 1 de Setembro de 2013 e 31 de Janeiro de 2014 no Hospital Veterinário do Baixo Vouga, sob a orientação científica do Dr. Hugo Vilhena. A área clínica com maior representatividade foi a clínica médica (79% dos casos). Na clínica médica, as doenças infecto-contagiosas e parasitárias foram as mais frequentes (16%), seguidas das doenças gastrointestinais e das glândulas anexas (14%). As únicas espécies observadas foram a canina (75%) e felina (25%). O mastocitoma canino é uma das neoplasias caninas mais comuns e a mais frequente na pele, embora possa desenvolver-se em outras localizações. O diagnóstico citológico é geralmente conclusivo. O comportamento biológico do mastocitoma é muito variável e, por isso, é complicado estabelecer o prognóstico. O sucesso do tratamento é muito dependente do seu comportamento biológico.

Palavras-chave: Mastocitoma canino; c-Kit; Inibidor de tirosina quinase; Oncologia.

Abstract

Small animal medicine and surgery

This report describes the activities developed in the externship performed between September 1st, 2013 and January 31st, 2014 in the Baixo Vouga Veterinary Hospital, under the scientific supervision of Hugo Vilhena, DVM. The clinical area more represented was clinical medicine (79%). Within clinical medicine, infectious and parasitic diseases were the most common (16%), followed by the digestive system disorders (14%). The species attended were dogs (75%) and cats (25%).

Canine mast cell tumors are among the most common neoplasias of dogs, and it's the most frequent of the skin, though it can arise in other locations. Cytological diagnosis is usually conclusive. Mast cell tumors biologic behavior is very variable. Due to that, establishing a correct prognosis may be difficult, and treatment may be unrewarding.

Keywords: Canine mast cell tumor; c-Kit; Tyrosine kinase inhibitor; Oncology.

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	III
Índice de gráficos	VII
Índice de tabelas	VIII
Índice de quadros	XI
Índice de figuras	XII
Lista de abreviaturas	XV
I. Introdução	1
II. Relatório de casuística	2
1. Medicina preventiva.....	3
2. Clínica médica	6
2.1. Cardiologia.....	6
2.2. Dermatologia	8
2.3. Doenças infecto-contagiosas e parasitárias.....	9
2.4. Endocrinologia	12
2.5. Gastroenterologia e glândulas anexas	14
2.6. Neurologia	16
2.7. Pneumologia.....	17
2.8. Oftalmologia.....	18
2.9. Oncologia.....	19
2.10. Ortopedia	22
2.11. Teriogenologia e neonatologia	24
2.12. Toxicologia.....	26
2.13. Traumatologia.....	28
2.14. Urologia e nefrologia	28
3. Clínica cirúrgica.....	31
3.1. Cirurgia de tecidos moles	31
3.2. Cirurgia ortopédica	32

3.3. Outros procedimentos cirúrgicos	33
4. Exames complementares de diagnóstico	33
III. Monografia: Mastocitoma canino	36
1. Introdução.....	36
2. Fisiologia dos mastócitos	36
2.1. Produção dos mastócitos	36
2.2. Importância do recetor de tirosina quinase Kit	38
2.3. Função mastocitária	39
3. Incidência	39
4. Fatores de risco.....	40
4.1. Idade	40
4.2. Raça	40
4.3. Género	41
5. Etiologia e fisiopatologia.....	41
6. Localização.....	44
7. Sinais clínicos.....	46
8. Fatores de prognóstico.....	47
8.1. Grau histológico	48
8.2. Marcadores de proliferação celular	52
8.3. Kit.....	54
8.4. Localização	55
8.5. Estadiamento	57
8.6. Outros fatores de prognóstico	60
9. Diagnóstico	61
10. Tratamento	65
10.1. Controlo local	66
10.2. Controlo loco-regional	70
10.3. Terapia sistémica.....	71
10.4. Inibidores de tirosina quinase	74
10.5. Terapias futuras.....	78

10.6. Terapia adjuvante	78
11. Relato de caso	79
12. Discussão	86
13. Conclusão.....	90
Bibliografia.....	91

Índice de gráficos

Gráfico 1 – Distribuição por espécie animal (Fr (%))	2
Gráfico 2 - Distribuição dos casos acompanhados, por área clínica (Fr (%))	3

Índice de tabelas

Tabela 1 – Distribuição de casuística pelos procedimentos de medicina preventiva observados (Fip, Fi e Fr (%))	3
Tabela 2 – Distribuição da casuística pelas diferentes áreas da clínica médica acompanhadas (Fip, Fi e Fr (%))	6
Tabela 3 – Distribuição da casuística pelas afeções cardíacas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	7
Tabela 4 – Distribuição da casuística pelas afeções dermatológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	8
Tabela 5 – Distribuição da casuística pelas afeções infeto-contagiosas e parasitárias observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	10
Tabela 6 – Distribuição da casuística pelas afeções endocrinológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	12
Tabela 7 – Distribuição da casuística pelas afeções gastrointestinais e das glândulas anexas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	15
Tabela 8 – Distribuição da casuística pelas afeções neurológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	16
Tabela 9 – Distribuição da casuística pelas afeções respiratórias observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	17
Tabela 10 – Distribuição da casuística pelas afeções oftalmológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	18
Tabela 11 – Distribuição da casuística pelas afeções oncológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	20
Tabela 12 – Distribuição da casuística pelas afeções ortopédicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	23
Tabela 13 – Distribuição da casuística pelas afeções e casos das áreas da teriogenologia e neonatologia observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	25
Tabela 14 – Distribuição da casuística pelas afeções toxicológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	26

Tabela 15 – Distribuição da casuística pelas afeções traumatológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	28
Tabela 16 – Distribuição da casuística pelas afeções urinárias observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	29
Tabela 17 – Distribuição da casuística pelas áreas cirúrgicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	31
Tabela 18 – Distribuição da casuística pelas cirurgias de tecidos moles observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	32
Tabela 19 – Distribuição da casuística pelas cirurgias ortopédicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	32
Tabela 20 – Distribuição da casuística pelas restantes cirurgias observadas (Fip, Fi, e Fr (%))	33
Tabela 21 – Distribuição da casuística pelos exames complementares de diagnóstico imagiológicos acompanhados (Fi e Fr (%))	34
Tabela 22 – Distribuição da casuística pelos exames complementares de diagnóstico acompanhados, exceptuando os imagiológicos (Fi e Fr (%))	35
Tabela 23 – Distribuição anatómica de 121 mastocitomas cutâneos. Adaptado de Jaffe et al., 2000b	44
Tabela 24 – Distribuição anatómica de 83 mastocitomas cutâneos. Adaptado de Ginn et al., 2000	45
Tabela 25 – Distribuição dos mastocitomas cutâneos caninos por grau histológico segundo o sistema de classificação de Patnaik, em diversos estudos	49
Tabela 26 – Distribuição da taxa de sobrevivência associada a mastocitomas cutâneos de diferentes graus histológicos, segundo diversos estudos e ao fim de diferentes períodos de tempo	50
Tabela 27 – Taxa de sobrevivência ao fim de um, dois e três anos e TMS de cães com mastocitoma cutâneo de grau II consoante o valor de Ki-67. Adaptado de Scase et al., 2006	52
Tabela 28 – Distribuição dos casos de mastocitoma cutâneo canino por estadio, segundo o sistema de estadiamento da OMS. Adaptado de Jaffe et al., 2000b	58
Tabela 29 – Resposta tumoral à terapia sistémica em mastocitomas cutâneos mensuráveis .	73

Tabela 30 – Resultados do perfil bioquímico e provas de coagulação, no dia 9 de Maio de 2014, dia do diagnóstico	81
--	----

Tabela 31 – Resultados dos hemogramas realizados no dia do diagnóstico e ao longo da quimioterapia	84
--	----

Índice de quadros

Quadro 1 – Tipos de insulina comumente utilizados no cão e gato. Adaptado de Nelson, 2009	14
Quadro 2 – Estadiamento dos tumores mamários caninos. Adaptado de Sorenmo et al., 2013	21
Quadro 3 – Critérios de classificação histológica de mastocitomas cutâneos, segundo o sistema de Patnaik. Adaptado de Patnaik et al., 1984	49
Quadro 4 – Estadiamento do mastocitoma cutâneo canino, segundo a OMS. Adaptado de London & Thamm, 2013	57
Quadro 5 – Critérios citológicos para determinação da presença de metastização de mastocitomas nos linfonodos regionais. Adaptado de Krick et al., 2009	64
Quadro 6 – Critérios de determinação da resposta tumoral. Adaptado de Eisenhauer et al., 2009	66

Índice de figuras

Figura 1 – <i>Babesia canis</i> em esfregaço de sangue periférico, ampliação 1000x, coloração Diff-quick	11
Figura 2 – A) Hemorragia escleral em cão intoxicado por rodenticidas anticoagulantes. B) O olho contralateral do mesmo paciente, sem hemorragia, para comparação	27
Figura 3 – Hérnia inguinal não redutível unilateral esquerda numa cadela. O útero, com piómetra e ruturado, apresentava-se herniado	28
Figura 4 – Esquema proposto da granulopoiese. São indicados os nomes das células precursoras, a preto, dos fatores de transcrição envolvidos na diferenciação de cada tipo celular, a azul e dos locais de maturação celular. CEH: Célula estaminal hematopoiética, PMP: Precursor multipotente, PLC: Precursor linfóide, PMC: Precursor mielóide, PGM: Precursor granulocítico/monocítico, PEM: Precursor eritróide/megacariocítico, PBM: Precursor basofílico/mastocitário, PrNeu: Precursor neutrofílico, PrEos: Precursor eosinofílico, PrBas: Precursor basofílico, PrMas: Precursor mastocitário. Adaptado de Radin & Wellman 2010	37
Figura 5 – Estrutura do recetor Kit, em cima, e exons do gene c-kit respectivos, em baixo numerados, que codificam cada porção do recetor. Os exons coloridos a cinzento-escuro são aqueles em que se encontraram mutações em mastocitomas caninos, no estudo de Letard et al., 2008. Ig: Domínio tipo-munoglobulina, TM: Segmento transmembranar, JM: Domínio justamembranar, TK: Domínio tirosina quinase. Adaptado de Letard et al., 2008	38
Figura 6 – Corte histológico de um mastocitoma subcutâneo primário bem circunscrito. Note-se a ausência de invasão da derme e dos tecidos profundos. Ampliação 20x, coloração de hematoxilina e eosina. Adaptado de Thompson et al., 2011 ^a	45
Figura 7 – Mastocitoma localizado na conjuntiva bulbar dorsal de um canídeo. Adaptado de Fife et al., 2011	45
Figura 8 – Coloração imunohistoquímica de Ki-67. As células positivas coram o seu núcleo de magenta. Ampliação 400x, coloração imunohistoquímica. Adaptado de Thompson et al., 2011b	53
Figura 9 – Padrão de distribuição de Kit avaliado em cortes histológicos corados com técnica de imunohistoquímica. A positividade é identificada pela coloração castanha das estruturas celulares. A: Padrão I, com o recetor distribuído essencialmente ao longo da membrana citoplasmática. B: Padrão II, coloração focal e intensa na região perinuclear. C: Padrão III: Coloração intensa e difusa de todo o citoplasma, por vezes obscurecendo as restantes	

estruturas celulares. Ampliação 1000x, coloração imunohistoquímica e com hematoxilina. Adaptado de Webster et al., 2006	55
Figura 10 – Citologia de mastocitoma canino. Note-se a presença dos grânulos citoplasmáticos. Neste caso as células apresentam intensidade de coloração dos grânulos variável e anisocariose, sugerindo um tumor de diferenciação intermédia. Ampliação 1000x, coloração de Wright-giemsa. Adaptado de Raskin, 2010	62
Figura 11 – Citologia de mastocitoma cutâneo canino. O corante à base de água causou perda de grânulos, sugerindo um tumor pouco diferenciado. Ampliação 1000x, com magnificação, coloração do tipo Wright à base de água. Adaptado de Raskin, 2010	62
Figura 12 – Nova excisão cirúrgica, com uma margem cirúrgica de 3cm ao redor da cicatriz, após obtenção de margens histológicas incompletas aquando da excisão do mastocitoma cutâneo. Adaptado de London & Thamm 2013	68
Figura 13 – Apresentação inicial do mastocitoma cutâneo, na região digital do membro anterior esquerdo. A) Aspetto dorsal do tumor. Note-se a presença de tumefação no espaço interdigital III-IV e de lesão ulcerada, com cerca de 3,5x2,5 cm de diâmetro, na região interdigital IV-V. B) Aspetto palmar do tumor, com lesão ulcerada de cerca de 2,5x2 cm. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV	80
Figura 14 – Citologia do mastocitoma cutâneo. Note-se a elevada celularidade, granulação variável, a boa delimitação citoplasmática, anisocitose e anisocariose moderadas e a presença de células bi- e multinucleadas. Ampliação 400x, coloração Diff-quick. Fotografia gentilmente cedida pela Dr ^a Carla Marrinhas, HVBV	80
Figura 15 – Citologia do mastocitoma cutâneo, na objetiva de maior ampliação. Note-se a granulação variável, anisocitose e anisocariose moderadas, a presença de uma célula multinucleada com quatro núcleos e uma célula com cariomegália, assim como eosinófilos. Ampliação 1000x, coloração Diff-quick. Fotografia gentilmente cedida pela Dr ^a Carla Marrinhas, HVBV	81
Figura 16 – Atrofia da musculatura da região temporal. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV	83
Figura 17 – Estado do tumor ao fim de 20 dias de tratamento com prednisolona, correspondente ao estado de RP. A) Aspetto dorsal do tumor, com dimensões de 2x1 cm. B) Aspetto palmar do tumor, com dimensões de 0,6x0,8 cm. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV	84
Figura 18 – Estado do tumor ao fim de 36 dias de tratamento com prednisolona, correspondente ao dia do primeiro tratamento com vinblastina. A) Aspetto dorsal do tumor.	

Note-se a manutenção da região ulcerada e o desaparecimento da intumescência na região interdigital III-IV. B) Aspeto palmar do tumor, com cicatrização completa da úlcera cutânea. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV 85

Figura 19 – Aspeto dorsal do tumor 12 (A) e 19 (B) dias após o início da quimioterapia com vinblastina. Note-se a diminuição progressiva do diâmetro da úlcera. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV 85

Figura 20 – Resposta completa do mastocitoma ao protocolo quimioterápico, 27 dias após o início do tratamento com vinblastina. A) Aspeto dorsal. B) Aspeto palmar. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV 86

Lista de abreviaturas

AgNOR – Argirofilia das regiões organizadoras nucleolares (*Argyrophilic staining of nucleolar organizer regions*)

APLV – Aplasia pura da linha vermelha

aPTT – Tempo de tromboplastina parcial activada (*Activated partial thromboplastin time*)

ARA – Antagonistas dos recetores de angiotensina

Bpm – Batimentos por minuto

CAV-2 – Adenovírus canino tipo 2 (*Canine adenovirus-2*)

CDV – Vírus da esgana canina (*Canine distemper virus*)

CEH – Células estaminais hematopoiéticas

CGA – Campo de grande ampliação

COX-2 – Ciclooxygenase-2

CPi – Vírus da parainfluenza canina (*Canine parainfluenza virus*)

CPV-2 – Parvovírus canino tipo 2 (*Canine parvovirus-2*)

DDV – Doença degenerativa valvular

DIT – Duplicação interna em tandem

DM – Diabetes mellitus

DRC – Doença renal crónica

EPO – Eritropoietina

Fi – Frequência absoluta

Fc – Fragmento cristalizável

FC – Frequência cardíaca

FCV – Calicivírus felino (*Feline calicivirus*)

FelV – Vírus da leucemia felina (*Feline leukemia virus*)

FHV-1 – Herpesvírus felino tipo 1 (*Feline herpesvirus-1*)

Fip – Frequência absoluta repartida por espécie

FLUTD – Doença do tracto urinário inferior felino (*Feline lower urinary tract disease*)

FPV – Vírus da panleucopenia felina (*Feline panleukopenia virus*)

Fr – Frequência relativa

HVBV – Hospital Veterinário do Baixo Vouga

ICC – Insuficiência cardíaca congestiva

IECA – Inibidor da enzima conversora da angiotensina

IgE – Imunoglobulina-E

ILD – Intervalo livre de doença

IM – Índice mitótico

IPL – Irradiação profilática do linfonodo regional

IRIS – *International renal interest society*

IV – Intravenosa

MIB1 – *Mindbomb homolog 1 labeling index*

MMP-9 – Metalopeptidase de matriz 9 (*Matrix metallopeptidase 9*)

MPM – Metaloproteinase de matriz

NT-proBNP – Terminal N do pró-péptido natriurético tipo B (*N-terminal pro B type natriuretic peptide*)

OMS – Organização Mundial de saúde

OVH – Ovariohisterectomia

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PCNA – Antígeno nuclear de proliferação celular (*Proliferating cell nuclear antigen*)

PCR – Reação de polimerização em cadeia (*Polymerase chain reaction*)

PD – Polidípsia

PMC – Progenitores mielóides comuns

PMR – Período mediano de remissão

PO – Via oral (*Per os*)

PT – Tempo de protrombina (*Prothrombine time*)

PU – Poliúria

RC – Remissão completa

RLCC – Rutura do ligamento cruzado cranial

RP – Remissão parcial

SCF – Fator de célula estaminal (*Stem cell fator*)

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona

SRIS – Síndrome de resposta inflamatória sistémica

SSMP – Succinato sódico de metilprednisolona

TLD – Tempo livre de doença

TMS – Tempo mediano de sobrevivência

TQ – Tirosina quinase

uPA – Ativador de plasminogénio do tipo uroquinase (*Urokinase-type plasminogen activator*)

VGG – *WSAVA Vaccination Guidelines Group*

I. Introdução

O presente relatório de estágio refere-se às atividades desenvolvidas durante o estágio curricular, parte integrante do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O relatório encontra-se dividido em duas partes:

- A primeira parte, denominada “Relatório de casuística” consiste numa breve apresentação, revisão e tratamento estatístico dos casos e procedimentos acompanhados durante os cinco meses de estágio, de 1 de Setembro de 2013 a 31 de Janeiro de 2014, no Hospital Veterinário do Baixo Vouga, em Águeda, na área de clínica e cirurgia de animais de companhia, sob a orientação científica do Dr. Hugo Vilhena.

- A segunda parte é composta por uma monografia sobre o tema “Mastocitoma canino” e o relato de um caso acompanhado sobre o mesmo tema e respectiva discussão.

Durante o estágio tive a oportunidade de, sempre sob supervisão de médicos veterinários, participar nos processos de diagnóstico, terapêutica e discussão dos diversos serviços prestados pelo hospital, incluindo consultas externas, internamento, urgências, cirurgia e anestesia, com objectivo de cimentar competências sobre os conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

II. Relatório de casuística

A presente secção destina-se a sumarizar os casos clínicos e procedimentos médico-veterinários acompanhados durante o estágio e fazer uma breve revisão bibliográfica sobre alguns dos temas em questão.

Por motivos de organização estrutural, a casuística foi dividida em medicina preventiva, clínica médica e clínica cirúrgica e, dentro de cada uma dessas secções, as diferentes doenças e cirurgias acompanhadas também foram alvo de tratamento estatístico individual. Os métodos complementares de diagnóstico realizados ou acompanhados também são apresentados separadamente. Em cada tabela são apresentadas as frequências absolutas (Fi), frequências absolutas repartidas por espécie (Fip) e as frequências relativas (Fr (%)), primeiro das áreas clínicas em questão e, especificamente, de cada doença ou procedimento cirúrgico dentro de cada uma dessas áreas.

Analisando os dados relativos à distribuição dos animais acompanhados durante o estágio, divididos por espécie animal, conclui-se que os canídeos foram a espécie mais comum, com uma Fr de cerca de 75%, enquanto os felídeos totalizaram os restantes 25% (gráfico 1). O número total de animais, 387, não corresponde ao número de casos e procedimentos acompanhados, 433, pois o número de doenças ou procedimentos realizados num mesmo animal é muitas vezes superior a um.

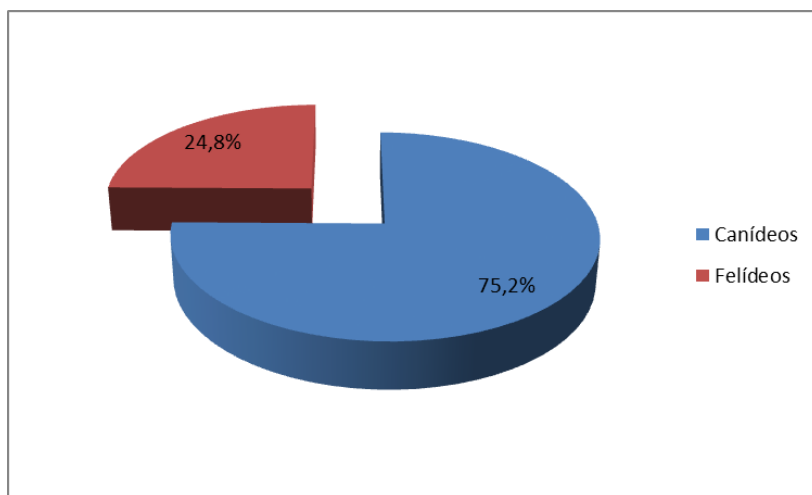


Gráfico 1. Distribuição por espécie animal (Fr (%)). n=387

A Fr de cada uma das três áreas clínicas consideradas apresenta-se no gráfico 2. Note-se que a clínica médica foi a área clínica mais acompanhada, com 79% dos casos, enquanto a medicina preventiva compõe uma fatia pequena dos casos acompanhados, uma vez que o acompanhamento de consultas, durante o estágio, ocupou menos tempo que outros serviços.

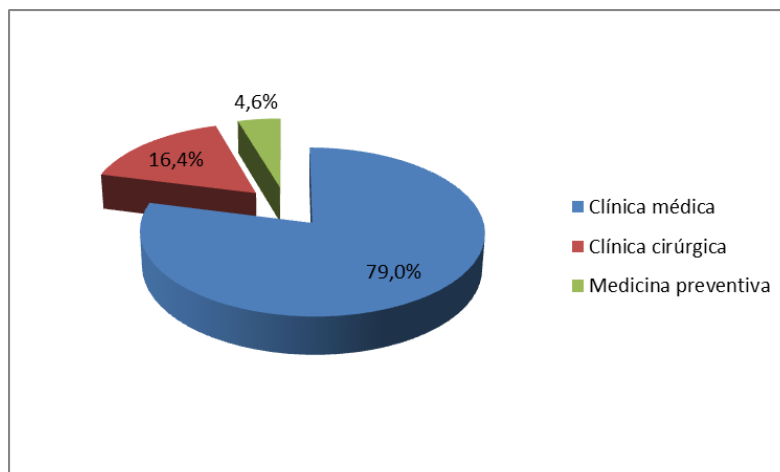


Gráfico 2. Distribuição dos casos acompanhados, por área clínica (Fr (%)). n=433

1. Medicina preventiva

As consultas de medicina preventiva incluem vacinações, desparasitações interna e externa e identificação electrónica, mas também aconselhamento nutricional, comportamental e a resposta a quaisquer dúvidas colocadas pelos proprietários, assim como a realização de um exame físico.

Pela análise da tabela 1 constata-se que, na área da medicina preventiva, o procedimento que mais vezes foi acompanhado foi a vacinação, com 50% dos procedimentos, seguido da desparasitação interna 25% e da desparasitação externa 10%.

Tabela 1. Distribuição de casuística pelos procedimentos de medicina preventiva observados (Fip, Fi e Fr (%)).

Medicina preventiva	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Vacinação	8	2	10	50,0%
Desparasitação interna	3	2	5	25,0%
Desparasitação externa	1	2	3	15,0%
Identificação eletrónica	2	0	2	10,0%
Total	14	6	20	100,0%

No HVBV o protocolo vacinal mais comumente utilizado em cães une a vacina contra *Leptospira spp.* a uma vacina tetravalente que confere imunidade contra o vírus da esgana (CDV – *Canine distemper virus*), adenovírus, parvovírus e vírus da parainfluenza (CPI – *Canine parainfluenza virus*) (um dos agentes da tosse do canil). Em cachorros são feitas duas a três

administrações intervaladas por três semanas, sendo que a última será sempre após as 12 semanas de vida, um reforço ao fim de 12 meses e reforços anuais ao longo da vida do animal.

A vacina contra o vírus da raiva era administrada anualmente, sendo que a primovacinação era feita aos seis meses de idade juntamente com a aplicação do microchip, obrigatória em todos os cães em território nacional a partir dos 3 meses de idade, tal como definido pelo decreto-lei nº 313/2003.

Em gatos, a vacinação seguia um protocolo semelhante ao dos cães, sendo a vacinação dirigida contra o vírus da panleucopénia felina (FPV – *Feline panleukopenia virus*), herpesvírus e calicivírus (FCV – *Feline calicivirus*).

Em ambas as espécies, a vacinação contra outros agentes patogénicos dependia da avaliação de exposição ao risco de cada animal ou grupo de animais em particular.

As vacinas podem ser divididas em *core* e *não-core*, consoante a sua importância na saúde global de cada espécie animal. A *WSAVA Vaccination Guidelines Group* (VGG) define vacinas *core* como aquelas que todos os cães e gatos deveriam obrigatoriamente receber, uma vez que permitem imunização contra doenças infecciosas causadoras de alta morbilidade e/ou mortalidade e que estão presentes a nível mundial. Estas incluem as vacinas caninas contra o CDV, adenovírus canino tipo 2 (CAV-2 – *Canine adenovirus-2*) e parvovírus canino tipo 2 (CPV-2 – *Canine parvovirus-2*) e as vacinas felinas contra o FPV, FCV e herpesvírus felino tipo 1 (FHV-1 – *Feline herpesvirus-1*) (Day et al., 2010). Em Portugal, devido à severidade e carácter zoonótico da raiva, esta doença é alvo de um plano nacional de vacinação nos cães, tal como definido na Portaria nº 264/2013, o que torna a vacina contra o vírus da raiva uma vacina *core* em Portugal. A sua administração é obrigatória em animais de idade superior a 3 meses e a periodicidade está dependente da duração da imunidade conferida pela vacina, a qual é indicada na sua ficha informativa, tal como definido pelo Aviso nº 7957/2013 da DGAV. As vacinas *não-core*, opcionais e consideradas não fundamentais, a nível global, pelo VGG, são aquelas necessárias em animais cuja localização geográfica, condições ambientais ou estilo de vida os colocam em risco aumentado de contrair uma doença específica (Day et al., 2010). Na nossa região, as vacinas *não-core* mais comumente utilizadas em caninos são as que promovem imunização contra *Leptospira interrogans* (serogrupos *canicola* e *icterohaemorrhagiae*), contra alguns dos principais agentes da tosse do canil (CPI e *Bordetella bronchiseptica*), *Babesia canis* e *Leishmania infantum* e em felinos a vacina contra o vírus da leucemia felina (FeLV – *Feline leukemia virus*).

A maioria dos cães e gatos jovens estão protegidos contra as doenças infecciosas presentes na sua população por anticorpos maternos durante as primeiras semanas de vida. Em geral, o título destes anticorpos diminui entre a 8ª e 12ª semana de vida. Antes deste período, a imunização activa é improvável, devido à rápida acção dos anticorpos a bloquear os

antigénios. No entanto, durante este período e principalmente depois dele, os animais tornam-se susceptíveis a infecções e desenvolvimento de doenças associadas, pelo que se recomenda que as vacinações *core* se iniciem às oito a nove semanas de vida, repetindo-se três a quatro semanas mais tarde, e uma terceira vez às 14 a 16 semanas. Em animais vacinados pela primeira vez após as 16 semanas com vacinas *core*, uma administração é considerada protectora. Em ambos os casos, é recomendado um reforço vacinal após 12 meses. As vacinas *core* vivas modificadas promovem títulos de anticorpos no soro considerados protectivos durante pelo menos três anos, pelo que após o reforço realizado 12 meses após a primovacinação, recomenda-se a administração destas vacinas apenas a cada três anos (Day et al., 2010).

Para as vacinas *core* caninas sabe-se que o título de anticorpos no soro correlaciona-se com a capacidade protectora, ao contrário das vacinas não-*core*, pelo que no futuro, espera-se que testes rápidos de detecção de anticorpos sejam usados antes da vacinação, para evitar vacinação de animais ainda protegidos (Day et al., 2010).

Os sarcomas associados ao local de injeções, em gatos, são um tema controverso e que levanta questões sobre a relação risco benefício das vacinas. É um problema relativamente raro e cujos fatores de risco ainda não são perfeitamente compreendidos, devido ao baixo número de casos reportados, o que dificulta a realização de estudos que os permitam identificar claramente (Dean et al., 2013). Um dos fatores de risco sugeridos é, no caso da vacina da raiva, o tipo de vacina utilizada, nomeadamente a utilização de vacina morta (com adjuvante), ao invés de vacina recombinante (sem adjuvante). Várias outras substâncias injectáveis já foram identificadas como potenciais causadoras deste tipo de sarcomas (Srivastav et al., 2012). Um mecanismo fisiopatológico sugerido para o desenvolvimento dos sarcomas associados ao local de injeções é a inflamação crónica devido à presença de material estranho nos tecidos associada a predisposição genética (Woodward, 2011). Assim, a VGG recomenda que, no gato, se evitem vacinas com adjuvante, e que se administrem todas as vacinas em locais que facilitem a excisão de potenciais neoplasias, tais como os membros ou a parede abdominal, que esse local fique registado na história clínica e que o aparecimento de sarcomas associado a injectáveis seja reportado à autoridade nacional de farmacovigilância (Day et al., 2010), no caso português o Sistema Nacional de Farmacovigilância Veterinária. Recentemente, a cauda foi sugerida como um local eficaz e de fácil amputação, caso necessário, para administração de vacinas em gatos (Hendricks et al., 2014).

2. Clínica médica

Dentro da clínica médica, os casos acompanhados durante o estágio com maior frequência pertencem às áreas das doenças infecto-contagiosas e parasitárias, com 16% dos casos, seguindo-se a gastroenterologia e glândulas anexas com 14% (tabela 2).

Tabela 2. Distribuição da casuística pelas diferentes áreas da clínica médica acompanhadas (Fip, Fi e Fr (%)).

Área médica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cardiologia	7	3	10	2,9%
Dermatologia	18	2	20	5,9%
Doenças infecto-contagiosas e parasitárias	38	18	56	16,4%
Endocrinologia	6	0	6	1,8%
Gastroenterologia e glândulas anexas	34	13	47	13,7%
Neurologia	13	6	19	5,6%
Pneumologia	10	3	13	3,8%
Oftalmologia	12	3	15	4,4%
Oncologia	30	2	32	9,4%
Ortopedia	32	8	40	11,7%
Teriogenologia e neonatologia	37	3	40	11,7%
Toxicologia	3	2	5	1,5%
Traumatologia	14	3	17	5,0%
Urologia e nefrologia	10	11	21	6,2%
Total	264	77	341	100,0%

2.1. Cardiologia

As doenças do sistema cardiovascular compreenderam 2,9% do total das doenças observadas (tabela 2). A doença degenerativa valvular (DDV) foi a doença cardíaca mais vezes observada em cães, com 40% do total, enquanto 30% dos casos dizem respeito a cardiomiopatia hipertrófica felina (tabela 3).

A DDV é a doença cardiovascular mais comum em cães e que mais frequentemente causa insuficiência cardíaca congestiva (ICC). O risco de desenvolver DDV aumenta com a idade e as raças pequenas são tipicamente predispostas. O Cavalier King Charles Spaniel em particular tem um risco elevado de apresentar esta afeição cardíaca e numa idade inferior à de outras raças. Qualquer uma das válvulas cardíacas pode ser afetada, embora o mais comum seja só a válvula mitral ou a mitral e tricúspide (Borgarelli & Buchanan, 2012).

Tabela 3. Distribuição da casuística pelas afeções cardíacas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Cardiologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cardiomiopatia dilatada	1	0	1	10,0%
Cardiomiopatia hipertrófica felina	0	3	3	30,0%
Doença degenerativa valvular	4	0	4	40,0%
Hemopericárdio	1	0	1	10,0%
Miocardite	1	0	1	10,0%
Total	7	3	10	100,0%

A degenerescência valvular caracteriza-se por uma desorganização dos componentes estruturais dos folhetos valvulares e pelo enfraquecimento das cordas tendinosas, levando a válvula a perder parte da sua eficiência mecânica, permitindo regurgitação atrioventricular (Richards et al., 2012).

Tipicamente a degenerescência valvular progride lentamente ao longo de anos, acompanhada de remodelação cardíaca e lesões miocárdicas (Borgarelli & Buchanan, 2012). Com a progressão para a ICC os sinais clínicos mais comuns são intolerância ao exercício, tosse durante a noite, de manhã e associada ao exercício. Um sopro holossistólico na região apical do lado esquerdo é característico da regurgitação mitral. Eventualmente a doença progride para ICC descompensada, com edema pulmonar, o qual normalmente se refere estar associado a tosse húmida (Ware, 2009). No entanto, um estudo retrospectivo recente identificou dispneia e taquipneia como sinais de edema pulmonar cardiogénico, ao contrário da tosse, que está mais associada ao aumento do tamanho do átrio esquerdo e a outras patologias respiratórias concorrentes (Ferasin et al., 2013). Causas comuns de morte súbita por ICC incluem rutura das cordas tendinosas e rutura da parede atrial esquerda (Borgarelli & Buchanan, 2012).

O diagnóstico definitivo da DDV é feito por ecocardiografia, a qual demonstra espessamento, aparência nodosa, prolapso e regurgitação através das válvulas afectadas, normalmente as atrioventriculares, e dilatação atrial e ventricular. Cordas tendinosas raturadas também podem ser identificadas (Ware, 2009).

O tratamento é dirigido ao controlo dos sinais de ICC, ao suporte da função cardíaca e à modulação dos mecanismos neuro-hormonais deletérios, tais como a activação do sistema nervoso simpático e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Os fármacos mais comumente usados incluem os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA's), pimobendan, o diurético de ansa furosemda, β -bloqueadores como o carvedilol, o antagonista dos recetores da aldosterona espironolactona e antiarrítmicos como a digoxina (Oyama, 2009;

Ware, 2013). O tratamento médico de cães assintomáticos com DDV é um tema controverso. Atualmente recomenda-se que se inicie terapia com IECA's em cães com DDV assintomáticos, mas que já apresentam sinais ecocardiográficos de remodelação cardíaca (Atkins et al., 2009), baseado em alguns estudos que sugerem que a utilização de IECA's nestes pacientes pode ser útil (Pouchelon et al., 2008), embora existam outros estudos que não apresentam resultados semelhantes (Atkins et al., 2009).

Quanto mais cedo no percurso da doença for feito o diagnóstico, melhor o prognóstico. 70% de animais assintomáticos aquando do diagnóstico ecocardiográfico continuavam vivos ao fim de 6,6 anos (Borgarelli & Buchanan, 2012). Medições ecocardiográficas, nomeadamente a relação átrio esquerdo/ base da aorta e diâmetro ventricular no fim da diástole, a avaliação radiográfica da relação entre as dimensões do coração e das vértebras e a mensuração do fragmento terminal N do pró-peptídeo natriurético tipo B (NT-proBNP – *N-terminal pro B type natriuretic peptide*) são úteis para prever se um cão com DDV vai desenvolver ICC no futuro (Reynolds et al., 2012).

2.2. Dermatologia

Tabela 4. Distribuição da casuística pelas afeções dermatológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Dermatologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Abcesso subcutâneo	3	2	5	25,0%
DAPP	4	0	4	20,0%
Dermatite atópica	2	0	2	10,0%
Histiocitose sistémica	1	0	1	5,0%
Otite externa	4	0	4	20,0%
Pioderma interdigital	1	0	1	5,0%
Pioderma superficial	2	0	2	10,0%
Reação adversa ao alimento	1	0	1	5,0%
Total	18	2	20	100,0%

A dermatologia compreendeu 5,8% do total dos casos acompanhados (tabela 2). Os abcessos subcutâneos, uma forma de pioderma profundo, foram a doença mais vezes observada, em 25% dos casos, e a única observada em gatos. Dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP) e otite externa, correspondendo cada a 20% dos casos observados foram as segundas doenças dermatológicas mais comuns (tabela 4). As otites de etiologia parasitária foram incluídas sob o capítulo 2.3. Observou-se, num cão da raça Golden retriever, um caso de histiocitose sistémica. Inicialmente o paciente apresentou-se com inúmeros nódulos cutâneos,

tendo sido feito o diagnóstico de histiocitose cutânea com o apoio de histopatologia e imunohistoquímica. Com o desenrolar da doença observou-se o envolvimento de órgãos abdominais, pelo que a doença foi reclassificada em histiocitose sistêmica. Devido ao facto de ser uma doença rara, segue-se uma breve revisão bibliográfica sobre este tema.

A histiocitose reativa faz parte de um grupo de quatro doenças proliferativas histiocíticas, que também incluem o histiocitoma cutâneo, sarcoma histiocítico e sarcoma histiocítico hemofagocítico. O termo histiócito diz respeito a células da linhagem dos macrófagos e das células dendríticas. A histiocitose reativa pode-se apresentar como histiocitose cutânea ou histiocitose sistêmica, consoante a sua localização. A histiocitose tende a aparecer em animais jovens, tendo sido reportados casos de histiocitose cutânea entre os dois e onze anos e histiocitose sistêmica entre os três e nove anos. Já o histiocitoma cutâneo diz respeito a um tumor benigno, normalmente solitário e comum em cães de idade inferior a três anos. O sarcoma histiocítico e o sarcoma histiocítico hemofagocítico são neoplasias malignas (Thamm, 2013).

A histiocitose cutânea resulta de uma proliferação difusa e benigna de histiócitos, formando nódulos, placas e crostas na pele e tecido subcutâneo. A avaliação histológica destas lesões demonstra infiltrados histiocíticos perivasculares, assim como de linfócitos tipo T, e neutrófilos, tendo características semelhantes a inflamação granulomatosa. Técnicas de imunohistoquímica permitem diferenciar esta de outras doenças histiocíticas, através da pesquisa de marcadores celulares. Entre outros, a positividade aos marcadores CD4 e Thy-1, associado à história e sinais clínicos permitem fazer o diagnóstico. A presença dos infiltrados histiocíticos em outras localizações que não a pele permite classificar a doença como histiocitose sistêmica, a qual causa sinais clínicos associados aos órgãos envolvidos (Thamm, 2013).

O tratamento da histiocitose consiste em imunossupressão com corticosteróides e terapia a longo prazo é recomendada. No entanto nem sempre ocorre remissão das lesões e as recidivas são comuns, pelo que eventualmente outros fármacos imunossupressores são necessários, tais como ciclosporina A, azatioprina ou leflunomida. O curso clínico da histiocitose é longo e com recidivas frequentes, mas raramente causa a morte do animal. No entanto, a eutanásia acaba muitas vezes por ser a opção tomada pelos proprietários (Thamm, 2013).

2.3. Doenças infecto-contagiosas e parasitárias

O grupo das doenças infecto-contagiosas e parasitárias foi o mais comumente observado durante o estágio, com 16,3% dos casos, sendo o mais frequente tanto em gatos como em cães (tabela 2). A parvovirose canina, com 19,6% dos casos foi a doença desta área mais vezes observada, seguida da babesiose, causada por *Babesia canis* (figura 1) com 8,9%

(tabela 5). O síndrome coriza, caracterizado por sinais do trato respiratório superior e causado por um ou mais agentes etiológicos infecciosos, neste caso não identificados, foi a doença infecciosa mais vezes observada em gatos.

Tabela 5. Distribuição da casuística pelas afeções infeto-contagiosas e parasitárias observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Infeto-contagiosas e parasitárias	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Ascaridiose	0	2	2	3,6%
Babesiose	5	0	5	8,9%
Calicivirose	0	2	2	3,6%
Coriza	0	4	4	7,1%
Demodecose	1	0	1	1,8%
Dirofilariose	4	0	4	7,1%
Erliquiose	4	0	4	7,1%
Leucose felina	0	3	3	5,4%
Imunodeficiência felina	0	3	3	5,4%
Giardiose	1	0	1	1,8%
Hepatite infecciosa canina	2	0	2	3,6%
Isosporose	1	0	1	1,8%
Leishmaniose	2	0	2	3,6%
Leptospirose	1	0	1	1,8%
Míases secundárias	0	1	1	1,8%
Otodecose	0	1	1	1,8%
Panleucopenia felina	0	2	2	3,6%
Parvovirose canina	11	0	11	19,6%
Rickettsiose	2	0	2	3,6%
Sarna sarcóptica	1	0	1	1,8%
Traqueobronquite infecciosa canina	3	0	3	5,4%
Total	38	18	56	100,0%

A parvovirose canina, causada pelo vírus CPV-2, é uma das doenças infecciosas mais comuns no cão, é altamente contagiosa e, sem tratamento é muitas vezes fatal. A contaminação ocorre normalmente pelo contacto com partículas virais presentes em fezes contaminadas e, dependendo da estirpe, o período de incubação pode ir de quatro a 14 dias. Os anticorpos maternos protegem contra o desenvolvimento de doença, pelo que esta é mais comum em animais a partir das seis semanas e até aos seis meses (Greene & Decaro, 2012).

As células germinativas das criptas intestinais diferenciam-se em enterócitos e migram até ao topo das vilosidades intestinais, onde têm função absorptiva. Estas células são um dos alvos principais do vírus, inibindo a renovação do epitélio intestinal, que normalmente demora de um a três dias, e causando assim destruição do epitélio. Associado à infeção dos precursores leucocitários, com consequente leucopenia e linfopenia, estão criadas as condições ideais para as complicações da

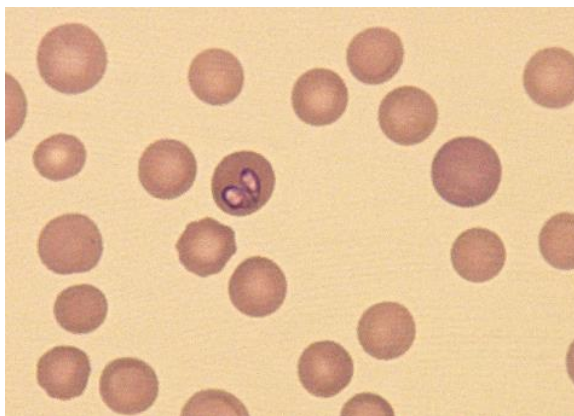


Figura 1. *Babesia canis* em esfregaço de sangue periférico, ampliação 1000x, coloração Diff-quick.

infeção viral, nomeadamente septicemia e endotoxemia (Greene & Decaro, 2012). Em animais infetados *in útero* ou antes das seis semanas de vida, é possível que se desenvolva miocardite, normalmente fatal (Greene & Decaro, 2012).

Os sinais clínicos mais associados são anorexia, depressão, diarreia hemorrágica, desidratação, palidez das mucosas, tempo de repleção capilar aumentado, febre e dor abdominal e, os achados laboratoriais mais comuns, incluem leucopenia, neutropenia, linfopenia, hipoproteïnemia, hipoalbuminemia e hiperglicemia (Iris Kalli et al., 2010). O tempo médio de hospitalização é de 5,7 dias, sendo que este período aumenta quando o cão inicialmente apresenta vômito ou depressão, ou quando ocorre linfopenia ou hipoalbuminemia (Iris Kalli et al., 2010). No estudo de Iris Kalli et al., 2010, 73,7% dos pacientes sobreviveram e o principal fator de prognóstico negativo foi a presença de síndrome de resposta inflamatória sistémica (SRIS) aquando da admissão, sendo esta definida por presença de febre ou hipotermia, leucopenia ou leucocitose e frequência cardíaca (FC) superior a 140 batimentos por minuto (bpm) (Iris Kalli et al., 2010).

O diagnóstico é geralmente presuntivo, devido à história e sinais clínicos. Estão disponíveis testes rápidos que pesquisam antígeno viral nas fezes. Estes testes, quando comparados com a pesquisa do vírus por reacção de polimerização em cadeia (PCR – *Polymerase chain reaction*), têm especificidade perto de 100% mas sensibilidade bastante reduzida, na ordem dos 18,4 a 26,3% (Schmitz et al., 2009). Animais vacinados nos oito dias anteriores podem ter resultados falsos positivos (Greene & Decaro, 2012).

O tratamento consiste em reidratação e normalização do equilíbrio electrolítico, normalmente com suplementação de glucose e potássio, antibioterapia contra bactérias *gram* negativas e anaeróbios e terapia antiemética. Dependendo dos resultados laboratoriais, transfusão de sangue, transfusão de plasma ou utilização de colóides podem ser benéficos. Outras formas terapêuticas são sugeridas, utilizando, por exemplo, interferão recombinante

felino, fator de estimulação de colônias granulocíticas recombinante humano (Greene & Decaro, 2012). Iniciar a alimentação entérica cedo no decurso da doença, mesmo que na presença de vômito, está associado a recuperações mais rápidas (Mohr et al., 2003).

A vacinação de todos os cães, a partir da oitava semana de vida com uma vacina viva modificada de CPV-2 é a melhor forma de prevenir a doença (Day et al., 2010). O CPV-2 é um dos vírus mais resistentes à destruição no meio ambiente, podendo-se manter viável meses a anos e a sua excreção continua meses após o desaparecimento dos sinais clínicos. A desinfecção de superfícies com solução de hipoclorito de sódio é umas das maneiras mais fáceis e eficazes de destruir as partículas virais no ambiente (Greene & Decaro, 2012).

2.4. Endocrinologia

As doenças de foro endócrino, incluindo as de origem iatrogénica, foram 1,7% de todas as doenças acompanhadas durante o estágio (tabela 2). Dos seis casos observados, diabetes mellitus (DM) foi a doença mais vezes observada, a par de hiperadrenocorticismismo de origem iatrogénica (tabela 6). Não foram diagnosticadas doenças endócrinas em gatos.

Tabela 6. Distribuição da casuística pelas afeções endocrinológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Endocrinologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Diabetes mellitus	2	0	2	33,3%
Hiperadrenocorticismismo adrenal	1	0	1	16,7%
Hiperadrenocorticismismo iatrogénico	2	0	2	33,3%
Hipotiroidismo	1	0	1	16,7%
Total	6	0	6	100,0%

Ambos os casos de DM observados durante o estágio já tinham evoluído para o estado de cetoacidose no momento da consulta. Um destes casos ocorreu numa cadela em diestro, em que a doença se resolveu alguns dias após a ovariectomia (OVH).

A DM no cão é causada pela perda ou disfunção das células β do pâncreas, com consequente hipoinsulinemia. Isto ocorre rápida e progressivamente e geralmente é devido a destruição imunomediada, degeneração vacuolar ou pancreatite. Insulinorresistência também está associada a DM transitória em cadelas em diestro e gestantes (Fall et al., 2010). No gato, a resistência à insulina, amiloidose e pancreatite linfoplasmocitária crónica são as causas implicadas na patogénese (Rucinsky et al., 2010). Os fatores de risco associados ao desenvolvimento de DM são, no gato, a presença de acromegália e, no cão, a presença de hiperadrenocorticismismo e a raça (Rucinsky et al., 2010). Raças predispostas são, por exemplo, o

Schnauzer, Schnauzer miniatura e Bichon frise (Nelson, 2009). Em ambas as espécies a obesidade é um fator de risco (Rucinsky et al., 2010).

O animal com DM apresenta-se sempre com hiperglicemia e glicosúria e os sinais clínicos mais comuns são poliúria (PU), polidipsia (PD), polifagia e perda de peso, sendo que por vezes o motivo da consulta é a perda de visão devido ao desenvolvimento de cataratas secundariamente à DM, no caso do cão. No entanto, se estes sinais não forem notados pelo dono, ou se este não lhes der a devida importância, o animal poderá evoluir para um estado de cetoacidose (Nelson, 2009). Embora se considere que hiperglicemia existe quando a glucose no sangue supera os 130mg/dl (Nelson, 2009), PU/PD desenvolvem-se apenas quando se ultrapassa o limiar de reabsorção tubular renal, que corresponde a cerca de 200mg/dl no cão e 250mg/dl no gato, pelo que dificilmente os animais são diagnosticados antes de apresentarem os primeiros sinais clínicos (Rucinsky et al., 2010). Embora nos cães o diagnóstico de DM seja bastante fácil e rápido, nos gatos, por desenvolverem hiperglicemia devido a stress com muita facilidade, deve ser provada a persistência desta, quer com medições de glucose seriadas, no veterinário ou em casa, quer com a medição da fructosamina (Rucinsky et al., 2010).

A DM não é normalmente uma situação isolada. Muitas vezes os pacientes apresentam doenças concomitantes que podem funcionar como fator de risco ou ser uma complicação da DM. No cão, estas doenças incluem pancreatite, hiperadrenocorticism e infecções urinárias (Hume et al., 2006). Em 184 gatos diabéticos, pelo menos 17 foram diagnosticados com acromegália, pelo que se pensa que esta doença funciona como fator predisponente ao aparecimento de DM no gato (Niessen et al., 2007). As consequências da DM no cão, incluem problemas como a hipertensão, proteinúria, cataratas, retinopatia (Herring et al., 2014; Howell et al., 2013) e cetose (Nelson, 2009). No gato, estes problemas são semelhantes aos do cão, à excepção das cataratas e hipertensão, enquanto a neuropatia periférica é mais comum (Nelson, 2009).

A gestão de um animal com DM é um processo complexo e dinâmico ao longo do tempo, que prevê a necessidade de grande compromisso e boa comunicação entre o proprietário e o veterinário. O tratamento consiste em modificação dietética e administração de insulina, assim como a remoção de fatores que causem resistência à insulina (Rucinsky et al., 2010). Os diferentes tipos de insulina mais frequentemente usados em medicina veterinária estão descritos no quadro 1. As doses de insulina recomendadas para início da terapia são 0,25UI/Kg no cão e gato, sendo que para um gato de peso médio geralmente utiliza-se 1UI/gato (Rucinsky et al., 2010). Os objectivos da terapêutica são a eliminação dos sinais clínicos com consequente melhoria de qualidade de vida. Se os sinais clínicos persistirem, voltarem ou aparecerem novos e, também, após modificações nas doses de insulina, deve-se realizar uma curva de glucose, para avaliar os níveis médios de glicemia, o nadir e o pico da

curva e a duração de acção da insulina, de modo a efectuar as adaptações necessárias (Rucinsky et al., 2010).

Quadro 1. Tipos de insulina comumente utilizados no cão e gato. Adaptado de Nelson, 2009

Insulina	Origem	Via de administração	Frequência de administração	Duração de acção no cão	Duração de acção no gato	Espécie alvo
Regular	Recombinante humana	IV IM	Infusão contínua Ou q1h	-- 4-6h	-- 4-6h	Gato, cão
NPH	Recombinante humana	SC	Q12h	8-14h	6-12	Cão
Lente	Suíno	SC	Q12h	8-14h	8-14h	Cão
PZI	90% bovino, 10% suíno	SC	Q12h	--	10-14h	Gato, cão
Glargina	Análogo de insulina	SC	Q12-24h	10-16h	10-16h	Gato

2.5. Gastroenterologia e glândulas anexas

As doenças do sistema digestivo e glândulas anexas comportaram 13,7% do total de casos da clínica médica, sendo a terceira área mais frequente em canídeos e a segunda mais frequente em felídeos (tabela 2). Ingestão de corpo estranho foi a condição mais frequente, em 17% dos casos, seguida de megacólon em 14,9% e lipidose hepática em 10,6% dos casos, sendo que esta última foi a doença desta secção mais frequente em felídeos (tabela 7). No único caso de ingestão de corpo estranho em gatos este estava alojado no esófago, enquanto em cães estavam sempre alojados no estômago ou intestino à altura do diagnóstico. O caso de hérnia perineal foi incluído neste capítulo, em parte, devido à herniação do recto.

Segundo Hayes (2009), apenas em 26% dos casos os donos sabem que o seu animal ingeriu um corpo estranho quando o levam ao médico veterinário. Os sinais clínicos mais frequentemente associados são vômito (87%) e anorexia (72%) (Hayes, 2009). As causas de vômito são muitas e por isso a abordagem diagnóstica do vômito deve contemplar a recolha de uma história pregressa e exame físico minuciosos, assim como realização de hemograma, perfil bioquímico, urianálise, coprologia e imagiologia abdominal (Tams, 2013). Se o corpo estranho não progredir através do trato digestivo, ocorre inflamação da sua parede, sobrecrecimento bacteriano, aprisionamento de fluídos no lúmen digestivo, pode ocorrer isquemia e consequentemente facilitar o acesso de bactérias e toxinas à corrente sanguínea com consequente septicemia, ou mesmo rutura e peritonite (Tams, 2013). O tratamento consiste em terapia de suporte com reposição hídrica, electrolítica e do equilíbrio ácido-base,

antieméticos sem acção pró-cinética, como por exemplo maropitant ou ondansetron, antibioterapia parenteral se se suspeita de obstrução ou perfuração, analgesia e jejum, com reposição gradual de água e posteriormente de comida, assim que a presença de vômito cesse. A realização de cirurgia para remoção do corpo estranho é muitas vezes inevitável (Tams, 2013). Em cães, o corpo estranho é encontrado em qualquer parte do trato digestivo, com predominância no jejuno (Hayes, 2009) e no estômago (Boag et al, 2005 referido por Hayes, 2009). Cerca de 90% dos cães e gatos recuperam após remoção cirúrgica do corpo estranho, sendo a principal complicação, em 5% dos casos, e causa de morte, a deiscência da sutura e consequente peritonite (Hayes, 2009). A presença de corpo estranho linear e a necessidade de múltiplas incisões na parede gastrointestinal aquando da cirurgia, são os principais fatores de prognóstico negativo Hayes, 2009).

Tabela 7. Distribuição da casuística pelas afeções gastrointestinais e das glândulas anexas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)). IBD: Doença inflamatória intestinal (*Inflammatory bowel disease*).

Gastroenterologia e glândulas anexas	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Colelitíase	1	0	1	2,1%
Dilatação volvo gástrica	3	0	3	6,4%
Fístulas perianais	1	0	1	2,1%
Gastroenterite de etiologia desconhecida	1	2	3	6,4%
Gastroenterite por indiscrição alimentar	3	0	3	6,4%
Hérnia perineal	1	0	1	2,1%
IBD	0	1	1	2,1%
Ingestão de corpo estranho	7	1	8	17,0%
Insuficiência pancreática exócrina	1	0	1	2,1%
Intussuscepção	1	0	1	2,1%
Lipidose hepática	0	5	5	10,6%
Megacólon	5	2	7	14,9%
Megaesófago	2	0	2	4,3%
Mucocelo salivar	1	0	1	2,1%
Pancreatite	2	1	3	6,4%
Rutura do tracto biliar	1	0	1	2,1%
Rutura intestinal	2	1	3	6,4%
Shunt porto-sistémico	1	0	1	2,1%
Úlcera gástrica	1	0	1	2,1%
Total	34	13	47	100,0%

2.6. Neurologia

Os casos de neurologia diagnosticados foram 5,5% do total (tabela 2). O problema neurológico mais comum foi o trauma medular, que abrange 26,3% dos casos e só aconteceu em felídeos (tabela 8). No entanto, note-se que as situações de fratura e luxação vertebral, assim como doenças dos discos intervertebrais também poderiam ser incluídas sob esta denominação; foram, portanto, incluídas sob esta denominação, apenas os traumas medulares causados por forças contusivas que não causaram lesões visíveis em radiografia simples ou por projecteis. Os casos de epilepsia, devido às dificuldades inerentes ao diagnóstico, não foram classificados relativamente à sua etiologia.

Trauma medular agudo é uma situação de urgência, causada por forças compressivas, contusivas ou lacerantes afectando a medula espinal. As causas mais comuns são a extrusão ou protusão dos discos intervertebrais, fracturas e luxações vertebrais e projecteis de armas de fogo (Ito, 2012; Platt & Olby, 2004). Após a lesão primária, ocorrem lesões bioquímicas secundárias devido a isquémia e inflamação local, o que em alguns casos pode mesmo levar ao desenvolvimento de mielomalácia ascendente e descendente (Ito, 2012).

O exame neurológico permitirá aferir o prognóstico do animal. A percepção de dor profunda é o fator de prognóstico mais importante, indicando a severidade da lesão medular (Platt & Olby, 2004). Após a determinação da localização da lesão neurológica, estudos imagiológicos são normalmente necessários para se chegar a um diagnóstico (Platt & Olby, 2004).

Tabela 8. Distribuição da casuística pelas afeções neurológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Neurologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Doença do disco intervertebral	3	1	4	21,1%
Embolismo fibrocartilaginoso	1	0	1	5,3%
Epilepsia	4	0	4	21,1%
Fratura/luxação vertebral	3	0	3	15,8%
Síndrome vestibular periférico	1	0	1	5,3%
Status epiléptico	1	0	1	5,3%
Trauma medular	0	5	5	26,3%
Total	13	6	19	100,0%

O tratamento envolve em primeiro lugar resolver outros problemas de carácter mais imediato, seguindo os protocolos de emergências, garantindo a funcionalidade respiratória e cardiovascular do organismo. A utilização de succinato sódico de metilprednisolona (SSMP) é um tema controverso. Anteriormente era recomendada a sua utilização, na dose de 30mg/Kg

intravenoso (IV), na abordagem inicial do trauma medular agudo, desde que tivessem passado menos de oito horas desde o momento do trauma (Platt & Olby, 2004). No entanto, as principais evidências da eficácia do SSMP e dos protocolos utilizados em animais parecem ser importadas da medicina humana, onde os benefícios também não são claros e, por vezes, a sua administração pode inclusive aumentar a morbilidade em pacientes com trauma medular agudo (Bracken et al., 1990; Bracken, 2012). Correntemente, na medicina veterinária, a utilização de glucocorticóides em casos de trauma medular agudo é desaconselhada, enquanto não forem publicados estudos que suportem a sua eficácia (Moore, 2014).

Associado ao tratamento médico imediato, poderá ser necessário tratamento cirúrgico de herniações discais ou para estabilização de fracturas e luxações. Se as fracturas vertebrais envolverem apenas um dos compartimentos vertebrais (ventral, médio ou dorsal), a fractura pode-se considerar estável e tratamento médico com imobilização podem ser suficientes (Platt & Olby, 2004). Gatos com lesões medulares graves podem reaprender o andamento ao fim de duas a três semanas desde que acompanhados com fisioterapia específica, nomeadamente a utilização do tapete rolante (Martinez & Rossignol, 2013).

2.7. Pneumologia

As doenças do aparelho respiratório caudal compreenderam 3,8% do total dos casos observados durante o estágio (tabela 2), sendo que broncopneumonia foi a mais frequente, em 30,8% dos casos e apenas em canídeos, seguidas de bronquite felina e colapso da traqueia, com 23,1% cada (tabela 9). Note-se que doenças respiratórias de carácter contagioso foram incluídas sob o capítulo 2.3., apesar da broncopneumonia bacteriana, aqui incluída, poder ser secundária a doenças contagiosas ou mesmo ser contagiosa ela própria, dependendo dos agentes patogénicos em causa.

Tabela 9. Distribuição da casuística pelas afeções respiratórias observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Pneumologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Broncopneumonia	4	0	4	30,8%
Bronquite felina	0	3	3	23,1%
Colapso da traqueia	3	0	3	23,1%
Contusão pulmonar	1	0	1	7,7%
Fibrose pulmonar idiopática	1	0	1	7,7%
Hipertensão pulmonar	1	0	1	7,7%
Total	10	3	13	100,0%

A pneumonia bacteriana corresponde à infeção das vias aéreas, alvéolos e interstício pulmonar. Os lobos pulmonares mais afectados são os craniais e ventrais. Em animais jovens

pode ter carácter contagioso, nomeadamente quando causada por *Bordetella bronchiseptica*, mas em animais adultos geralmente é secundária a outros problemas como por exemplo pneumonia por aspiração, doenças respiratórias que diminuem as defesas locais como a bronquite crónica, endocrinopatias, infecções virais, entre outras causas, que devem ser pesquisadas sempre que ocorra pneumonia bacteriana (Hawkins, 2007).

Os animais apresentam-se normalmente com sinais respiratórios e/ou sistémicos, como tosse produtiva, descarga nasal mucopurulenta, intolerância ao exercício, dispneia, depressão, anorexia, febre e perda de peso. À auscultação pulmonar podem-se ouvir crepitações e sibilos. Radiografia torácica demonstra padrão intersticial ou alveolar nos lobos afectados e padrão brônquico pode estar presente. Recomenda-se lavagem traqueal para cultura e teste de sensibilidade a antibióticos (Hawkins, 2007).

A terapêutica consiste em antibioterapia adequada, hidratação das vias aéreas através de fluidoterapia e nebulização, estimulação da excreção da expectoração através de exercício físico leve e *coupage* e tratamento de possíveis causas primárias subjacentes (Hawkins, 2007).

2.8. Oftalmologia

Os casos de oftalmologia foram 4,4% do total da área da clínica médica (tabela 2), sendo que as úlceras da córnea foram a doença oftalmológica mais vezes observada, em 40,0% dos casos, seguidas de uveíte anterior em 26,7% dos casos (tabela 10). Note-se que algumas das doenças aqui apresentadas dizem respeito a diagnósticos morfológicos e não etiológicos; por exemplo, uveíte anterior pode ser secundária a infeção por adenovírus canino tipo-1, correspondendo a um sinal clínico desta doença. Durante o estágio tive a oportunidade de observar vários tipos de úlceras, nomeadamente superficiais, estromais, indolentes e *melting ulcer*.

Tabela 10. Distribuição da casuística pelas afeções oftalmológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Oftalmologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Glaucoma	2	0	2	13,3%
Luxação do cristalino	1	0	1	6,7%
Protusão da glândula da 3ª pálpebra	1	0	1	6,7%
Proptose	0	1	1	6,7%
Úlcera da córnea	5	1	6	40,0%
Uveíte anterior	3	1	4	26,7%
Total	12	3	15	100,0%

A úlcera da córnea, ou queratite ulcerativa, é uma das doenças mais comuns do olho do cão e ocorre quando há perda do epitélio corneal, expondo o estroma subjacente. Os sinais clínicos são normalmente epífora, blefarospasmo, fotofobia, hiperémia conjuntival, edema corneal e possivelmente miose e opacidade do humor aquoso, associados a uveíte anterior, causada por um reflexo neurogénico, devido à estimulação de recetores nervosos na córnea. O teste da fluoresceína é utilizado na identificação de úlceras da córnea, uma vez que esta cora o estroma corneal (Ledbetter & Gilger, 2013).

As úlceras da córnea podem-se classificar segundo a sua profundidade em superficiais, estromais, descemetocelos e perfurações. Uma causa primária deve sempre ser pesquisada, como por exemplo cílios ectópicos ou queratoconjuntivite seca. Uma úlcera superficial não complicada, tratada com antibióticos e anticolinérgicos tópicos deve-se resolver em dois a seis dias. Caso contrário, a causa primária ou fatores contributivos como por exemplo infeção bacteriana devem ser avaliados, ou poder-se-á tratar de uma úlcera indolente. Úlceras profundas, envolvendo o estroma, são geralmente o resultado da evolução de uma úlcera superficial devido a infeção bacteriana secundária e, portanto, cultura e teste de sensibilidade a antibióticos são aconselhados. Se a profundidade da úlcera for superior a 50% da espessura do estroma, recomenda-se abordagem cirúrgica, no sentido de impedir o desenvolvimento de perfuração. Existem várias técnicas cirúrgicas aconselhadas, sendo que o enxerto conjuntival pediculado é o mais comum.(Ledbetter & Gilger, 2013).

O desenvolvimento de uma complicação denominada *melting ulcer* é secundário à produção de metaloproteinases de matriz (MPM), por parte das células epiteliais da córnea, fibroblastos, polimorfonucleares e alguns microorganismos. As MPM's em excesso são responsáveis pela rápida e progressiva destruição do estroma, pelo que é essencial travar o *melting ulcer* sempre que esteja presente. Entre os inibidores de MPM's mais utilizados encontram-se as tetraciclina e soro autólogo (Ledbetter & Gilger, 2013).

2.9. Oncologia

As doenças oncológicas, com 9,3% do total de casos, foram das mais comuns em canídeos (tabela 2). As neoplasias mais comuns foram os tumores das glândulas mamárias e linfoma, em 46,9% e 15,6% dos casos, respetivamente (tabela 11). A grande quantidade de tumores mamários deve-se provavelmente à falta de hábito da população local em efectuar OVH aos seus animais e à utilização frequente de hormonas sexuais para controlo do ciclo éstrico. Note-se que as neoplasias nasais correspondem a casos de adenocarcinoma, carcinoma e fibrossarcoma, enquanto as testicular e vaginal não foram diagnosticadas histopatologicamente.

Tabela 11. Distribuição da casuística pelas afeções oncológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Oncologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Carcinoma das células de transição	1	0	1	3,1%
Carcinoma intestinal	1	0	1	3,1%
Hemangiossarcoma	1	0	1	3,1%
Linfoma	4	1	5	15,6%
Mastocitoma cutâneo	2	0	2	6,3%
Neoplasia nasal	3	0	3	9,4%
Neoplasia testicular	1	0	1	3,1%
Neoplasia vaginal	1	0	1	3,1%
Osteossarcoma	1	0	1	3,1%
Sarcoma de tecidos moles	1	0	1	3,1%
Tumores mamários	14	1	15	46,9%
Total	30	2	32	100,0%

Os tumores mamários são um dos tumores mais comuns em canídeos e o mais comum em cadelas (Merlo et al., 2008). Os principais fatores de risco são a idade, com maior risco entre os nove e onze anos (Merlo et al., 2008); a raça, sendo que as raças Caniche, Chihuahua, Teckel, Yorkshire terrier, Maltês, Cocker spaniel, Setter inglês, Pastor alemão, Pointer, Doberman e Boxer, entre outras, apresentam risco elevado (Sorenmo et al., 2013); e a exposição hormonal. Cadelas esterilizadas antes do primeiro cio vêm o risco de desenvolver tumores mamários reduzido para 0,5%, antes do segundo cio para 8% e antes do terceiro para 26% (Schneider et al., 1969 referido por Sorenmo et al., 2013) e cadelas a quem são administradas hormonas sexuais exógenas também vêm o risco aumentar (Støvring et al., 1997 referido por Sorenmo et al., 2013). Condição corporal elevada durante a puberdade também está descrita como aumentando o risco (Sonnenschein et al., 1991 referido por Sorenmo et al., 2013).

Assume-se que, na cadela, cerca de 50% dos tumores mamários são malignos e, destes, 50% metastizam. Assim, antes de efectuar excisão cirúrgica, é aconselhado o estadiamento com, pelo menos, hemograma e bioquímicas séricas, radiografias torácicas em três projecções, punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dos linfonodos regionais e ecografia abdominal se se suspeitar de metastização para esta região (Sorenmo et al., 2013).

Devido à grande variedade e complexidade dos tumores mamários, a identificação de fatores de prognóstico e prognóstico associado é um trabalho difícil e que exige estudos prospectivos mais bem organizados (Matos et al., 2012). No entanto, vários estudos já

conseguiram identificar fatores de prognóstico. Segundo Sorenmo et al., 2013, os três principais fatores de prognóstico de tumores mamários em cadelas são o tamanho do tumor, envolvimento dos linfonodo regionais e o estadiamento (quadro 2). Tumores com diâmetro inferior a 3 cm apresentam melhor prognóstico, enquanto se o diâmetro é superior a 5 cm o prognóstico é significativamente pior (Sorenmo et al., 2013). Quando há envolvimento dos linfonodos, o tamanho deixa de ser importante e o prognóstico é automaticamente pior, o mesmo acontecendo quando há presença de metástases distantes. Em tumores mamários malignos em cadelas, o tamanho, padrão de crescimento expansivo ou invasivo, características histológicas como tipo de tumor e grau, metastização para os linfonodos regionais e marcadores tumorais como o ativador de plasminogénio do tipo uroquinase (uPA – *Urokinase-type plasminogen activator*), a metalopeptidase de matriz 9 (MMP-9 – *Matrix metalloproteinase 9*) e MIB1 LI (*Mindbomb homolog 1 labeling index*) foram associados a maior probabilidade de metastização e diminuição do tempo de sobrevivência e tempo livre de doença (TLD) (Santos et al., 2013).

Quadro 2. Estadiamento dos tumores mamários caninos. Adaptado de Sorenmo et al., 2013.

Estadio	Tamanho do tumor	Envolvimento dos linfonodos	Metástases distantes
I	T1 <3 cm	N0 (negativo)	M0 (sem metástases)
II	T2 3-5 cm	N0	M0
III	T3 >5 cm	N0	M0
IV	Qualquer	N1 (positivo)	M0
V	Qualquer	Qualquer	M1 (metástases)

A excisão cirúrgica é o tratamento recomendado, no entanto a agressividade da cirurgia que é necessária ainda não é consensual. Sugere-se que a cirurgia seja o menos agressiva possível, mas de modo a excisar todos os tumores com margens cirúrgicas suficientes, desde nodulectomia a mastectomia simples, mastectomia regional, mastectomia unilateral e mastectomia bilateral. Na presença de carcinoma inflamatório, a forma mais agressiva de neoplasia mamária na cadela, o benefício da excisão cirúrgica não foi demonstrado (Sorenmo et al., 2013). Quimioterapia é aconselhada quando há fatores de prognóstico negativo (Sorenmo et al., 2013), mas as evidências são escassas. Ciclofosfamida em conjunto com 5-fluorouracil demonstrou benefícios (Karayannopoulou et al., 2001 referido por Simon et al., 2006), enquanto doxorrubicina e docetaxel não mostraram resultados positivos (Simon et al., 2006). Devido à presença de níveis elevados de recetores hormonais em muitos tumores mamários, principalmente recetores de estrogénio, realizar OVH ao mesmo tempo que a excisão dos tumores é aconselhado (Sorenmo et al., 2000).

Em gatas, 85% a 95% dos tumores mamários são malignos (Sorenmo et al., 2013), pelo que normalmente são neoplasias mais agressivas que na cadela. A OVH antes dos seis meses de idade reduz o risco, quando comparado com gatas inteiras, em 91%, entre os seis e doze meses em 86% e até ao segundo ano apenas em 11% (Overley et al., 2005). Os principais fatores de prognóstico identificados foram o tamanho do tumor, com tempo mediano de sobrevivência superior a três anos quando o diâmetro é inferior a 2 cm e de apenas seis meses quando é superior a 3 cm (MacEwen et al., 1984 referido por Sorenmo et al., 2013), o grau histológico e a metastização dos linfonodo regionais (Seixas et al., 2011). Ao contrário das cadelas, recomenda-se, sempre, mastectomia em cadeia uni ou bilateral consoante a localização dos tumores (MacEwen et al. 1984 referido por Sorenmo et al. 2013). O uso de quimioterapia como adjuvante à mastectomia é aconselhado com tumores de diâmetro superior a 2 cm, mas os benefícios são duvidosos (Sorenmo et al., 2013). Associar mastectomia em cadeia a quimioterapia com doxorrubicina permitiu aumentar significativamente o tempo de sobrevivência de gatas com tumores mamários, de 414 para 1998 dias. No entanto, com outros tipos de cirurgia, menos agressivos, não foram notadas vantagens na utilização de doxorrubicina (McNeill et al., 2009). A utilização de um protocolo combinado de excisão cirúrgica dos tumores, doxorrubicina e meloxicam apresentou, em 23 casos, tempo mediano de sobrevivência (TMS) de 460 dias. Nenhum grupo controlo foi utilizado, pelo que o efeito aditivo da quimioterapia adjuvante não foi possível de determinar. Os autores referem que, comparando com controlos históricos em que apenas cirurgia ou cirurgia e quimioterapia adjuvante com doxorrubicina foram utilizados, a utilização deste protocolo não determinou extensão dos períodos de sobrevivência, pelo que a utilização do meloxicam como parte de um plano terapêutico multimodal em tumores mamários felinos, apesar de relativamente seguro, não parece, por enquanto, ser útil (Borrego et al., 2009).

2.10. Ortopedia

Os casos de ortopedia correspondem a 11,7% do total de casos acompanhados na área da patologia médica, sendo a terceira área mais comum (tabela 2). Note-se que vários pacientes apresentavam-se como politraumatizados, com mais que uma lesão ortopédica e/ou de outros órgãos e sistemas ao mesmo tempo. A rutura do ligamento cruzado cranial (RLCC), apenas em canídeos, foi a doença ortopédica mais comum, seguida de fratura pélvica e luxação medial da patela (LMP), em 15%, 12,5% e 10% dos casos, respetivamente (tabela 12). Em gatos, as fracturas foram as únicas doenças de carácter ortopédico observadas.

Tabela 12. Distribuição da casuística pelas afeções ortopédicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Ortopedia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Artrite séptica	1	0	1	2,5%
Displasia da anca	3	0	3	7,5%
Displasia do cotovelo	1	0	1	2,5%
Doença articular degenerativa	1	0	1	2,5%
Fenda palatina	0	1	1	2,5%
Fratura da mandíbula	0	1	1	2,5%
Fratura da maxila	0	1	1	2,5%
Fratura da tíbia	1	1	2	5,0%
Fratura da ulna	2	0	2	5,0%
Fratura de costela	2	1	3	7,5%
Fratura do fêmur	3	0	3	7,5%
Fratura do rádio	2	0	2	5,0%
Fratura do tarso	0	1	1	2,5%
Fratura pélvica	3	2	5	12,5%
Luxação coxofemoral	1	0	1	2,5%
Luxação do cotovelo	1	0	1	2,5%
LMP	4	0	4	10,0%
Luxação radio-ulno-carpal	1	0	1	2,5%
RLCC	6	0	6	15,0%
Total	32	8	40	100,0%

A RLCC é uma das doenças ortopédicas mais comuns, reportando-se incidências de 1,19% e 2,55% entre a população de canídeos (Adams et al., 2011; Witsberger et al., 2008). Os sinais clínicos mais relevantes são a claudicação sem apoio do membro, dor e efusão articular (Piermattei et al., 2006). O diagnóstico é feito pela demonstração do sinal de gaveta (Piermattei et al., 2006). A imagem radiográfica apresenta comumente retração da gordura infrapatelar e sinais de doença articular degenerativa, mesmo quando o quadro clínico é agudo (Fuller et al., 2014). A identificação de retração da gordura infrapatelar no joelho contralateral é um fator preditivo para o desenvolvimento de RLCC bilateral (Fuller et al., 2014).

Várias raças são predispostas, sendo que Terra nova, Rottweiler e Labrador são as que têm maior risco e o risco é maior em animais mais velhos, sendo reportadas idade superior a quatro anos ou uma média de oito anos (Adams et al., 2011; Witsberger et al., 2008). A predisposição sexual não é clara, pois diferentes estudos identificam diferentes fatores de risco; em um estudo machos castrados e fêmeas esterilizadas são associados ao risco

aumentado de desenvolver RLCC (Witsberger et al., 2008), enquanto noutro fêmeas são identificadas, mas sem que o seu estado reprodutivo seja significativo na determinação do risco (Adams et al., 2011). Cães de grande porte parecem ter alguma predisposição para desenvolver a doença bastante cedo, muitas vezes mesmo antes de um ano de idade (Harasen, 2008). A ocorrência da RLCC parece ser secundária a alterações degenerativas na articulação femoro-tibio-patelar com o envelhecimento mas, em cães de raças grandes parece haver também uma componente genética que predispõe para a doença em idades jovens (Harasen, 2008; Baird et al., 2014). Outros fatores de risco importante são o ângulo do *plateau* tibial (Fuller et al., 2014) e a obesidade (Adams et al., 2011). Em muitos casos ocorre lesão do menisco medial do joelho afectado, rutura do ligamento também no membro contralateral e em 16% dos casos a RLCC é apenas parcial (Harasen, 2008).

O tratamento médico, com fisioterapia, anti-inflamatórios não esteróides e perda de peso é uma possibilidade válida, mas o tratamento cirúrgico garante melhores resultados (Wucherer et al., 2013). As técnicas cirúrgicas extra-capsulares são geralmente preferidas às intraarticulares, como por exemplo a técnica modificada de imbricação do retináculo e a osteotomia de nivelamento do *plateau* tibial. O objectivo é estabilizar a articulação e diminuir o desenvolvimento de alterações degenerativas, associadas à instabilidade e à presença de estruturas articulares lesionadas, tais como o ligamento em questão e o menisco medial (Piermattei et al., 2006). As complicações mais vezes reportadas no período pós-cirúrgico são claudicação permanente e infeção no local da incisão (Harasen, 2008; Frey et al., 2010).

2.11. Teriogenologia e neonatologia

Neste capítulo incluem-se todos os casos relacionados com o sistema reprodutor e neonatologia, à exceção das neoplasias. Esta área foi a terceira mais frequente, a par da ortopedia, correspondendo a 11,7% do total de casos, sendo também a segunda área mais comum em canídeos (tabela 2). Com 30% do total de casos, as piómetras e os cuidados neonatais foram os casos mais frequentes dentro desta área (tabela 13).

Piómetra é a acumulação de pus no lúmen uterino. Ocorre em fêmeas intactas durante, ou imediatamente após um período de predomínio de progesterona, normalmente durante as 12 semanas que sucedem ao estro. Cadelas nulíparas, que já passaram por vários ciclos éstricos e a quem foram administradas hormonas sexuais apresentam risco acrescido (Pretzer, 2008; Hagman, 2012). Um estudo na Suécia reportou cerca de 24% de risco de uma cadela desenvolver piómetra antes dos 10 anos de idade (Egenvall et al., 2001).

Tabela 13. Distribuição da casuística pelas afeções e casos das áreas da teriogenologia e neonatologia observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Teriogenologia e neonatologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Controlo de ciclo éstrico	6	0	6	15,0%
Cuidados neonatais	9	3	12	30,0%
Diagnóstico de gestação	4	0	4	10,0%
Distócia	1	0	1	2,5%
Estenose vestibulovaginal	1	0	1	2,5%
Fenda palatina congénita	1	0	1	2,5%
Interrupção de gestação	2	0	2	5,0%
Mastite	1	0	1	2,5%
Piómetra	12	0	12	30,0%
Total	37	3	40	100,0%

A piómetra é muitas vezes descrita como sendo uma consequência da hiperplasia endometrial quística, que se desenvolve após estimulação repetida do endométrio, por progesterona, durante a fase lútea do ciclo éstrico, mas as duas condições podem-se desenvolver independentemente uma da outra. A progesterona actua no endométrio promovendo o seu desenvolvimento e aumentando as secreções glandulares, diminui a contractilidade do miométrio, promove a contracção do cérvix e diminui a imunidade celular. Sabe-se que a fase de domínio de estrogénio, durante o pro-estro e início do estro, também tem importância na patogénese. Todas estas situações tornam favorável a colonização bacteriana por via ascendente, comumente por *Escherichia coli* e consequente desenvolvimento de piómetra (Pretzer, 2008; Hagman, 2012).

Os sinais clínicos podem incluir descarga vaginal sanguinolenta a mucopurulenta, letargia, anorexia, PU/PD, vômito, diarreia, distensão e dor abdominal, taquicardia, taquipneia, febre ou hipotermia e mucosas de cor alterada. Se a piómetra for fechada, não há descarga vaginal e a cadela apresenta-se normalmente em estado mais grave, desidratada e com sinais de choque endotóxico, septicemia e SRIS. As alterações laboratoriais mais comuns são leucocitose com neutrofilia com desvio à esquerda, anemia, azotemia, hipoalbuminemia, hipergamaglobulinemia, elevações na fosfatase alcalina (FAS), bilirrubina, colesterol e acidose metabólica. A densidade urinária pode estar elevada devido a desidratação ou diminuída devido ao efeito das endotoxinas nos tubos renais, inibindo a concentração urinária. Associado aos sinais clínicos e achados laboratoriais, que permitem a diferenciação de hematómetra, mucómetra e hidrómetra, o diagnóstico de piómetra faz-se por ecografia, identificando um útero

de tamanho aumentado e com conteúdo luminal hipoecogénico ou anecogénico (Pretzer, 2008; Hagman, 2012).

O tratamento ideal da piómetra é cirúrgico, nomeadamente OVH após estabilização do paciente e início de antibioterapia, mas tratamento médico pode ser aplicado se a reprodução for um objectivo (Hagman, 2012). Os protocolos de tratamento médico geralmente incluem uma combinação de prostaglandinas como a prostaglandina-F2 α ou cloprostenol, agonistas da dopamina como a cabergolina e/ou antagonistas dos recetores de progesterona como a aglepristona. Com tratamento médico a recorrência é elevada e a manutenção da fertilidade não é garantida (Johnson, 2009).

2.12. Toxicologia

As intoxicações correspondem a 1,5% total de casos (tabela 2), sendo que a intoxicação por rodenticidas anticoagulantes foi o caso mais comum, em 60% das ocasiões (tabela 14).

Tabela 14. Distribuição da casuística pelas afeções toxicológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Toxicologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Metaldeído	0	1	1	20,0%
Permetrina	0	1	1	20,0%
Rodenticidas	3	0	3	60,0%
Total	3	2	5	100,0%

As intoxicações em pequenos animais apresentam-se muitas vezes com carácter agudo. Em muitos casos o proprietário desconhece se o seu animal ingeriu algum tóxico, sabendo-se apenas que não esteve sob supervisão durante algum tempo, tendo pouco tempo depois desenvolvido sinais clínicos de forma aguda. Neste caso, o diagnóstico pode ser desafiante, sendo que existem inúmeros produtos tóxicos distintos, que podem causar sinais clínicos relacionados com uma grande variedade de órgãos e sistemas, desde o sistema nervoso central, fígado, rins, aparelho digestivo, entre outros (Poppenga, 2007).

A abordagem geral ao paciente intoxicado inclui a estabilização das funções vitais utilizando o protocolo geral de urgências; diminuir a absorção do tóxico através de indução de vômito ou lavagem gástrica, administração oral de um adsorvente como o carvão activado e de um laxante catártico e lavagem cutânea se for o caso; administração de antídotos específicos para o tóxico em questão; tratamento sintomático e de suporte; estimular eliminação através da diurese; monitorização do paciente. Cada passo e a sua ordem deverão ser adaptados ao caso clínico em questão (Poppenga, 2007).

A intoxicação por rodenticidas anticoagulantes é muito comum em pequenos animais. São geralmente derivados da cumarina ou da indandiona, divididos entre os de primeira geração e os de segunda geração, sendo estes últimos mais comuns, mais potentes e de duração de acção mais longa. O mecanismo de acção destes tóxicos é a inibição da enzima epoxide-reductase, necessária para a redução e consequente activação, a nível hepático, da vitamina K, que por sua vez é essencial à activação dos fatores de coagulação II, VII, IX e X. O resultado é uma coagulopatia, por deficiência de fatores de coagulação, com início geralmente um a três dias após a ingestão do tóxico (Waddell et al., 2013).

Os sinais clínicos mais comuns são a letargia, colapso, anorexia, vômito, dispneia e tosse, hemorragias (figura 4) e, muitas vezes, os donos desconhecem que o seu animal teve contacto com rodenticidas. Taquicardia, taquipneia, anemia e hipoproteïnemia são achados clínicos muitas vezes presentes. As provas de coagulação tempo de protrombina (PT - *Prothrombine time*) e tempo da tromboplastina parcial activada (aPTT - *Activated partial thromboplastin time*) estão tipicamente aumentadas e são úteis para o diagnóstico e monitorização. O PT é o primeiro a ficar afectado e com maior severidade, devido ao menor tempo de semi-vida do fator VII, intrinsecamente ligado a este teste. Com tratamento adequado e atempado, o prognóstico é excelente (Waddell et al., 2013).

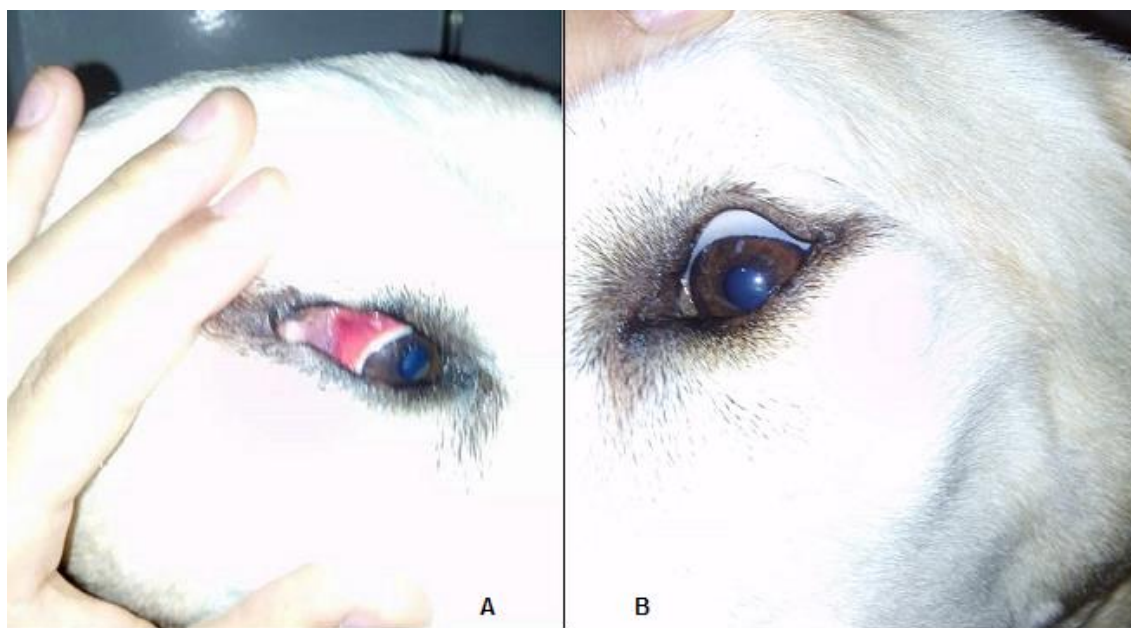


Figura 2. A) Hemorragia escleral em cão intoxicado por rodenticidas anticoagulantes. B) O olho contralateral do mesmo paciente, sem hemorragia, para comparação.

O antídoto para os rodenticidas anticoagulantes é a vitamina K1, sendo a dose e duração de tratamento dependentes da intoxicação com um rodenticida de primeira ou segunda geração. Na dúvida, deve-se assumir que se trata de um rodenticida de segunda

geração e administrar 2,5 a 5,0mg/Kg via oral (PO) por dia, durante duas a seis semanas (Poppenga, 2007).

2.13. Traumatologia

Neste capítulo incluem-se as doenças de origem traumática ou outras que, por motivos de organização estrutural deste relatório, se entendeu que não se enquadravam em nenhum dos outros capítulos. Comportam 5% do total de casos (tabela 2), sendo que lacerações e feridas traumáticas, normalmente apresentadas sob carácter de urgência, foram a condição mais frequente dentro deste grupo, com 52,9% dos casos (tabela 15).

Tabela 15. Distribuição da casuística pelas afeções traumatológicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Outras doenças	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Hérnia abdominal externa	1	2	3	17,6%
Hérnia inguinal não redutível	1	0	1	5,9%
Lacerações/ feridas traumáticas	8	1	9	52,9%
Otohematoma	2	0	2	11,8%
Perfuração abdominal	1	0	1	5,9%
Torção de baço	1	0	1	5,9%
Total	14	3	17	100,0%



Figura 3. Hérnia inguinal não redutível unilateral esquerda numa cadela. O útero, com piómetra e ruturado, apresentava-se herniado.

2.14. Urologia e nefrologia

Os casos de urologia e nefrologia correspondem a 6,1% do total, sendo a terceira área mais frequente em felídeos (tabela 2). A doença mais comum desta área foi a doença renal crónica (DRC), em 40% dos casos, com distribuição igual em cães e gatos, seguida das

doenças do tracto urinário inferior felino (FLUTD – *Feline lower urinary tract disease*) e infeção do trato urinário, em 30% e 20% dos casos, respetivamente (tabela 16).

Tabela 16. Distribuição da casuística pelas afeções urinárias observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Urologia e nefrologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
DRC	4	4	8	40,0%
FLUTD	0	6	6	30,0%
Infeção do trato urinário	3	1	4	20,0%
Insuficiência renal aguda	1	0	1	5,0%
Urolitíase	1	0	1	5,0%
Total	9	11	20	100,0%

A DRC é bastante prevalente em cães e gatos, principalmente nos geriátricos, com relatos da presença da doença em 7,6 e 9,6% dos gatos e 5,8% dos cães (Bartlett et al., 2010). A DRC refere-se à perda de nefrónios, a unidade funcional do rim, secundária a um processo patológico de carácter prolongado e normalmente progressivo no tempo. A falência renal ocorre quando cerca de 75% das unidades funcionais do rim se perdem, permitindo a persistência de alterações tais como azotemia e incapacidade renal de concentrar urina (Grauer, 2009).

No cão a principal causa de DRC é a doença glomerular, seja ela de carácter hereditário ou adquirida secundária a neoplasias, doenças infecciosas, doenças inflamatórias não-infecciosas ou idiopática (Vaden, 2011). Em gatos, doenças tubulointersticiais, muitas vezes de etiologia desconhecida, são a principal causa de DRC, embora a doença do rim poliquístico, de carácter hereditário, também seja comum (Palacio, 2013).

É recomendado o estadiamento de todos os pacientes com DRC seguindo os critérios da *International renal interest society* (IRIS), de modo a uniformizar as recomendações terapêuticas e de monitorização, assim como o prognóstico. Existem quatro estágios segundo a concentração plasmática de creatinina, e ainda sub-estádios consoante o grau de proteinúria e de hipertensão (IRIS, 2013a).

A excreção renal de fósforo é fortemente afetada pela diminuição da taxa de filtração glomerular. Inicialmente no curso da DRC, existem mecanismos compensatórios, mas eventualmente estes tornam-se insuficientes e desenvolve-se hiperfosfatemia, inibição da produção de calcitriol e hiperparatiroidismo secundário renal. Esta situação está associada a diminuição do tempo de sobrevivência, aceleração da progressão da DRC e aumento da morbilidade, com mineralização de tecidos moles e reabsorção óssea (Geddes et al., 2013).

Manter os níveis de fósforo normais é um dos principais objectivos da terapia da DRC. Para isso recomenda-se uma dieta renal baixa em fósforo e, se quatro a oito semanas depois do início da dieta os níveis de fósforo ainda estiverem elevados, aconselha-se a utilização de quelantes do fósforo, normalmente à base de alumínio; a administração de calcitriol também está recomendada (Polzin, 2013).

Desidratação, acidose metabólica e hipocalémia devem ser corrigidas sempre que presentes, assim como qualquer complicação da urémia, como vômito, úlceras gastrointestinais ou diarreia. Uma dieta renal equilibrada é uma das recomendações primárias do tratamento da DRC (Polzin, 2013).

Anemia não regenerativa em animais com DRC ocorre principalmente devido a défice de produção renal de eritropoietina (EPO). A administração de EPO recombinante humana e de darbepoietina alfa (um análogo da EPO recombinante humana) estimula a eritropoiese, mas muitas vezes estas substâncias causam efeitos adversos, sendo o mais grave a aplasia pura da linha vermelha (APLV), o que parece ser menos frequente quando se utiliza a darbepoietina (Polzin, 2013). A utilização de EPO recombinante canina mostrou resultados excelentes, em cães, sem causar APLV (Randolph et al., 2004), enquanto a EPO recombinante felina, apesar de também estimular a eritropoiese em gatos, não diminui o risco de desenvolvimento de APLV relativamente às outras formas já referidas de EPO (Randolph et al., 2004).

A proteinúria, quantificada pelo rácio proteína/creatinina, não é tão comum em gatos como em cães (Vaden, 2011). A sua presença acelera a progressão da doença renal, entre outros efeitos, pelo que se recomenda uma dieta baixa em proteína e administração de IECA's, como o enalapril ou benazepril, de modo a diminuir a perda renal de proteína (Polzin, 2013). No entanto, os IECA's não conseguem inibir completamente o SRAA, devido à presença de mecanismos compensatórios que permitem a ativação da angiotensina II. Assim, nos casos em que a proteinúria não responde apenas aos IECA's, podem-se utilizar fármacos capazes de inibir o SRAA noutros pontos da via. Os mais comuns são os inibidores do recetor de angiotensina (ARA), como o losartan e telmisartan. A utilização conjunta de IECA's e ARA's tem, teoricamente, efeitos sinérgicos com controlo da ativação deletéria do SRAA (Vaden, 2009).

A hipertensão promove lesões a nível dos rins, sistema nervoso, olhos e coração, pelo que deve ser tratada sempre que presente persistentemente e como recomendado segundo o estadiamento IRIS (IRIS, 2013b, 2013c). Recomenda-se a utilização de IECA's e/ou amlodipina no tratamento da hipertensão (Polzin, 2013).

A DRC tem um carácter inevitavelmente progressivo, sendo o objectivo do veterinário o atraso dessa progressão e garantir ao animal a melhor qualidade de vida possível. O

prognóstico é pior no estágio três e quatro IRIS, sendo a progressão mais rápida no cão que no gato (Polzin, 2013).

3. Clínica cirúrgica

Os casos de patologia cirúrgica acompanhados foram apenas 16% de todos os casos observados durante o estágio (gráfico 2). Todas as cirurgias acompanhadas durante o estágio foram-no na qualidade de ajudante de cirurgião/ instrumentista, anestesiista ou circulante. As cirurgias foram divididas em cirurgias de tecidos moles, ortopédicas e outros procedimentos. As cirurgias de tecidos moles foram de longe as mais frequentes, correspondendo a 81,7% do total de 71 cirurgias acompanhadas (tabela 17).

Tabela 17. Distribuição da casuística pelas áreas cirúrgicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Área cirúrgica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cirurgia de tecidos moles	42	16	58	81,7%
Cirurgia ortopédica	5	2	7	9,9%
Outros procedimentos cirúrgicos	2	4	6	8,5%
Total	49	22	71	100,0%

3.1. Cirurgia de tecidos moles

As cirurgias de tecidos moles mais comuns foram a OVH, com 37,9% do total destas 58 cirurgias, seguida de orquiectomia e mastectomia, com 12,1% do total, cada uma (tabela 18).

Tabela 18. Distribuição da casuística pelas cirurgias de tecidos moles observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Cirurgia de tecidos moles	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Adrenalectomia	1	0	1	1,7%
Anastomose intestinal	0	1	1	1,7%
Cesareana	2	0	2	3,4%
Colecistotomia	1	0	1	1,7%
Correção de otohematoma	1	0	1	1,7%
Esplenectomia	1	0	1	1,7%
Herniorrafia abdominal	0	2	2	3,4%
Herniorrafia inguinal	1	0	1	1,7%
Herniorrafia umbilical	1	0	1	1,7%
Laparotomia exploratória	2	1	3	5,2%
Mastectomia	7	0	7	12,1%
Nodulectomia	5	0	5	8,6%
Orquiectomia	1	6	7	12,1%
OVH	17	5	22	37,9%
Reconstrução cutânea	1	1	2	3,4%
Toracotomia	1	0	1	1,7%
Total	42	16	58	100,0%

3.2. Cirurgia ortopédica

Durante o estágio apenas acompanhei 7 cirurgias ortopédicas, o que corresponde a 9,9% do total de cirurgias (tabela 19), sendo que a mais comum, com 42,9% do total, foi a técnica extracapsular de correção da RLCC (tabela 21).

Tabela 19. Distribuição da casuística pelas cirurgias ortopédicas observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Cirurgia ortopédica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Amputação de cauda	0	1	1	14,3%
Artrotomia	1	0	1	14,3%
Osteossíntese do tarso	0	1	1	14,3%
Osteossíntese pélvica	1	0	1	14,3%
Técnica extracapsular de correção de RLCC	3	0	3	42,9%
Total	5	2	7	100,0%

3.3. Outros procedimentos cirúrgicos

Neste capítulo, que corresponde a 8,5% dos procedimentos cirúrgico (tabela 19), incluem-se as cirurgias oftalmológicas, a destartarização e a colocação de dreno peritoneal (tabela 20).

Tabela 20. Distribuição da casuística pelas restantes cirurgias observadas (Fip, Fi, e Fr (%)).

Outros procedimentos cirúrgicos	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cantotomia	0	1	1	16,7%
Colocação de dreno peritoneal	0	1	1	16,7%
Destartarização	1	0	1	16,7%
Enucleação	0	1	1	16,7%
Imbricação da glândula da 3ª pálpebra	1	0	1	16,7%
Tarsorrafia	0	1	1	16,7%
Total	2	4	6	100,0%

4. Exames complementares de diagnóstico

Neste capítulo encontram-se descritos os exames complementares de diagnósticos acompanhados durante o estágio. Analisando apenas os exames imagiológicos, verifica-se que ecografia e radiografia abdominal foram os exames mais vezes acompanhados, com 48% e 17,6% do total de 102 exames imagiológicos (tabela 21). Tive a oportunidade de desenvolver técnicas necessárias à realização destes exames e a fazer a sua interpretação e integração no caso clínico em questão.

Tabela 21. Distribuição da casuística pelos exames complementares de diagnóstico imagiológicos acompanhados (Fi e Fr (%)).

Imagiologia		Fi	Fr (%)
Radiografia	Abdominal	18	17,6%
	Aparelho apendicular	7	6,9%
	Coluna vertebral	5	4,9%
	Mielografia	1	1,0%
	Torácica	14	13,7%
Ecografia	Abdominal	49	48,0%
	Ecocardiografia	3	2,9%
Tomografia axial computadorizada		1	1,0%
Endoscopia	Rinoscopia	2	2,0%
	Digestiva alta	1	1,0%
	Artroscopia	1	1,0%
Total		102	100,0%

Na tabela 22 apresentam-se outros exames complementares de diagnóstico realizados no HVBV e apenas aqueles em cuja realização participei activamente. No total foram 142 procedimentos, com as provas analíticas sanguíneas, nomeadamente hemograma e bioquímicas plasmáticas, esfregaço de sangue e urianálise tipo II a serem os testes mais comuns, com 23,2%, 21,8% e 14,8%, respetivamente.

Tabela 22. Distribuição da casuística pelos exames complementares de diagnóstico acompanhados, excluindo os exames de diagnóstico por imagem (Fi e Fr (%)).

Exames complementares de diagnóstico	Fi	Fr (%)
Analíticas sanguíneas	33	23,2%
Citologia auricular	3	2,1%
Citologia de massas e lesões	8	5,6%
Citologia de medula óssea	1	0,7%
Citologia vaginal	9	6,3%
Eletrocardiograma	3	2,1%
Esfregaço de sangue	31	21,8%
Estudo de efusão	8	5,6%
Flutuação fecal – pesquisa de parasitas	2	1,4%
Gota fresca – pesquisa de microfilárias	1	0,7%
Medição de PA por oscilometria	12	8,5%
Provas de coagulação	2	1,4%
Raspagem cutânea	3	2,1%
Técnica da fita-cola	2	1,4%
Teste da fluoresceína	1	0,7%
Teste de estimulação com ACTH	1	0,7%
Teste lacrimal de Schirmer	1	0,7%
Urianálise tipo II	21	14,8%
Total	142	100,0%

III. Monografia: Mastocitoma canino

1. Introdução

O mastocitoma cutâneo é um dos tumores cutâneos mais comuns no cão, correspondendo a 7% a 21% dos tumores cutâneos, o que o torna a neoplasia maligna cutânea mais comum nesta espécie (Dobson et al., 2002; Brønden et al., 2010; Villamil et al., 2011). Pode apresentar-se como um tumor solitário ou como tumores múltiplos. Além da pele, o mastocitoma pode-se desenvolver em outras localizações, como em órgãos abdominais e mucosas oral, conjuntiva ou genital. O diagnóstico é geralmente estabelecido através da identificação de mastócitos em citologia obtida através de PAAF. O comportamento biológico dos mastocitomas é muito variável, desde tumores benignos a tumores de rápida e agressiva metastização sistêmica. Não existe correntemente nenhum indicador de prognóstico que permita prever exactamente o comportamento biológico da neoplasia. Atualmente, a classificação histopatológica dos mastocitomas é o fator de prognóstico mais usado e fidedigno mas, ainda assim, apresenta muitas falhas. O tratamento consiste no controlo local do tumor e utilização de terapia adjuvante sempre que a presença, ou avaliação do risco de recorrência local ou distante, o indique. Ainda se procuram protocolos quimioterápicos de eficácia elevada em mastocitomas agressivos e, é neste sentido, que nos últimos anos se têm desenvolvido estudos sobre a utilização de inibidores de tirosina quinase no tratamento do mastocitoma canino (London et al., 2003; Hahn et al., 2008; London et al., 2009; Hahn et al., 2010; Robat et al., 2012).

Esta monografia aborda as bases da fisiologia dos mastócitos, características epidemiológicas do mastocitoma canino e seu comportamento biológico, diagnóstico, prognóstico e as várias abordagens terapêuticas reportadas à data.

2. Fisiologia dos mastócitos

2.1. Produção dos mastócitos

Nos mamíferos adultos, células estaminais hematopoiéticas (CEH) presentes na medula óssea diferenciam-se dando origem a todas as células hematopoiéticas, incluindo os mastócitos (Car, 2010).

Os mecanismos pelos quais as CEH e os restantes precursores hematopoiéticos proliferam e se diferenciam devem-se a uma intensa comunicação celular com fatores de crescimento produzidos por outras células do microambiente medular, com outros fatores sistêmicos que chegam à medula óssea através do sangue e interacção com a matriz extracelular (Radin & Wellman, 2010). Estes complexos mecanismos de regulação da hematopoiese

alteram a expressão de fatores de transcrição responsáveis por regular a expressão genética nos precursores hematopoiéticos, permitindo a expressão de diferentes recetores de membrana, com sensibilidades diferentes às várias citocinas reguladoras e consequente diferenciação em várias linhas celulares (figura 6) (Radin & Wellman, 2010).

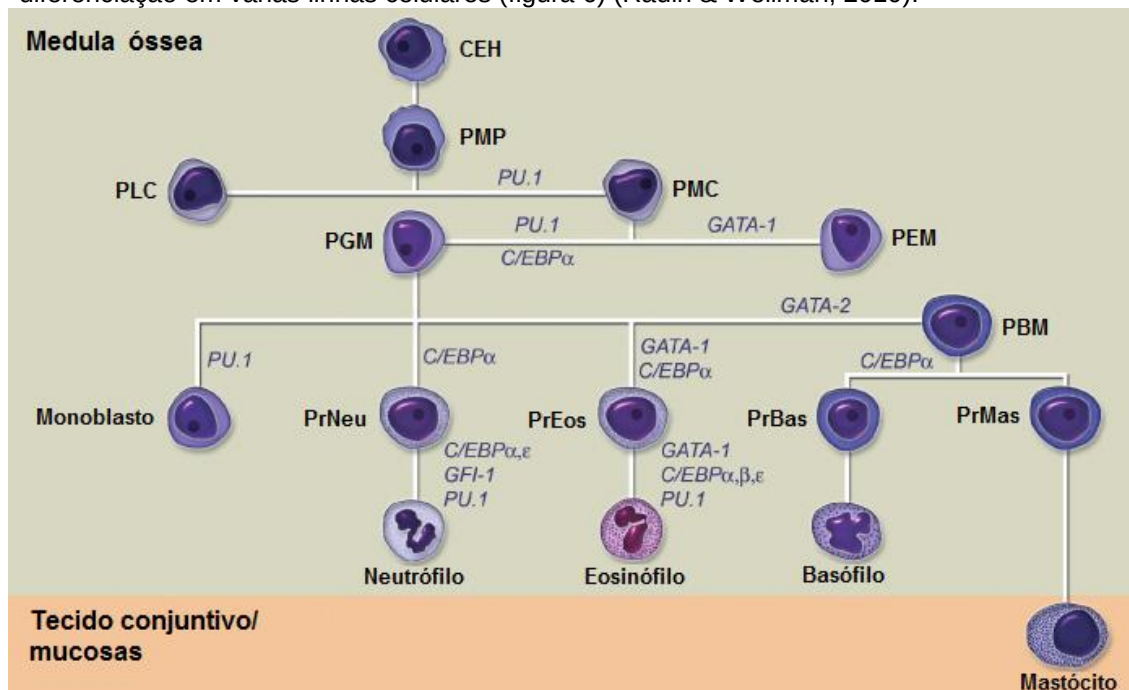


Figura 4. Esquema proposto da granulopoiese. São indicados os nomes das células precursoras, a preto, dos fatores de transcrição envolvidos na diferenciação de cada tipo celular, a azul e dos locais de maturação celular. CEH: Célula estaminal hematopoiética, PMP: Precursor multipotente, PLC: Precursor linfóide, PMC: Precursor mielóide, PGM: Precursor granulocítico/monocítico, PEM: Precursor eritróide/megacariocítico, PBM: Precursor basofílico/mastocitário, PrNeu: Precursor neutrofílico, PrEos: Precursor eosinofílico, PrBas: Precursor basofílico, PrMas: Precursor mastocitário. Adaptado de Radin & Wellman 2010.

De um modo geral, segundo proposto por Radin & Wellman, 2010 (figura 6), as CEH diferenciam-se em precursores multipotentes CD34+ e estes diferenciam-se em uma de duas linhagens, a dos precursores linfóides ou dos precursores mielóides. Estes últimos dão origem a várias linhagens, nomeadamente a dos precursores eritróides/megacariocíticos, precursores granulocíticos/monocíticos e ainda aos precursores de macrófagos/células dendríticas. Para se originar um mastócito, os precursores granulocíticos/monocíticos diferenciam-se em precursores basofílicos/mastocitários. Nestas células, a regulação positiva do fator de transcrição C/EBP-ε leva à formação de precursores basofílicos e a sua inibição traduz-se na diferenciação em precursores mastocitários. Os precursores mastocitários, ainda sem os característicos grânulos plasmocitários metacromáticos, entram em circulação e completam a sua diferenciação em localizações distantes da medula óssea, nomeadamente tecido conjuntivo e mucosas, em locais como o tracto gastrointestinal, pele, pulmão e coração. No entanto, o processo descrito de diferenciação mastocitária é provavelmente uma versão muito simplificada daquilo que acontece na realidade, uma vez que o processo real deverá ser dinâmico, ao invés de linear, tal como proposto (Radin & Wellman, 2010). Os mastócitos

dividem-se em dois subtipos, nomeadamente o cutâneo e o de mucosas. O subtipo cutâneo encontra-se principalmente na pele, tecido conjuntivo e no tracto gastrointestinal na porção não mucosa, enquanto o subtipo de mucosas se encontra na lâmina própria do trato gastrointestinal e pulmões. Os dois subtipos apresentam algumas diferenças, por exemplo, o subtipo de mucosas não apresenta grânulos metacromáticos e não produz a enzima quimase (Ozaki et al., 2002).

2.2. Importância do recetor de tirosina quinase Kit

O fator de célula estaminal (SCF - *Stem cell fator*) é uma das citocinas com função reguladora da granulopoiese. O recetor celular para o SCF é o Kit, por vezes também denominado c-kit ou CD117, um membro da família dos recetores de tirosina quinase (TQ) de tipo III. Este recetor de membrana está presente desde as CEH até aos precursores granulocíticos, mas à medida que os granulócitos continuam a sua diferenciação e maturação, a expressão do recetor Kit diminui bastante. Pelo contrário, nos mastócitos, a expressão de Kit permanece sempre elevada (Radin & Wellman, 2010). O Kit está presente em diversos tipos de células, sendo essencial na eritropoiese, linfopoiese, desenvolvimento e funcionamento de mastócitos, megacariopoiese, gametogénese e melanogénese. Tem um papel essencial na renovação e diferenciação de células estaminais, tanto na vida fetal como na vida adulta (Roskoski, 2005).

A ligação do SCF ao Kit leva à fosforilação e ativação do recetor, que por sua vez ativa outras proteínas celulares que funcionam como transdutores de sinal, iniciando assim uma série de respostas celulares específicas (Roskoski, 2005). Nos mastócitos, essas respostas essenciais à função dos mastócitos incluem a diferenciação e maturação celular, proliferação e inibição da apoptose (Roskoski, 2005; Lin et al., 2006; Radin & Wellman, 2010). Várias outras citocinas, destacando-se a interleucina-3, concorrem com o SCF na regulação mastocitária, sendo que as suas acções se complementam (Radin & Wellman, 2010).

A estrutura do recetor Kit divide-se num segmento de ligação extracelular, composto por cinco domínios tipo-imunoglobulinas, um segmento transmembranar e um segmento intracelular composto por um domínio justa-membranar, com função auto-inibitória, e um domínio tirosina quinase citoplasmático bilobado (figura 7) (Roskoski, 2005; Webster et al., 2006; Letard et al., 2008).

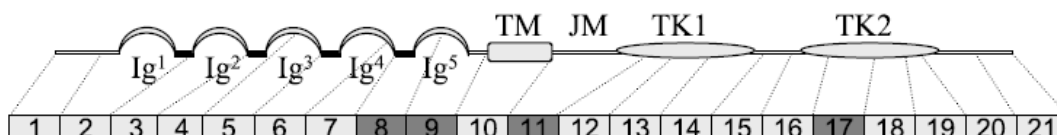


Figura 5. Estrutura do recetor Kit, em cima, e exons do gene c-kit respectivos, em baixo numerados, que codificam cada porção do recetor. Os exons coloridos a cinzento-escuro são aqueles em que se encontraram mutações em mastocitomas caninos, no estudo de Letard et al., 2008. Ig: Domínio tipo-munoglobulina, TM: Segmento transmembranar, JM: Domínio justa-membranar, TK: Domínio tirosina quinase. Adaptado de Letard et al., 2008.

2.3. Função mastocitária

Os mastócitos têm um papel importante na inflamação aguda e crônica, modulação da resposta imunitária e reações de hipersensibilidade. A presença destas células nas mucosas e pele torna-as das primeiras células do sistema imunitário a entrar em contacto com agentes patogénicos, pelo que têm um papel na imunidade inata, ao produzirem mediadores inflamatórios que modulam a resposta inflamatória. As principais funções dos mastócitos são a promoção de vasodilatação e aumento de permeabilidade capilar, contracção de músculo liso, modulação do processo de fibrose, aumento das secreções pelas glândulas mucosas, atracção de células inflamatórias, aumento do fluxo linfático local, activação de linfócitos-T e defesa contra parasitas (Pohlman, 2010).

A activação dos mastócitos pode ser feita através de uma grande variedade de iniciadores, entre eles citocinas, quimiocinas, estímulos físicos, substâncias químicas exógenas, bactérias, produtos bacterianos ou outros péptidos, mas a melhor estudada é a activação mediada pela imunoglobulina-E (IgE). Os mastócitos expressam na superfície celular um recetor Fc (fragmento cristalizável) chamado FcεRI que é específico para IgE. Quando os linfócitos-B produzem IgE em resposta a um estímulo antigénico, estas ligam-se aos recetores FcεRI dos mastócitos. Posteriormente, quando os antígenos específicos se ligam a esses anticorpos, o mastócito é activado, libertando imediatamente o conteúdo dos grânulos e induzindo a produção e secreção de citocinas e derivados do ácido araquidónico. Este mecanismo de activação tem um papel fundamental nas reações de hipersensibilidade do tipo I. Os mastócitos também expressam recetores α-adrenérgicos, cuja activação estimula a desgranulação e o bloqueio inibe a desgranulação, e recetores β-adrenérgicos, que funcionam de modo inverso. Outros recetores têm função inibitória (Pohlman, 2010).

Os grânulos dos mastócitos contêm histamina, heparina e inúmeras enzimas com papel na inflamação. A histamina causa vasodilatação com aumento do fluxo sanguíneo local e da permeabilidade vascular e a heparina tem função anticoagulante. As enzimas incluem, entre outras com papel na inflamação, quimase e triptase, que têm como função a activação local de metaloproteinases de matriz. Das substâncias produzidas após a activação mastocitária, as principais são os mediadores lipídicos derivados do ácido araquidónico, incluindo prostaglandinas, leucotrienos, interleucinas, fator de necrose tumoral, fator de agregação plaquetária (Pohlman, 2010) e fatores de crescimento endotelial e fibroblástico (London & Thamm, 2013).

3. Incidência

As neoplasias da pele, tecido subcutâneo e anexos cutâneos são das mais comuns no cão, representando 43% do total das neoplasias nesta espécie, segundo um estudo de

Brønden et al., 2010. O mastocitoma cutâneo é um dos tumores cutâneos mais comuns no cão, correspondendo a 7% a 21% dos tumores cutâneos, o que o torna a neoplasia maligna mais comum nesta espécie (Dobson et al., 2002; Brønden et al., 2010; Villamil et al., 2011).

4. Fatores de risco

4.1. Idade

Embora apareça em todas as idades, o risco de desenvolver mastocitomas aumenta a partir dos quatro anos, com pico entre os 10 e 15 anos (Villamil et al., 2011). Cães da raça Shar-pei parecem estar predispostos a desenvolver a neoplasia numa idade mais jovem, tendo sido reportada uma idade média ao diagnóstico de apenas 4,3 anos, e cinco em 18 casos tinham menos de dois anos; esta foi a raça em que mais casos de mastocitoma foram diagnosticados antes dos dois anos de idade (Miller, 1995).

4.2. Raça

A raça boxer está claramente sobre-representada. Várias outras raças já foram associadas a risco elevado de aparecimento desta neoplasia, nomeadamente Leão da Rodésia, Braco húngaro, Boston terrier, Weimaraner, Shar-pei, Bullmastiff, Pug, Labrador retriever, American staffordshire terrier, Golden retriever, Setter inglês, Pointer inglês, Staffordshire bull terrier, Bulldog inglês, Cocker Spaniel, Schnauzer e Beagle (McNiel et al., 2006; Villamil et al., 2011; White et al., 2011; London & Thamm, 2013; Warland & Dobson, 2013). Várias raças também foram identificadas como tendo risco relativamente baixo, destacando-se o Pastor alemão (Brønden et al., 2010; Villamil et al., 2011). O tamanho do cão, associado à sua raça, é também ele um fator de risco, com cães de raça pequena e média (<9Kg e entre 9 e 18Kg, respetivamente) apresentando um risco reduzido, e cães de raça grande e gigante (18 a 36Kg e > 36Kg) apresentando risco cerca de duas e cinco vezes superior às raças pequenas, respetivamente (White et al., 2011). Em sentido contrário, mastocitomas localizados no aparelho digestivo são mais frequentes em raças miniatura, com particular incidência na raça Maltês (Ozaki et al., 2002).

A predisposição racial, particularmente em cães braquicefálicos e em cães de raças pertencentes aos grupos filogenéticos dos Mastins e dos Terriers, remete para a ideia de que fatores genéticos influenciam o desenvolvimento de mastocitoma (London & Thamm, 2013; White et al., 2011). No entanto, a raça também parece influenciar o comportamento biológico dos mastocitomas. É comumente referido que as raças Boxer e Pug têm tendência a desenvolver mastocitomas com carácter tipicamente benigno e baixo grau histológico (McNiel et al., 2006; London & Thamm, 2013; Warland & Dobson, 2013), enquanto cães de raça Shar-pei desenvolvem com maior frequência uma forma agressiva da neoplasia (Miller, 1995).

Há um caso reportado de mastocitose cutânea num Jack russel terrier de três semanas, que acabou por regredir espontaneamente. Considera-se que esse caso de mastocitose aconteceu devido a hiperplasia ou displasia dos mastócitos, sem que se tratasse de uma alteração neoplásica (Davis et al., 1992).

4.3. Género

O género não parece influenciar a incidência da neoplasia (Miller, 1995; London & Thamm, 2013). No entanto, para o desenvolvimento de mastocitomas de grau II e III, fêmeas castradas demonstraram ter cerca de quatro vezes maior risco do que fêmeas inteiras (White et al., 2011). Um estudo em cães da raça Golden retriever encontrou resultados similares, mas também que o momento da castração pode ser um fator de risco, uma vez que a realização de OVH após um ano de idade aumentou significativamente o risco de desenvolvimento de mastocitoma, relativamente à realização da cirurgia antes de um ano de idade (Torres de la Riva et al., 2013). Fêmeas, inteiras ou castradas, também parecem ter maior risco de desenvolvimento de mastocitomas cutâneos múltiplos (Mullins et al., 2006; O'Connell & Thomson, 2013). Estes resultados suportam a tese de que hormonas sexuais podem ter influência na patogénese dos mastocitomas.

5. Etiologia e fisiopatologia

A etiologia dos mastocitomas no cão ainda não é completamente compreendida (London & Thamm, 2013). O facto de ser possível a transmissão de mastocitoma para animais recém-nascidos ou de forma iatrogénica em indivíduos imunodeprimidos, mesmo quando se inocula apenas extracto livre de células, levou alguns autores a sugerir uma etiologia viral (Bowles et al., 1972; London & Thamm, 2013). Inflamação crónica e aplicação de substâncias irritantes para a pele também foram historicamente associadas ao desenvolvimento de mastocitomas. No entanto, a caracterização epidemiológica da doença não suporta nenhuma destas teorias (London & Thamm, 2013).

Uma mutação no gene que codifica a proteína p53 está associada ao desenvolvimento de uma parte significativa das neoplasias em humanos. Esta proteína é essencial à regulação do ciclo celular, impedindo a propagação de mutações ocasionais que possam ocorrer durante o processo de replicação de ADN. Esta mutação foi detetada em 14% dos mastocitomas cutâneos e gastrointestinais caninos, e numa percentagem significativamente maior de tumores de grau histológico III que de grau I e II (Jaffe et al., 2000b). Tumores na cabeça e pescoço expressaram com maior frequência esta mutação (Ginn et al., 2000). Outro estudo não identificou nenhuma mutação ao nível do gene supressor tumoral p53 em 13 casos de mastocitoma canino (Mayr et al., 1999). A mutação deste gene pode ter alguma influência em parte dos mastocitomas caninos, mas não parece ser determinante no comportamento

biológico dos mastocitomas, já que não se verificou nenhuma relação entre a sua presença e o prognóstico (Jaffe et al., 2000b; Ginn et al., 2000; Ozaki et al., 2002).

A expressão de outras proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular, nomeadamente p21 e p27, também está alterada em uma parte significativa dos mastocitomas, pelo que poderão ter alguma influência na oncogénese dos mastocitomas (Wu et al., 2004). A proteína anti-apoptótica BCL-2 e a proteína Ciclooxygenase-2 (COX-2) têm sido alvo de investigações no sentido de perceber as suas implicações na patogénese e prognóstico nos mastocitomas caninos. A presença de COX-2 foi confirmada em 78% dos mastocitomas caninos e a expressão do gene que a codifica apresentou-se elevada relativamente ao normal. (Vascellari et al., 2013).

Recetores citoplasmáticos para estrogénio e progesterona foram encontrados em alguns mastocitomas, mas este é um achado inconsistente. Existem evidências de que estas hormonas podem influenciar o funcionamento dos mastócitos, e consequentemente ter algum papel na fisiopatologia tumoral (Gerritsen et al., 1998; London & Thamm, 2013). Tal como referido anteriormente, alguns estudos identificam uma influência do sexo e estado reprodutivo no desenvolvimento e grau histológico de mastocitomas (Mullins et al., 2006; White et al., 2011; O'Connell & Thomson, 2013; Torres de la Riva et al., 2013;).

Nos últimos anos, tem sido prestada especial atenção à importância do recetor de TQ Kit na oncogénese e como alvo terapêutico do mastocitoma. Os recetores de TQ, no geral, são enzimas com um papel chave na regulação de inúmeros aspectos da função celular, nomeadamente na regulação da apoptose, progressão do ciclo celular, diferenciação e proliferação celular, rearranjo do citoesqueleto, resposta imunitária, motilidade gastrointestinal e funcionamento do sistema nervoso, entre outros. Assim, a atividade destas enzimas tem de ser regulada minuciosamente, caso contrário, uma série de doenças pode-se desenvolver, consoante o tipo de recetor de TQ afectado. Em humanos, deficiências na regulação dos recetores de tirosina quinase estão associadas ao desenvolvimento de doenças neoplásicas, diabetes mellitus, doenças auto-imunes, cardiovasculares, inflamatórias e neurológicas (Roskoski, 2005).

Em humanos, mutações no gene c-kit estão comprovadamente associados a neoplasias, nomeadamente a mais de 90% dos casos de mastocitose sistémica, mais de 70% dos tumores gastrointestinais estromais e de parte de outras neoplasias como linfoma sinonasal de células T, seminomas e disgerminomas e leucemia mielóide aguda. Estão documentadas várias mutações no gene c-kit com este efeito de ganho de função, sendo que geralmente o resultado final é um estado de activação permanente do recetor Kit, independente da ligação do SCF (Roskoski, 2005).

Já foi demonstrado, na espécie canina, que os mastócitos neoplásicos cutâneos mantêm a capacidade de expressar o recetor Kit, e que este mantém a capacidade de se ligar ao SCF (London et al., 1996). A avaliação por imunohistoquímica do padrão de distribuição de Kit permite identificar, em mastócitos normais, uma predominância do recetor ao longo da membrana celular, tal como seria de esperar (Morini et al., 2004). A presença de uma quantidade aumentada do recetor no citoplasma está relacionada com um comportamento biológico da neoplasia mais agressivo, pelo que foi proposto que a expressão aumentada do gene c-kit pode estar relacionada com a transformação neoplásica dos mastócitos (Kiupel et al., 2004; Giantin et al., 2012). O papel do recetor Kit na oncogénese do mastocitoma canino é suportado pelo facto de já terem sido identificadas várias mutações no gene c-kit. As mais comumente encontradas são mutações do tipo duplicação interna em tandem (DIT) ao nível dos exons 11 e 12, regiões que codificam o domínio justa-membranar do recetor Kit, porção responsável, num estado normal, pelo estado de auto-inibição do recetor (figura 7). Assim, o recetor Kit resultante de um gene com estas mutações mantém-se constantemente no seu estado activado (Downing et al., 2002; Zemke et al., 2002; Jones et al., 2004; Webster et al., 2006). Estas mutações foram encontradas em 8 a 33% dos mastocitomas (Downing et al., 2002; Zemke et al., 2002; Webster et al., 2006; London et al., 2009; Giantin et al., 2012), sendo que em tumores de grau histológico I elas são extremamente raras e a sua presença aumenta com o grau histológico, tendo sido encontradas mutações do tipo DIT nos exons 11 e 12 em 0% a 8% de mastocitomas de grau I, 7% a 35% de tumores de grau II e 32% a 67% de tumores de grau III (Downing et al., 2002; Zemke et al., 2002; London et al., 2009). A presença deste tipo de mutações relaciona-se significativamente com recorrência local e desenvolvimento de metástases, tempo de sobrevivência inferior e aumento da mortalidade associada à neoplasia (Webster et al., 2006; Takeuchi et al., 2013; Sailasuta et al., 2014). Interessante também é o facto de na maioria dos tumores em que estas mutações foram encontradas, o padrão de distribuição de Kit ser anormal, ou seja, padrão II ou III (figura 11, página 55) (Webster et al., 2006; Sailasuta et al., 2014). Ainda assim, um padrão de distribuição aberrante pode estar presente sem que sejam identificadas mutações no gene c-kit (Webster et al., 2006; Giantin et al., 2012). Apesar das mutações tipo DIT serem as mais comuns, mutações do tipo deleção, inserção e substituição também já foram identificadas. Mais recentemente, foram identificados outros locais alvo de mutações, resultantes na ativação permanente do recetor Kit, nomeadamente ao nível dos exons 8 e 9, que codificam o quinto domínio tipo-imunoglobulina, no segmento extracelular do recetor e, mais raramente, no exon 17, que codifica parte do domínio tirosina quinase citoplasmático (figura 7) (Letard et al., 2008). Estão também descritas outras mutações nos exons 2, 6, 7 e 15, mas cujo resultado final na função do recetor Kit ainda não foi determinada (Takeuchi et al., 2013). A administração de inibidores da TQ inibe, na presença da maioria das mutações, a fosforilação do Kit independente de SCF e a proliferação de células neoplásicas *in vitro*, o que suporta ainda mais o papel do recetor Kit na oncogénese dos mastocitomas (Letard et al., 2008).

Ao contrário dos mastocitomas cutâneos, em mastocitomas gastrointestinais primários, apenas 77% dos tumores coraram positivamente ao recetor Kit e, mesmo nos tumores positivos, apenas um pequeno número de células corou positivamente. Não foi encontrada relação entre as características histológicas do tumor e a expressão de Kit (Ozaki et al., 2002).

6. Localização

A maioria dos mastocitomas caninos localiza-se na pele ou no tecido subcutâneo, sendo que muitas vezes o termo mastocitoma cutâneo é utilizado para se referir a ambas as localizações (London & Thamm, 2013). Os mastocitomas podem-se originar no tecido subcutâneo (figura 8), mas na maioria das vezes a sua presença nesta localização é resultante da expansão de um tumor originado na derme (Thompson et al., 2011a). Os locais mais comuns são tronco e membros, mas estas regiões também abrangem a maior parte do corpo (tabela 23 e tabela 24) (Ginn et al., 2000; Jaffe et al., 2000b). Num estudo, o mastocitoma foi a quarta neoplasia mais comum nos dígitos caninos, correspondendo a 7% das neoplasias malignas nesta localização (Wobeser et al., 2007). Embora raramente, também já foram descritas outras localizações, nomeadamente na conjuntiva (figura 9) (Fife et al., 2011), glândula salivar, nasofaringe, laringe, cavidade oral, ureter e coluna vertebral (London & Thamm, 2013). A disseminação sistémica de um mastocitoma denomina-se mastocitose sistémica ou disseminada ou mastocitoma visceral, e é normalmente resultado da metastização de um tumor cutâneo primário biologicamente agressivo (London & Thamm, 2013). Mastocitomas que se desenvolvam inicialmente em órgãos abdominais como o trato gastrointestinal, baço ou fígado, são denominados por mastocitoma visceral ou mastocitoma visceral primário (Takahashi et al., 2000; Ozaki et al., 2002).

Tabela 23. Distribuição da localização anatómica de 121 mastocitomas cutâneos. Adaptado de Jaffe et al., 2000b.

Localização Jaffe et al., 2000b	Distribuição (%) 121 tumores
Cabeça	8,3%
Tronco	45,5%
Membros	36,4%
Região perineal	6,6%
Região genital	3,3%

Tabela 24. Distribuição anatômica de 83 mastocitomas cutâneos. Adaptado de Ginn et al., 2000.

Localização Ginn et al., 2000	Distribuição (%) 83 tumores
Cabeça e pescoço	14,5%
Tronco incluindo axilas	39,8%
Membros	33,7%
Região genital e inguinal	10,8%

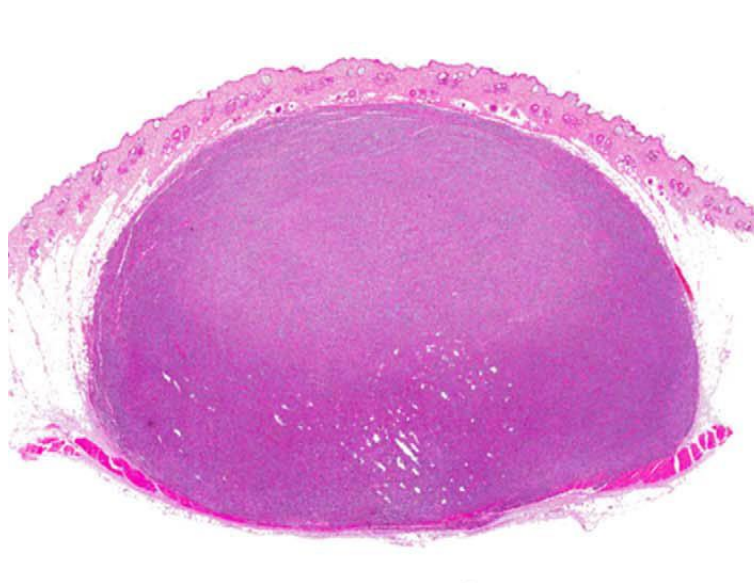


Figura 6. Corte histológico de um mastocitoma subcutâneo primário bem circunscrito. Note-se a ausência de invasão da derme e dos tecidos profundos. Ampliação 20x, coloração de hematoxilina e eosina. Adaptado de Thompson et al., 2011a.



Figura 7. Mastocitoma localizado na conjuntiva bulbar dorsal de um canídeo. Adaptado de Fife et al., 2011.

Os mastocitomas cutâneos podem-se apresentar como tumores individuais ou múltiplos. Vários estudos indicam que 9 a 14% dos casos de mastocitoma cutâneo se apresentam com múltiplos tumores. Num estudo retrospectivo de casos de tumores múltiplos, o número mediano de tumores era dois, com um máximo de seis (Mullins et al., 2006). Em Pugs, 56% dos animais apresentavam tumores múltiplos, incluindo um caso com mais de 30 massas espalhadas pelo corpo. Esta raça apresenta maior risco de desenvolvimento de mastocitomas cutâneos múltiplos (McNiel et al., 2006).

O mastocitoma visceral canino primário é, ao contrário do gato, muito raro, correspondendo a cerca de um décimo dos mastocitomas cutâneos (Takahashi et al. 2000). Nesta forma da neoplasia, encontrada principalmente em raças miniatura, a localização primária do tumor é normalmente o tracto gastrointestinal, embora o tumor também possa aparecer no baço e fígado. A metastização é comum e envolve linfonodos abdominais, baço, fígado, medula óssea, coração, pulmões, rins e glândulas adrenais (Takahashi et al., 2000; Ozaki et al., 2002).

7. Sinais clínicos

Os mastocitomas cutâneos caninos podem apresentar uma aparência bastante variável e muitas vezes são erroneamente tomados por lesões não neoplásicas. Tumores bem diferenciados são normalmente massas de pequenas dimensões, tendendo a ter diâmetro inferior a 2 cm, com ou sem perda do pêlo e de crescimento lento ao longo de vários meses. Tumores pouco diferenciados tendem a ter crescimento mais rápido, podem atingir dimensões superiores a 5 cm, ulcerar e causar desconforto e dor ao animal, com inflamação dos tecidos envolventes. Tumores de diferenciação intermédia apresentam características entre os dois tipos descritos. Estes sinais são, no entanto, pouco específicos do grau de diferenciação do tumor (Ginn et al., 2000; Mullins et al., 2006; London & Thamm, 2013).

Além do efeito de massa provocado pelo tumor em si, a maioria dos sinais cutâneos e gastrointestinais provocados pelos mastocitomas são comumente associados à libertação de histamina, heparina e restantes mediadores inflamatórios presentes nos grânulos citoplasmáticos e secretados pelas células neoplásicas. Um fenómeno conhecido por sinal de Darier, ocorre frequentemente após manipulação do tumor ou espontaneamente; este consiste no desenvolvimento de eritema e edema ao redor do tumor, e é muitas vezes notado pelos donos, que reportam que o tumor parece aumentar e diminuir de tamanho intermitentemente (London & Thamm, 2013). Sinais gastrointestinais podem ser secundários a irritação ou ulceração gastrointestinal, que foi reportada em 35% a 83% dos casos após necrópsia, e incluem vômito, diarreia e melena (Mullins et al., 2006; London & Thamm, 2013). A histamina é uma das três substâncias que estimula a produção de ácido gástrico pelas células parietais da

mucosa estomacal, ao ligar-se aos recetores H_2 . Foi demonstrado que cães com mastocitoma apresentam hiperhistaminemia, a qual seria responsável por estes sinais clínicos. O excesso de ácido gástrico no estômago provoca a inibição da produção de gastrina, num mecanismo de *feedback* negativo, estando a concentração desta hormona diminuída no plasma destes cães (Fox et al., 1990; Ishiguro et al., 2003). Outros sinais clínicos que podem estar presentes são a febre, edema periférico e colapso. Neoplasias biologicamente mais agressivas são mais frequentemente associadas à presença de sinais clínicos. A desgranulação dos mastócitos após manipulação do tumor tem importância significativa durante a remoção cirúrgica ou biópsia incisional, em que a libertação de substâncias vasoactivas pode causar hipotensão sistémica potencialmente fatal e a libertação de heparina prejudicar a hemostase no local da incisão cirúrgica (London & Thamm, 2013).

No mastocitoma visceral, a maioria dos cães apresenta depressão, anorexia, vômito, diarreia, melena, hematótese. Os sinais clínicos são normalmente secundários a ulceração gastrointestinal (Ozaki et al., 2002). Alguns casos em que há disseminação sistémica do mastocitoma apresentam PU/PD, sem que tenha sido identificada a causa desses sinais clínicos (Stefanello et al., 2009).

8. Fatores de prognóstico

No mastocitoma canino, não há um fator de prognóstico capaz de, por si só, prever o comportamento biológico do tumor, uma vez que este apresenta uma grande variabilidade. Assim, no sentido de se estabelecer um prognóstico o mais acertado possível, devem-se avaliar vários destes fatores em conjunto (London & Thamm, 2013).

A comparação dos diversos estudos que existem sobre fatores de prognóstico e sobre opções terapêuticas é dificultada pela enorme variedade nos critérios de admissão e consequente população em estudo e nos métodos utilizados. Por exemplo, a utilização de diferentes métodos terapêuticos, como apenas a excisão cirúrgica do tumor ou a utilização de radioterapia e quimioterapia adjuvante, pode alterar significativamente os valores de sobrevivência. A maioria dos estudos são retrospectivos, o que não permite aos autores grande margem na eliminação destes fatores de variação. As medidas de sobrevivência e os termos utilizados também variam no seu significado entre estudos diferentes. Por exemplo, alguns estudos apontam valores relacionados com recidiva ou recorrência do mastocitoma, sem que indiquem se se referem a recorrência local, distante mas na pele, nos linfonodos ou distante em órgãos internos. Qualquer comparação entre os valores de diferentes estudos deve considerar estes fatores. Por fim, o facto de os estudos serem geralmente realizados em instituições de referência veterinária exige cautela na transposição das suas conclusões para os centros veterinários de primeira opinião.

8.1. Grau histológico

Um dos fatores de prognóstico mais utilizado na prática clínica e que se prova bastante útil é a classificação histológica do tumor. Existem vários sistemas de classificação, sendo que os mais comuns dividem os mastocitomas em três graus. O sistema de classificação mais amplamente aplicado foi proposto por Patnaik et al., 1984. O sistema de Patnaik consiste na classificação histológica dos mastocitomas cutâneos em grau I, II ou III, em que o grau I corresponde a um tumor bem diferenciado, o grau II a um tumor de diferenciação intermédia e o grau III a um tumor pouco diferenciado, logo com comportamento biológico esperado agressivo. As características avaliadas pelos patologistas incluem o grau de invasão local do tumor, a celularidade, a morfologia celular, o índice mitótico (IM) e a reação do estroma (quadro 3) (Patnaik et al., 1984). Outro sistema muitas vezes citado foi proposto por Bostock, 1973 e apresenta muitas semelhanças com o sistema de Patnaik, com a principal diferença de que a relação entre o nível de diferenciação do tumor e o número do grau é a inversa. Daqui em diante neste texto, sempre que se utilizar os termos grau I, II ou III, entenda-se que se aplica o sistema de Patnaik, salvo indicação em sentido contrário.

Vários autores publicaram a distribuição de cada grau histológico entre os casos de mastocitoma cutâneo canino (tabela 25). Note-se que em muitos dos estudos deste tipo a população estudada inclui apenas casos referenciados para centros veterinários especializados, pelo que a prevalência de tumores de grau mais elevado pode estar sobrestimada. Os tumores de grau histológico II são os mais comuns, seguidos dos de grau histológico I, enquanto tumores pouco diferenciados são os menos comuns.

A relação entre o grau histológico dos tumores segundo o sistema de Patnaik e o prognóstico já foi reportada por vários autores (tabela 26). Inúmeros fatores, além do grau histológico, influenciam no prognóstico. A avaliação dos dados presentes na tabela 26 deve ter em conta que a população avaliada difere significativamente entre os vários estudos, por exemplo, nas modalidades terapêuticas aplicadas e na presença ou não de margens cirúrgicas consideradas limpas. De qualquer forma é possível verificar que quanto mais elevado o grau histológico, maior a taxa de mortalidade e que, no geral, esta aumenta ao longo do tempo, independentemente do grau. Ainda assim, a classificação histológica segundo Patnaik não permite prognosticar de forma evidente quais os tumores de grau II que se comportam de forma benigna e quais os que se comportam de forma maligna, uma vez que 8% a 56% destes causam a morte do animal (tabela 26) (Patnaik et al. 1984; Simoes et al. 1994; Murphy et al. 2004 referido por London & Thamm 2013).

Quadro 3. Critérios de classificação histológica de mastocitomas cutâneos, segundo o sistema de Patnaik. Adaptado de Patnaik et al., 1984.

Grau histológico	Características microscópicas
Grau I	Mastócitos bem diferenciados, agrupados em filas ou pequenos grupos, separados por fibras de colagénio maduras. Células redondas e monomórficas, com citoplasma abundante, membrana citoplasmática bem definida, grânulos citoplasmáticos de tamanho médio, núcleo redondo com cromatina condensada e ausência de figuras mitóticas.
Grau II	Celularidade moderada a alta, invasão do tecido subcutâneo. Pleomorfismo celular moderado, mastócitos agrupados em grupo com estroma fibrovascular. Células redondas a ovóides, com algumas células gigantes. Grânulos pequenos a médios, núcleo redondo a indentado com cromatina pouco concentrada e um nucléolo, algumas células binucleadas, mitoses raras, de zero a duas por campo de grande ampliação (CGA) e áreas de edema e necrose.
Grau III	Celularidade elevada, pleomorfismo evidente e invasão do tecido subcutâneo. Células agrupadas compactamente. Grânulos e membrana celular pouco evidentes, estroma fibrovascular ou espesso e fibrocolagenoso. Núcleos redondos a indentados, vesiculados, com um ou mais nucléolos proeminentes, células gigantes e bi- e multinucleadas comuns e figuras mitóticas comuns, com três a seis mitoses por CGA. Edema, hemorragia e necrose comuns.

Tabela 25. Distribuição dos mastocitomas cutâneos caninos por grau histológico segundo o sistema de classificação de Patnaik, em diversos estudos.

Estudo	Nº de casos	Grau I	Grau II	Grau III
Patnaik et al., 1984	83	36%	43%	20%
Simoes et al., 1994	87	38%	40%	22%
Ginn et al., 2000	83	29%	59%	12%
Murphy et al., 2004*	340	26%	59%	16%
Webster et al., 2006	60	13%	75%	12%
Brønden et al., 2010	51	33%	51%	16%
Schultheiss et al., 2011	115	22%	74%	4%

*: referido por London & Thamm 2013.

Tabela 26. Distribuição da taxa de sobrevivência associada a mastocitomas cutâneos de diferentes graus histológicos, segundo diversos estudos e ao fim de diferentes períodos de tempo.

Grau histológico	Murphy et al., 2004* aos 365 dias	Simoes et al., 1994 aos 601 dias	Patnaik et al., 1984 aos 1500 dias
I	100%	91%	93%
II	92%	71%	44%
III	46%	42%	6%

*: referido por London & Thamm 2013.

Num estudo apenas com tumores de grau II excisados com margens cirúrgicas limpas, o TMS foi de 791 dias, com apenas 11% de recorrência local (Weisse et al., 2002). Noutro estudo também em mastocitomas de grau II em que os animais foram submetidos apenas a tratamento cirúrgico, 84% dos cães mantiveram-se livres de doença durante o período do estudo, com 5% a sofrerem metastização (Séguin et al., 2001).

Tumores de grau elevado têm maior probabilidade de metastização, o que está de acordo com um pior prognóstico. Três de cinco cães com mastocitoma grau III desenvolveram metástases, enquanto apenas um em 85 com grau II e nenhum em 25 com grau I as desenvolveram (Schultheiss et al., 2011). No momento do diagnóstico, apresentaram-se com metastização no linfonodo regional 22% dos tumores de grau II e 48% dos tumores de grau III, com a consequente diferença no prognóstico (Krick et al., 2009). Num estudo de 43 casos de mastocitoma cutâneo de grau III, em que diferentes níveis de controlo local do tumor e diferentes protocolos de terapia adjuvante à cirurgia foram aplicados, o intervalo livre de doença (ILD) foi de 133 dias e o TMS foi de 257 dias (Hume et al., 2011). Fatores associados a um melhor prognóstico foram a utilização de um adequado controlo local do tumor, tumores de tamanho inferior a 3 cm, ausência de metastização no linfonodo regional, tratamento dirigido ao linfonodo e IM inferior ou igual a cinco (Hume et al., 2011). No estudo de Ginn et al., 2000, o TMS de cães com mastocitoma cutâneo de grau III foi de apenas um mês. Noutro estudo cães com grau III sobreviveram uma mediana de 278 dias, enquanto cães com grau I e II a mediana da sobrevivência foi superior a 1300 dias (Murphy et al., 2004).

Em Pugs, apesar de terem apresentado frequentemente mastocitomas múltiplos, 96% dos tumores eram de grau I ou II, sendo que nenhum dos casos apresentava apenas tumores de grau I, e apenas 12% dos animais morreram devido à neoplasia durante o tempo de acompanhamento que foi de 660 dias (mediana), pelo que se conclui que nesta raça os mastocitomas tendem a ter um comportamento benigno (McNiel et al., 2006). Já a raça Shar-pei parece estar predisposta a desenvolver mastocitomas mais agressivos. Em 18 casos, 44% foram diagnosticados com mastocitoma de grau III e, especificamente, de cinco cães com menos de dois anos, 80% apresentaram mastocitoma de grau III (Miller, 1995).

Note-se que a classificação histológica não é cem por cento preditiva de um comportamento biológico benigno nos tumores de grau I nem de um comportamento maligno nos tumores de grau III. Vários estudos falham em encontrar diferenças estatisticamente significativas entre o prognóstico de tumores de grau I e II, mas é claro o mau prognóstico de tumores de grau III (Kiupel et al., 2011; Takeuchi et al., 2013). Os tumores de grau II são os mais frequentes, mas são também aqueles em que a classificação histológica demonstra menos consistência na previsão da agressividade do tumor. Assim, outras técnicas devem ser pesquisadas de modo a complementar a informação obtida pela classificação histológica, relativamente ao prognóstico de cada tumor, principalmente os de grau II. Note-se que no estudo de Patnaik et al. 1984, por exemplo, cerca de metade dos cães com tumores de grau II estavam vivos ao fim de 1500 dias enquanto a outra metade tinha sofrido morte relacionada com o tumor.

A variabilidade da avaliação consoante o patologista que classifica o tumor também é uma desvantagem deste sistema (Northrup et al., 2005; Kiupel et al., 2011; Vascellari et al., 2013). Por estas razões, foi recentemente proposto um sistema de classificação histológica baseado em características celulares mais objectivas, conhecido por sistema de classificação histológica de Kiupel. Este sistema apresenta apenas dois graus histológicos, nomeadamente alto grau e baixo grau. Para se classificar um mastocitoma como alto grau, o patologista apenas tem de encontrar um ou mais dos seguintes critérios, em 10 CGA: sete ou mais mitoses; três ou mais células multinucleadas com pelo menos três núcleos; três ou mais núcleos de aparência altamente atípica, com indentações marcadas, segmentação e forma irregular; cariomegalia em pelo menos 10% das células. A intervariabilidade na classificação entre observadores foi quase nula, por se tratarem de características mais objectivas que no sistema de Patnaik. A associação entre os dois graus e o prognóstico foi significativa, com TMS menor que quatro meses em cães com mastocitoma de alto grau, contra um TMS superior a 2 anos para cães com mastocitoma de baixo grau. Os tumores de alto grau também apresentaram maior taxa de mortalidade, maior risco de virem a desenvolver tumores adicionais e metástases, num menor intervalo de tempo. A amostra era composta por 95 casos de mastocitoma cutâneo (Kiupel et al., 2011). O valor prognóstico deste sistema de dois graus foi apoiado por outros estudos (Donnelly et al., 2013; Takeuchi et al., 2013; Vascellari et al., 2013; Sabattini et al., 2014). Cem por cento de 35 tumores classificados em grau III pelo sistema de Patnaik foram também classificados em alto grau pelo sistema de Kiupel. De 55 tumores grau II, 7,3% foram classificados em alto grau e os restantes em baixo grau. Tumores de alto grau recidivaram localmente, após excisão cirúrgica com margens histológicas limpas, em 36% dos casos, enquanto tumores de baixo grau apenas recidivaram localmente em 4% dos casos. Portanto, tumores de alto grau têm risco elevado de recidiva local, sabendo-se que esta aumenta o risco de metastização e, portanto o risco de morte associada ao mastocitoma. Logo, tratamento local mais agressivo de tumores de alto grau, assim como nos tumores de

grau III no sistema de Patnaik, deve ser realizado de modo a melhorar o prognóstico (Donnelly et al., 2013).

Os sistemas de classificação histológica não parecem ter qualquer aplicação nem utilidade prognóstica no mastocitoma gastrointestinal (Ozaki et al., 2002). Mastocitomas localizados na conjuntiva apresentaram prognóstico favorável independentemente do grau histológico, pelo que este deverá ser de pouca utilidade nesta localização (Fife et al., 2011).

8.2. Marcadores de proliferação celular

Vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de identificar a importância de marcadores de proliferação celular na determinação do comportamento biológico e prognóstico do mastocitoma canino. Os marcadores de proliferação celular mais estudados nesta neoplasia canina são o Ki-67, a argirofilia das regiões organizadoras nucleares (AgNOR – *Argyrophilic staining of nucleolar organizer regions*), o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA – *proliferating cell nuclear antigen*) e o IM (Romansik et al., 2007). Estes marcadores de proliferação celular são utilizados para estimar o número de células em estado de divisão celular, pois o crescimento de um tumor depende em grande parte da velocidade a que esta ocorre (Scase et al., 2006).

O marcador de proliferação celular Ki-67, uma proteína presente no núcleo de células em divisão, pode ser identificado e o seu índice mensurado utilizando uma técnica de coloração imunohistoquímica, e apresenta uma associação significativa com o prognóstico do mastocitoma cutâneo canino, nomeadamente na predição de recidiva local, metastização e mortalidade associada à neoplasia. A principal utilidade do marcador Ki-67 parece ser a determinação de quais os tumores de grau II que apresentam melhor e pior prognóstico (tabela 27), o que faz do Ki-67 um dos marcadores de proliferação celular mais útil como fator prognóstico do mastocitoma cutâneo canino (Ginn et al., 2000; Scase et al., 2006; Thompson, et al., 2011b; Berlato et al., 2013; Vascellari et al., 2013).

Tabela 27. Taxa de sobrevivência ao fim de um, dois e três anos e TMS de cães com mastocitoma cutâneo de grau II consoante o valor de Ki-67. Adaptado de Scase et al., 2006.

Índice de Ki-67	% de sobreviventes			TMS
	1 ano	2 anos	3 anos	
<1,8	98%	86%	77%	NA
>1,8	43%	21%	21%	395 dias

NA: Não atingido.

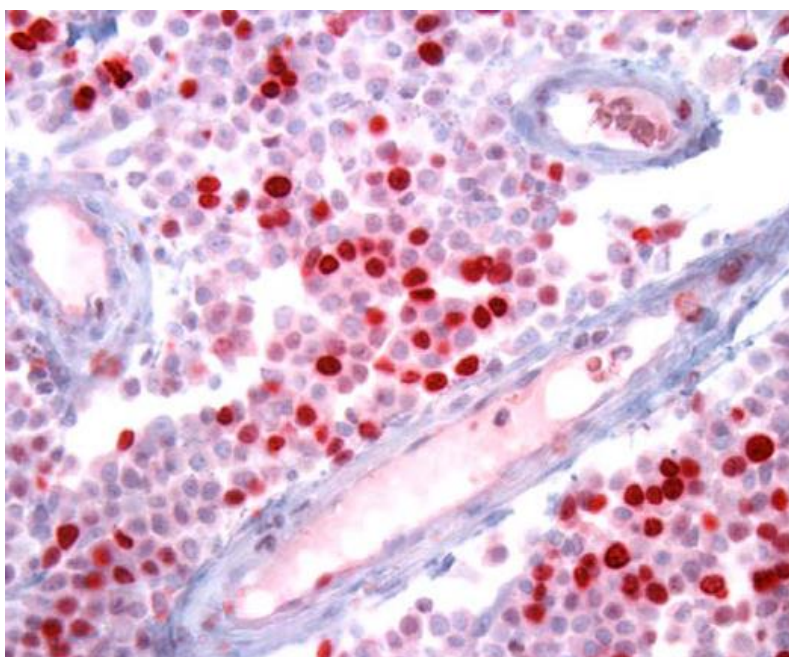


Figura 8. Coloração imunohistoquímica de Ki-67. As células positivas coram o seu núcleo de magenta. Ampliação 400x, coloração imunohistoquímica. Adaptado de Thompson et al., 2011b.

O marcador de proliferação celular AgNOR, que pode ser identificado através de uma técnica de coloração histoquímica utilizando nitrato de prata, demonstra uma relação significativa com o aparecimento de recidivas locais, com o prognóstico em termos de sobrevivência e com o grau histológico do tumor, segundo o sistema de Patnaik. No entanto, não apresenta qualquer vantagem no prognóstico, quando comparada com a própria classificação histológica, pelo que a sua utilidade corrente na prática clínica é limitada (Simoes et al., 1994; Scase et al., 2006; Thompson et al., 2011b).

O outro marcador de proliferação celular acima mencionado, o PCNA, demonstrou, num estudo, ser preditivo da ocorrência de recidivas locais e metastização (Simoes et al., 1994), mas não demonstrou qualquer utilidade prognóstica em um outro estudo (Scase et al., 2006). Simoes et al., 1994 propôs a utilização de um índice composto pela classificação histológica, AgNOR e PCNA de modo a fazer uma melhor previsão do desenrolar da neoplasia.

A survivina, um inibidor da apoptose, foi detetada em células neoplásicas de mastocitomas caninos, mas a sua expressão era baixa e sem significado prognóstico (Scase et al., 2006).

O IM é uma medida indirecta de proliferação celular e tem, relativamente aos restantes marcadores acima mencionados, a vantagem de não ser necessário nenhum método de coloração especial, uma vez que a coloração com hematoxilina e eosina de cortes histológicos é o suficiente para identificar as figuras mitóticas. Verificou-se uma relação significativa entre a

atividade mitótica e o desenvolvimento de metástases. Cães com um IM inferior ou igual a 5 mitoses/10CGA tiveram um TMS de 70 meses, enquanto cães com IM superior a 5 mitoses/10CGA apenas sobreviveram por uma mediana de dois meses. Quando considerando apenas cães com tumores de grau II, os resultados foram semelhantes, demonstrando o valor da determinação do IM no prognóstico de tumores de grau II. O IM também demonstrou algum interesse na determinação de tumores de grau III com melhor prognóstico (Romansik et al., 2007). Outros estudos validam a utilidade do IM como fator prognóstico, alguns sugerindo outros *cut-offs* diferentes de cinco (Elston et al., 2009; Thompson et al., 2011a; Berlato et al., 2013; Vascellari et al., 2013). É importante lembrar que, ainda assim, há cães com mastocitomas com IM inferior a 5 que morrem devido à doença (Schultheiss et al., 2011).

Na prática clínica, os marcadores de proliferação celular mais utilizados, devido ao seu alto valor prognóstico, são o IM e o Ki-67 e podem ser ferramentas valiosas na prognosticação de tumores de grau II. Foram ambos comparados e demonstraram ter valor prognóstico semelhante. Assim, numa primeira abordagem, o IM deverá sempre vir descrito no relatório histopatológico do tumor, e a avaliação do Ki-67, por ser necessária uma técnica imunohistoquímica, deverá ser utilizada em casos em que outros fatores como por exemplo o aspecto e a rapidez de crescimento do tumor não sejam sustentados pelo valor do IM. Pelo contrário, estes marcadores de proliferação celular não acrescentam grande valor prognóstico a tumores de grau I ou III, ou em casos em que metastização já está presente aquando do diagnóstico da neoplasia (Berlato et al., 2013).

8.3. Kit

No mastocitoma cutâneo canino o padrão de distribuição do Kit, avaliado através de coloração imunohistoquímica, tem valor prognóstico. Em 100 casos de tumores excisados cirurgicamente e sem outro tratamento complementar, três padrões foram observados e categorizados de I a III (figura 11), em que no padrão I o recetor é identificado maioritariamente ao longo da membrana citoplasmática; no padrão II o Kit é encontrado com intensidade elevada num agregado focal perinuclear ou em pequenos agregados espalhados pelo citoplasma; o padrão de distribuição III caracteriza-se pela coloração difusa e intensa do citoplasma das células tumorais (Kiupel et al., 2004). O padrão de distribuição de Kit relaciona-se com o grau histológico segundo o sistema de Kiupel (Sailasuta et al., 2014) e segundo o sistema de Patnaik, sendo que o padrão I foi identificado em 41,2 a 42,9%, o padrão II em 40,0 a 43,9% e o padrão III em 13,3 a 18,3% dos tumores (Kiupel et al., 2004; Webster et al., 2006; Giantin et al., 2012; Patruno et al., 2014). Os padrões II e III foram associados a um período de sobrevivência significativamente inferiores e a uma taxa de recidiva local e metastização significativamente superiores ao padrão I (Kiupel et al., 2004). No sentido contrário, a presença do padrão I, que também é característica de mastócitos saudáveis (Morini et al., 2004), com o corante maioritariamente na membrana citoplasmática, mostrou-se um excelente indicador (Kiupel et al., 2004; Giantin et al., 2012), com apenas 2,4% de mortalidade, contra os 25,6% e

38,5% dos padrões II e III, respectivamente (Kiupel et al., 2004). Ainda assim, o TMS não foi atingido em nenhum dos três grupos da população em estudo e todos os grupos foram acompanhados durante um período bastante alargado de tempo, pelo que o valor do padrão de distribuição do Kit como fator de prognóstico independente é posto em causa por London & Thamm 2013. Em mastocitomas de origem primária subcutânea, os padrões de distribuição de Kit II e III também se relacionaram com a recidiva local dos tumores após excisão cirúrgica, sendo que o padrão III apresentou significância superior (Thompson et al., 2011b).

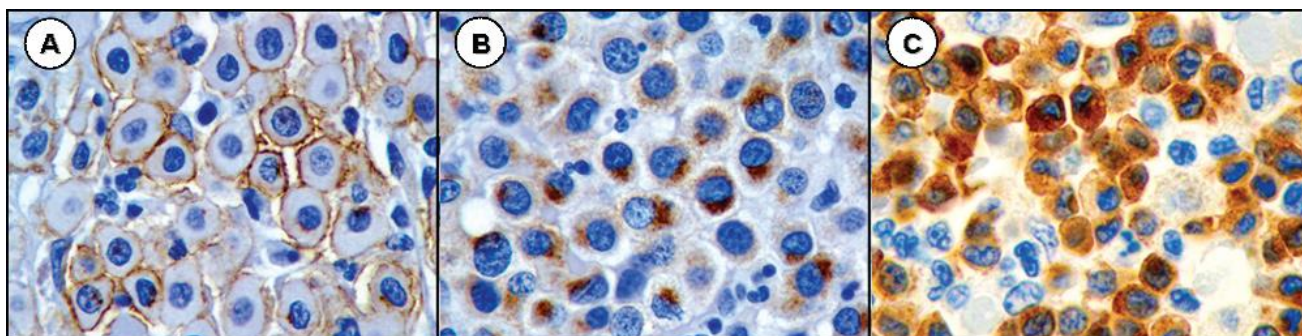


Figura 9. Padrão de distribuição de Kit avaliado em cortes histológicos corados com técnica de imunohistoquímica. A positividade é identificada pela coloração castanha das estruturas celulares. A: Padrão I, com o recetor distribuído essencialmente ao longo da membrana citoplasmática. B: Padrão II, coloração focal e intensa na região perinuclear. C: Padrão III: Coloração intensa e difusa de todo o citoplasma, por vezes obscurecendo as restantes estruturas celulares. Ampliação 1000x, coloração imunohistoquímica e com hematoxilina. Adaptado de Webster et al., 2006.

Tal como já foi referido no capítulo “Etiologia”, apesar da relação não ocorrer em todos os casos, a maioria dos mastocitomas com mutações do tipo DIT no domínio justa-membranar apresentam padrão de distribuição de Kit II ou III, considerados aberrantes (Webster et al., 2006; Sailasuta et al., 2014), embora um padrão de distribuição aberrante possa estar presente sem que sejam identificadas mutações no gene c-kit (Webster et al., 2006; Giantin et al., 2012). Foi demonstrada uma relação significativa entre a presença de mutações no gene c-kit e o grau histológico (Downing et al., 2002; Zemke et al., 2002; Sailasuta et al., 2014). Mutações que conferem sobreexpressão ao recetor KIT estão associadas a maior taxa de recidivas locais e de metastização, menor tempo de sobrevivência e aumento da mortalidade (Webster et al., 2006). No sentido inverso, um estudo de Takeuchi et al., 2013, não demonstrou relação entre a presença de mutações no gene c-kit e o grau histológico nem com o prognóstico, à excepção da diminuição do período de progressão da doença quando existem mutações do tipo DIT, pelo que a presença destas mutações nem sempre deverá estar associada a um mau prognóstico.

8.4. Localização

A localização do mastocitoma é muitas vezes referida como fator de prognóstico. Tumores localizados nas mucosas, junções mucocutâneas e nas regiões perineal, inguinal, escrotal, prepucial e subungual são empiricamente associados a um pior prognóstico do que

em outras localizações (London & Thamm, 2013). No entanto, é um tema controverso, uma vez que há estudos que não encontram associação entre a localização cutânea e o prognóstico (Ginn et al., 2000). Mastocitomas localizados na face, junção mucocutânea oral e na mucosa oral apresentaram, aquando do diagnóstico, uma taxa de metastização para os linfonodos regionais muito elevada, nomeadamente entre 59% e 72%, o que denota um comportamento biológico bastante agressivo. Ainda assim, cães com envolvimento dos linfonodos tiveram TMS de 14 meses, o que é um período relativamente longo para o caso, enquanto cães sem metástases nos linfonodos tiveram prognóstico bastante favorável, sem que o TMS tenha sido atingido. Muitos dos cães deste estudo usufruíram de terapia trimodal, com cirurgia, radioterapia e quimioterapia (Hillman et al., 2010). Os mastocitomas localizados na região perineal ou inguinal sempre foram empiricamente associados a um prognóstico desfavorável. No entanto, estudos demonstram não haver relação estatística significativa entre estas localizações e um prognóstico desfavorável, quando comparando com outras localizações (Cahalane et al., 2004; Sfiligoi et al., 2005). Analisando especificamente as regiões escrotal e prepucial, parece haver uma tendência para um pior prognóstico, com a diminuição do TLD após cirurgia, mas esta diferença também não foi significativa (Sfiligoi et al., 2005). Contraditoriamente, um outro estudo reportou melhor prognóstico para tumores de grau III quando localizados na região pineal, prepúcio ou períneo, relativamente a outras localizações (Hahn et al., 2004). Noutro estudo, tumores na região pineal apresentaram prognóstico semelhante ao reportado para outras regiões do corpo, sendo que o grau histológico foi o principal determinante do prognóstico (Schwab et al., 2014). Em oito casos de mastocitoma localizado nos dígitos, três animais morreram devido a doença metastática, resultando numa sobrevivência de 63% ao fim de dois anos (Wobeser et al., 2007).

Mastocitomas localizados nas mucosas foram associados a um prognóstico desfavorável, com uma taxa de sobrevivência de 44% ao fim de um ano e 30% ao fim de três anos (Thamm et al., 2006). No entanto, mastocitomas localizados na mucosa conjuntival apresentaram um excelente prognóstico, independentemente do grau histológico. Em 26 tumores, apenas um recidivou localmente após a cirurgia, outro cão desenvolveu um mastocitoma noutra localização cutânea cerca de dois anos depois e, num total de 32 cães, nenhum morreu devido à neoplasia (Fife et al., 2011).

Em mastocitomas cutâneos múltiplos, nenhuma localização demonstrou estar associada a pior prognóstico, mas a presença de pelo menos um tumor num membro associou-se a um melhor prognóstico. (O'Connell & Thomson, 2013).

Mastocitomas de origem primária no tecido subcutâneo têm um prognóstico bastante favorável, com apenas 8% de recorrência local após cirurgia e 4% de metástases e, com uma estimativa de 84% de sobrevivência ao fim de 1 500 dias (Thompson et al., 2011a). No entanto, tumores de grau III com origem subcutânea não apresentam diferenças significativas no

prognóstico quando comparados com tumores de igual grau mas com origem na derme (Hume et al., 2011).

Mastocitoma visceral, seja de origem no trato gastrointestinal, baço ou fígado, tem um prognóstico bastante reservado. O TMS, numa série de 10 casos, foi de 16 dias, com intervalo de dois a 48 dias (Takahashi et al., 2000), enquanto noutra série de 23 casos, apenas 39% dos animais estavam vivos aos 30 dias, e apenas 7% ao fim de 180 dias (Ozaki et al., 2002).

A presença de mastocitose disseminada representa, obviamente, um mau prognóstico (O’Keefe et al. 1987 r por London & Thamm 2013).

8.5. Estadiamento

Um dos fatores de prognóstico mais utilizados no mastocitoma cutâneo canino é o estadiamento da neoplasia, aquando do diagnóstico, segundo o sistema proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que contempla as características do tumor primário, metastização para os linfonodos regionais e metastização à distância (quadro 4). Quando os mastocitomas metastizam, fazem-no em primeiro lugar para os linfonodos regionais e mais tarde para o baço e fígado. Outros órgãos podem estar envolvidos, mas os pulmões, ao contrário de muitas outras neoplasias, raramente estão envolvidos. Mastócitos neoplásicos podem-se observar na medula óssea e sangue periférico em casos de disseminação sistémica (O’Keefe et al. 1987 referido por London & Thamm 2013).

Quadro 4. Estadiamento do mastocitoma cutâneo canino, segundo a OMS. Adaptado de London & Thamm, 2013.

Estadio	Descrição
0	Um tumor cutâneo incompletamente excisado da derme, identificado histologicamente, sem envolvimento do linfonodo regional.
I	Um tumor confinado à derme, sem envolvimento do linfonodo regional.
II	Um tumor confinado à derme, com envolvimento do linfonodo regional.
III	Tumores dérmicos múltiplos ou tumores grandes e invasivos, com ou sem envolvimento do linfonodo regional.
IV	Qualquer tumor com metastização distante, incluindo envolvimento sanguíneo ou medula óssea.
Sub-estadio	Sub-estadio <i>a</i> : sem sinais clínicos sistémicos. Sub-estadio <i>b</i> : com sinais clínicos sistémicos. (No estadio IV não se aplica o sub-estadio.)

Num estudo com 70 casos, a distribuição dos pacientes pelos diferentes estadios foi a apresentada na tabela 28. Quanto mais elevado o estadio, menor o tempo até à recidiva local ou metastização do tumor após terapia (Jaffe et al., 2000b).

O estadio II, ou seja, presença de metástases nos linfonodos regionais, está associado a um prognóstico reservado e demonstrou ser um fator de prognóstico independente. A metastização para os linfonodos regionais foi encontrada em 49% dos mastocitomas de grau III no momento do diagnóstico e muito mais comumente do que a metastização à distância (Hume et al., 2011). O TMS de cães com estadio I e II foi, respetivamente, superior a seis anos e inferior a 10 meses (Krick et al., 2009) e outros estudos demonstram o carácter desfavorável da presença de metástases nos linfonodos regionais (Gerritsen et al., 1998; Thamm et al., 1999; Hume et al., 2011;). No entanto, um estudo indica que a aplicação de terapia loco-regional, com tratamento do tumor primário e radioterapia dirigida ao linfonodo regional, em cães com mastocitoma de estadio II, faz com que o prognóstico deste estadio não seja estatisticamente diferente do estadio I (LaDue et al., 1998), sendo que num outro estudo estes cães atingiram em média os 1240 dias de TLD, com apenas um em 19 cães a desenvolverem recidiva do tumor num linfonodo (Chaffin & Thrall, 2002). Outros estudos demonstram que a excisão de linfonodos afetados, radioterapia loco-regional, quimioterapia como adjuvante à excisão cirúrgica do tumor primário ou uma combinação destes métodos, mesmo que de modo puramente preventivo em tumores com elevado risco de metastização, permite a cães com mastocitoma em estadio II estenderem o TMS e o TLD para níveis bastante aceitáveis, principalmente quando o grau do tumor é II, pelo que a presença de metástases nos linfonodos regionais não deve ser um impedimento ao tratamento destes cães (Dobson et al., 2004; Thamm et al., 2006; Camps-Palau et al., 2007; Rassnick et al., 2010b; Hume et al., 2011).

Tabela 28. Distribuição dos casos de mastocitoma cutâneo canino por estadio, segundo o sistema de estadiamento da OMS. Adaptado de Jaffe et al., 2000b.

Estadio	Distribuição
I	66%
II	4%
III	24%
IV	6%

Correntemente, a maior crítica e dúvida relativamente a este sistema de estadiamento prende-se com a colocação dos casos de mastocitoma cutâneo múltiplo no estadio III, um estadio avançado. Ainda não é certo se os tumores cutâneos múltiplos correspondem a tumores independentes, ou se são metástases de um tumor primário. Um estudo em dois cães que desenvolveram vários tumores cutâneos ao longo de um a dois anos demonstrou existir clonalidade entre os vários tumores, o que aponta para que nesses dois casos se tratassem de metástases (Zavodovskaya et al., 2004). Embora alguns estudos associem tumores múltiplos a um pior prognóstico (Camps-Palau et al., 2007), estudos recentes não apontam a presença de múltiplos tumores cutâneos como sendo um fator de prognóstico negativo. Num estudo envolvendo casos de mastocitoma cutâneo múltiplo excisados cirurgicamente e com ou sem

posterior terapia adjuvante, 83% dos cães apresentaram tumores de grau histológico I ou II, apenas 15% dos tumores progrediram com metástases, das quais sete para os linfonodos regionais e apenas um caso apresentou metastização sistêmica. Quarenta e quatro por cento dos pacientes desenvolveram novos tumores cutâneos numa localização diferente, mas este acontecimento não teve impacto no prognóstico. Nesta série de tumores múltiplos, o fator de prognóstico que mais significativamente afetou negativamente o TMS e o TLD foi a presença de sinais clínicos gastrointestinais ou cutâneos. O TLD estimado foi de 1917 dias com sobrevivência de 85% dos cães ao fim de 5 anos, correspondendo a um bom prognóstico. Este e outros estudos demonstram que os mastocitomas cutâneos múltiplos não apresentam prognóstico pior que mastocitomas cutâneos solitários de grau histológico II, reflectindo antes o prognóstico individual de cada um dos tumores existentes e, portanto, colocam em causa o valor da colocação destes casos num estadio avançado segundo o sistema de estadiamento da OMS (Mullins et al., 2006; O'Connell & Thomson, 2013). Por esse motivo, Krick et al., 2009 propôs a inclusão de mastocitomas cutâneos múltiplos no estadio II.

O estadio IV, correspondente a metastização à distância, numa localização que não os linfonodos nem o tecido cutâneo, está relacionado com um mau prognóstico (O'Keefe et al., 1987; Gerritsen et al., 1998; Jaffe et al., 2000b; Sfiligoi et al., 2005; Romansik et al., 2007; Hume et al., 2011; Vascellari et al., 2013). Em cães com mastocitomas cutâneos considerados de alto risco de metastização, dois de 23 apresentaram infiltração neoplásica no fígado e/ou baço e dois em 24 apresentaram infiltração na medula óssea (Camps-Palau et al., 2007) e apenas 11% de 43 cães com mastocitomas de grau III desenvolveram metástases à distância (Hume et al., 2011), sendo muito mais comum a metastização para os linfonodos regionais. Assim, considera-se que a disseminação sistêmica não é um achado muito frequente, mesmo em mastocitomas de risco elevado. Noutro estudo, a taxa de mortalidade de cães que se apresentaram com metástases foi cerca de cinco vezes superior à dos cães que não as apresentavam (Romansik et al., 2007). O TMS de cães com infiltração neoplásica de órgãos abdominais, confirmada por citologia, foi de 34 dias, enquanto o TMS da população controlo foi de 733 dias (Stefanello et al., 2009) e de 100 e 291 dias, respetivamente, noutro estudo (Book et al., 2011). Num estudo em 14 cães com metastização medular, 10 também apresentaram metastização nos linfonodos regionais, 11 infiltração no fígado e/ou baço, três apresentaram metastização pulmonar, considerada extremamente rara e em um caso metastização renal bilateral, pelo que a presença de mieloptise deverá corresponder a um estado terminal de disseminação sistêmica. O TMS foi apenas de 41 dias, apesar da instituição de terapia sistêmica (Marconato et al., 2008). A colocação de um paciente no estadio IV implica a necessária utilização de tratamento sistémico (London & Thamm, 2013).

A presença de sinais clínicos sistémicos, correspondente ao sub-estadio *b*, foi associada a um prognóstico significativamente pior, em mastocitomas múltiplos (Mullins et al., 2006).

8.6. Outros fatores de prognóstico

Após a excisão cirúrgica, a recidiva local do tumor está associada a um mau prognóstico, quer devido à morte do animal por consequente progressão da doença, quer devido a eutanásia (Jaffe et al., 2000b; Cahalane et al., 2004; Hahn et al., 2004; Stefanello et al., 2009; O'Connell & Thomson, 2013;), pelo que terapia loco-regional agressiva logo desde o início do tratamento é recomendada, de modo a tentar evitar ou atrasar a recorrência da neoplasia (London & Thamm, 2013).

O rápido crescimento do tumor está associado a um pior prognóstico. Num estudo, 83% dos cães que já apresentavam o tumor há mais de 28 semanas previamente à excisão cirúrgica, o que é associado a um crescimento lento, sobreviveram pelo menos 30 semanas, enquanto apenas 25% dos cães com o tumor descoberto menos de 28 semanas antes da cirurgia atingiram as 28 semanas ainda com vida (Bostock, 1973 referido por London & Thamm 2013).

O tamanho do tumor também é um fator de prognóstico. Tumores de diâmetro superior a 3 cm de diâmetro relacionam-se com um pior prognóstico (Hahn et al., 2004).

A elevação das enzimas hepáticas, por estar associada a infiltração hepática do mastocitomas, também se relacionou com um pior prognóstico (Camps-Palau et al., 2007).

A densidade de microvasos intratumorais relaciona-se significativamente com o prognóstico, assim como com o grau de agressividade local do tumor e o IM, pelo que pode ser utilizada como fator de prognóstico e demonstra a importância da neoangiogénese na agressividade do tumor (Preziosi et al., 2004; Patruno et al., 2009).

A medição computadorizada da área nuclear em citologias de mastocitomas cutâneos caninos também demonstrou relação significativa entre o tamanho do núcleo das células neoplásicas com o prognóstico, particularmente na divisão dos mastocitomas de grau II com comportamento benigno e maligno, mas a necessidade de utilização de equipamentos e *software* especiais torna o seu uso pouco prático (Strefezzi et al., 2009).

O número de cromossomas presentes nas células tumorais de mastocitomas cutâneos caninos e respectivas metástases foi estudado, parecendo haver uma tendência para a aneuploidia (número anormal de cromossomas) em estadios avançados da doença, mas este parâmetro tem pouco valor clínico e prognóstico (Ayl et al., 1992). Recentemente, a análise do transcriptoma em mastocitomas caninos permitiu identificar um painel de biomarcadores que quando usados em conjunto apresentam elevado valor prognóstico (Giantin et al., 2014).

9. Diagnóstico

O diagnóstico dos mastocitomas cutâneos é estabelecido, na maioria dos casos, por análise da citologia por PAAF, utilizando corantes rápidos ou coloração de Romanowsky. Os mastócitos apresentam-se como células de tamanho pequeno a intermédio, com grânulos citoplasmáticos abundantes, pequenos e uniformes, de cor púrpura. O núcleo está normalmente localizado centralmente. Critérios de malignidade não são muito frequentes, e incluem anisocitose, anisocariose, células multinucleadas, múltiplos nucléolos visíveis e figuras mitóticas. Pleomorfismo marcado é pouco comum e está normalmente associado a um grau histológico elevado. Em tumores pouco diferenciados os grânulos podem ser escassos e tornar o diagnóstico citológico e a diferenciação de outros tumores de células redondas difícil. Ainda assim, geralmente alguns grânulos podem ser identificados. A coloração de Wright-giemsa (figura 12) ou com azul de toluidina torna os grânulos mais facilmente visíveis. Colorações rápidas, à base de água, como por exemplo a coloração *Diff-quick*, podem causar a perda dos grânulos, dificultando o diagnóstico, ou sugerindo baixa diferenciação do tumor (figura 13). Na citologia dos mastocitomas, os mastócitos aparecem em elevada quantidade e geralmente são acompanhados por muitos eosinófilos, por alguns fibroblastos reativos e por bandas de colagénio (Friedrichs & Young, 2013; London & Thamm, 2013). Através da citologia não é possível determinar com precisão o grau histológico. A morfometria computadorizada em esfregaços citológicos permite fazer esta associação, mas são necessários equipamentos e *software* especializados (Strefezzi et al., 2009; Barbosa et al., 2014). É comum os clínicos tentarem fazer essa associação através da quantidade de grânulos e morfologia celular, mas além de subjectivo, é uma técnica sem evidências que suportem a sua utilização. Recentemente, avaliou-se a aplicação dos critérios do sistema de classificação histológica de Kiupel em citologias de mastocitomas cutâneos, analisando-se um total de 1000 mastócitos por lâmina. Em 50 casos, houve uma concordância de 94% entre a classificação citológica e a histológica. No entanto, esta técnica apresenta uma tendência para subvalorizar o grau histológico, pelo que, apesar de poder ser útil na prática clínica, não pode substituir a classificação histológica (Scarpa et al., 2014).

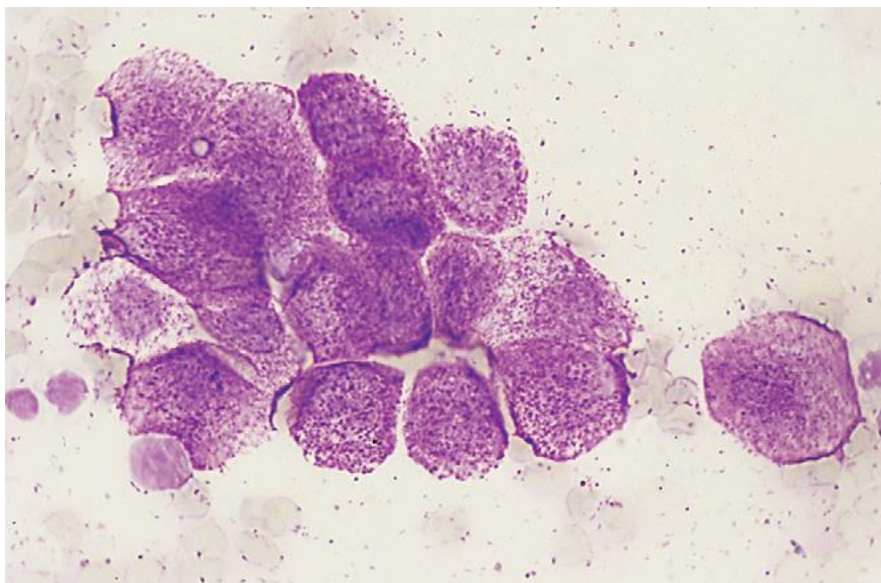


Figura 10. Citologia de mastocitoma canino. Note-se a presença dos grânulos citoplasmáticos. Neste caso as células apresentam intensidade de coloração dos grânulos variável e anisocariase, sugerindo um tumor de diferenciação intermédia. Ampliação 1000x, coloração de Wright-giemsa. Adaptado de Raskin, 2010.

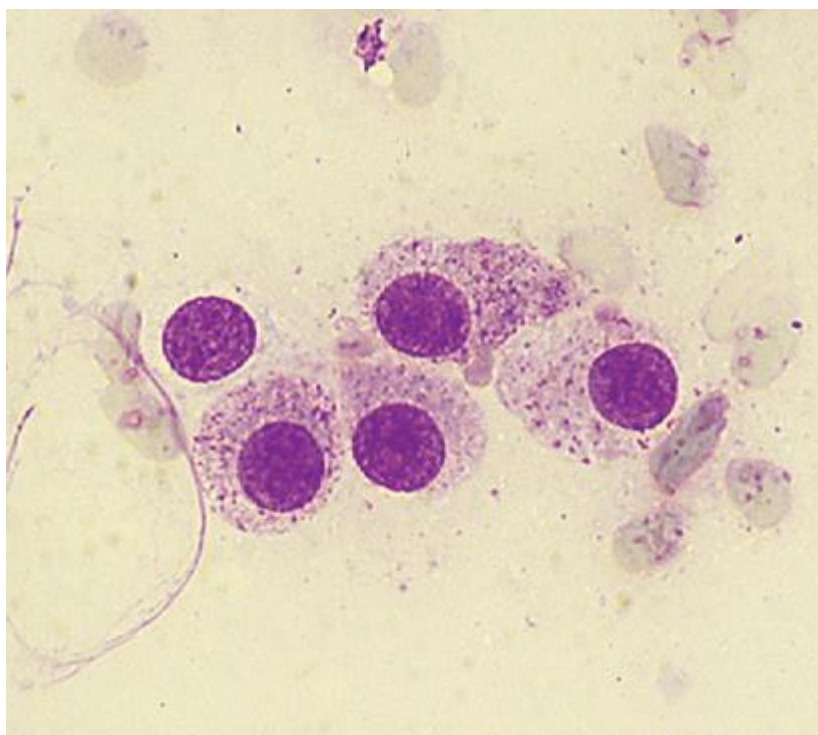


Figura 11. Citologia de mastocitoma cutâneo canino. O corante à base de água causou perda de grânulos, sugerindo um tumor pouco diferenciado. Ampliação 1000x, coloração do tipo Wright. Adaptado de Raskin, 2010.

Tumores compostos por mastócitos neoplásicos muito pouco diferenciados podem necessitar de avaliação histológica ou mesmo imunohistoquímica, após biópsia excisional ou incisinal para se estabelecer o diagnóstico. Podem-se usar o corante de azul de toluidina, que

aumenta a sensibilidade da visualização dos grânulos, e a imunorreatividade à vimentina, ao Kit ou à triptase mastocitária, que são os métodos imunohistoquímicos mais sensíveis para identificação de mastocitomas. A utilização de marcadores para exclusão de outras linhas neoplásicas também pode ser útil (Ozaki et al., 2002; London & Thamm, 2013).

Além do diagnóstico do mastocitoma, é importante fazer o estadiamento da neoplasia e pesquisar alterações para-neoplásicas. Hemograma e perfil bioquímico são recomendados em todos os casos, assim como PAAF do linfonodo regional, sempre que seja possível. O estadiamento completo inclui ecografia abdominal, PAAF do fígado, baço e da medula óssea, radiografia torácica e análise do *Buffy coat*. London & Thamm, 2013 apenas recomendam o estadiamento completo nos casos em que a avaliação clínica ou a classificação histológica determinem existirem critérios de prognóstico negativo.

Apenas 26% dos casos com metastização no linfonodo regional apresentaram esse linfonodo aumentado à palpação, o que, associado ao valor prognóstico da presença de metástases, evidencia a importância de avaliar sempre, pelo menos por citologia, o linfonodo regional, independentemente da sua morfologia e tamanho (Chaffin & Thrall, 2002). O tamanho de um linfonodo é considerado normal quando o eixo curto é inferior a 10 mm e considerado aumentado quando o eixo curto é superior a 15 mm (Eisenhauer et al., 2009). Os critérios utilizados para a determinação citológica da existência ou não de metastização nos linfonodos são ainda alvo de alguma discussão, uma vez que a presença de alguns mastócitos nos linfonodos é normal, e podem inclusive aparecer em número aumentado devido a reatividade à ulceração ou inflamação, muitas vezes associadas à presença do mastocitoma (Krick et al., 2009; London & Thamm, 2013). Recentemente, Krick et al. 2009 propôs um sistema de avaliação citológica do linfonodo regional que demonstrou ter significado prognóstico quando aplicado (quadro 5).

Tal como já referido no capítulo anterior, a disseminação do mastocitoma para os órgãos abdominais, embora seja um indicador de prognóstico bastante negativo, não é muito comum e por isso a realização de ecografia abdominal e PAAF de órgãos abdominais só é recomendada por London & Thamm, 2013 quando existem dados que suportem um alto risco de metastização. Num estudo, concluiu-se que a punção aspirativa do fígado e baço de cães com mastocitoma cutâneo mas sem alterações ecográficas não deveria ser realizada, uma vez que não se encontraram diferenças significativas entre a presença de mastócitos nestes órgãos em cães com e sem mastocitoma cutâneo e não foram encontrados parâmetros que permitissem distinguir o normal da infiltração metastática, além de que a realização de punção aspirativa destes órgãos apresenta o risco de causar hemorragia (Finora et al., 2006). Tal como já foi referido para a pesquisa de infiltração neoplásica dos linfonodos, a determinação dos critérios que permitem classificar como positiva ou negativa a presença de metástases influencia as conclusões deste tipo de estudos (Finora et al., 2006). No entanto, vários outros

estudos apresentaram resultados diferentes. Os órgãos abdominais mais vezes afectados são o fígado, baço e linfonodos, mas os achados ecográficos, como por exemplo aumento do tamanho e da ecogenecidade dos órgãos, heterogenicidade do parênquima e nódulos hipoeecogénicos são altamente inespecíficos. Pode inclusivamente existir infiltração neoplásica nestes órgãos sem que sejam encontradas quaisquer alterações ecográficas, uma vez que a sensibilidade da ecografia para detetar metastização abdominal do mastocitoma é baixa. Portanto, para fazer o estadiamento do mastocitoma canino, a ecografia abdominal, por si só, tem pouco valor e, por isso, deve ser acompanhada de PAAF ou biópsia do fígado, baço e outros órgãos que apresentem imagens ecográficas suspeitas, quando a avaliação do risco de metastização assim o determinar (Sato & Solano, 2004; Stefanello et al., 2009; Book et al., 2011).

Quadro 5. Critérios citológicos para determinação da presença de metastização de mastocitomas nos linfonodos regionais. Adaptado de Krick et al., 2009.

Metastização	Descrição
Ausente	Mastócitos não visualizados.
Possível	Em pelo menos uma lâmina, duas a três incidências de mastócitos em agregados de duas a três células.
Provável	Em pelo menos uma lâmina, mais de três agregados de dois a três mastócitos e/ou dois a cinco agregados de mais de três mastócitos.
Presente	Em pelo menos uma lâmina, substituição do tecido linfóide por mastócitos, e/ou presença de mastócitos agregados, pouco diferenciados com pleomorfismo, anisocitose, anisocariose e/ou baixa granulação, e/ou mais de cinco agregados de mais de três mastócitos.

As radiografias torácicas com o objetivo de fazer o estadiamento do mastocitoma canino não são recomendadas, uma vez que a metastização para os órgãos torácicos é extremamente rara (Camps-Palau et al., 2007; London & Thamm, 2013). Por vezes, linfadenopatia intratorácica, devido a metastização do mastocitoma, pode ser evidenciada nas radiografias (London & Thamm, 2013). Em 14 cães com metastização medular, 21% apresentaram metastização pulmonar, pelo que neste caso a sua utilidade é superior (Marconato et al., 2008). A ecografia ou a tomografia computadorizada permitem uma melhor determinação do grau de invasão do tumor, e consequentemente uma melhor planificação da cirurgia e/ou radioterapia (Hahn et al. 1990 referido por London & Thamm 2013).

A presença de mieloptise apenas foi encontrada em 2,8% dos casos de mastocitoma cutâneo durante o estadiamento inicial e em 4,5% quando incluindo casos de recidivas e progressão da doença (Endicott et al., 2007). Em nove casos de mastocitose sistémica, cinco apresentaram número elevado de mastócitos na citologia da medula óssea (O'Keefe et al. 1987

referido por Endicott et al. 2007). Fatores associados à infiltração neoplásica da medula óssea foram neutrofilia, monocitose, eosinofilia, basofilia, anemia, anemia não regenerativa, trombocitopenia, elevação dos tempos de coagulação, recidiva local e doença progressiva, pelo que fazer a punção aspirativa da medula óssea é uma escolha que pode ser reservada para quando existem alterações no hemograma que o indiquem e recidiva ou progressão da neoplasia (Endicott et al., 2007; Marconato et al., 2008). Marconato et al., 2008 identificou, em 14 cães com infiltração da medula óssea, que apresentavam mastócitos correspondendo de 7% a 33% das células nucleadas, cinco casos sem alterações no hemograma, pelo que sugere que outros parâmetros devem ser avaliados, além do hemograma, antes de excluir a possibilidade de mieloptise.

Seis em 16 cães com mastocitose sistêmica apresentaram mastocitemia na avaliação do esfregaço periférico ou do *buffy coat* (O'Keefe et al., 1987). Este achado é muitas vezes referido como sendo sinal de mastocitose sistêmica. No entanto, num outro estudo, os casos de mastocitoma corresponderam apenas a 4,5% dos casos de mastocitemia e, mesmo nesses casos, o número médio de mastócitos encontrados no *buffy coat* foi significativamente inferior ao dos casos em que os cães não tinham mastocitoma. A maioria dos casos de mastocitemia estava associada a doenças inflamatórias, anemia regenerativa, outras neoplasias e trauma (McManus, 1999 referido por Endicott et al. 2007).

A inclusão rotineira da avaliação da *buffy coat* no estadiamento do mastocitoma é, hoje em dia, desaconselhada, à exceção dos casos em que há presença de mastocitose sistêmica (London & Thamm, 2013).

10. Tratamento

No tratamento do mastocitoma, cada caso é único. Uma vez que a variedade do comportamento biológico da neoplasia é tão grande, também o leque de opções terapêuticas é alargado. Cada caso deve ser avaliado individualmente, e o clínico e o proprietário devem escolher a opção que melhor responda às necessidades e possibilidades das várias partes envolvidas.

Na avaliação da resposta ao tratamento são avaliados parâmetros como o TMS, TLD, a taxa de sobrevivência ao fim de determinado período de tempo e a resposta tumoral ao tratamento. A resposta tumoral apenas pode ser avaliada quando existem lesões mensuráveis, isto é, tumores com diâmetro superior a 10 mm e linfonodos com eixo curto superior a 15 mm e, por isso, é normalmente aplicada em tumores não ressectáveis, tratados com outras modalidades terapêuticas que não a cirurgia. Na avaliação da resposta tumoral são medidos e somados os diâmetros de até cinco lesões, utilizando o maior diâmetro nos tumores e o eixo

curto nos linfonodos. Essa medição deve ser realizada antes de iniciar o tratamento e, a resposta, avaliada posteriormente à implantação da terapêutica. A resposta tumoral classifica-se em doença progressiva, doença estável, remissão parcial (RP) ou remissão completa (RC). A soma das duas últimas é denominada resposta total. Os critérios para determinação da resposta tumoral apresentam-se no quadro 6 (Eisenhauer et al., 2009).

Quadro 6. Critérios de determinação da resposta tumoral. Adaptado de Eisenhauer et al., 2009.

Resposta tumoral	Definição
Remissão completa	Diminuição de 100% do tamanho tumoral e linfonodos <10 mm no eixo curto.
Remissão parcial	Diminuição de pelo menos 30% do tamanho tumoral.
Doença estável	Diminuição de no máximo 30% a aumento de no máximo 20% do tamanho tumoral.
Doença progressiva	Aumento de pelo menos 20% e um aumento absoluto de pelo menos 5 mm do tamanho tumoral.

Independentemente do tipo de terapia aplicada, todos os casos deverão ser regularmente acompanhados, pelo menos com exame físico, dando especial atenção à pesquisa de recidiva local e metastização para os linfonodos regionais, realizando PAAF de qualquer nova lesão que possa aparecer. Casos de mastocitomas de alto risco, isto é, com a presença de fatores de prognóstico negativo, deverão ser acompanhados com maior intensidade e com a utilização de métodos complementares de diagnóstico como as análise de sangue e ecografia abdominal de modo a acompanhar o estadio da doença (London & Thamm, 2013).

10.1. Controle local

Sempre que possível, a excisão cirúrgica é a primeira opção terapêutica na abordagem dos mastocitomas cutâneos caninos. Tal como referido anteriormente, a recidiva local é um fator negativo de prognóstico e portanto considera-se essencial o adequado controle local dos mastocitomas, o que é definido pela presença de margens histológicas limpas após excisão cirúrgica do tumor, ou a aplicação de radioterapia após excisão cirúrgica com margens histológicas incompletas (Thamm et al., 2006). Empiricamente, a excisão cirúrgica com três centímetros de margens ao redor do tumor e um mínimo de um plano fascial em profundidade costuma ser recomendada (London & Thamm, 2013). As margens cirúrgicas relacionam-se obviamente com as margens histológicas, embora a conservação das peças histológicas em formol cause a redução do seu tamanho (Schultheiss et al., 2011). Determinou-se que utilizar margens cirúrgicas laterais de apenas dois centímetros, permite atingir margens histológicas limpas, isto é, sem presença de mastócitos nas margens da peça anatómica tal como observado no corte histológico, em 91% a 100% dos casos, sendo que a maioria dos casos em

que esse objectivo não foi atingido se deveu principalmente à presença de células neoplásicas em profundidade e não lateralmente. Estes estudos apenas incidiram sobre tumores de grau I e II, e em ambos a taxa de recidivas locais foi de 0%, no entanto, as suas conclusões não devem ser aplicadas a tumores de grau histológico III (Simpson et al., 2004; Fulcher et al., 2006). Cães de pequeno porte e tumores de dimensões elevadas foram associados a dificuldade em obtenção de margens histológicas adequadas, enquanto tumores localizados nas extremidades não apresentam resultados concordantes entre estudos (Simpson et al., 2004; Monteiro et al., 2011). Alguns autores consideram que as margens propostas anteriormente são, em alguns casos, demasiado agressivas e podem inclusive levar os clínicos a considerar um tumor como não ressectável, ou mesmo a considerar cirurgias mais agressivas como a amputação, em casos em que talvez uma cirurgia pouco agressiva poderia ser curativa. Pratschke et al., 2013 sugeriu a utilização de margens cirúrgicas proporcionais ao diâmetro do tumor. As margens propostas teriam, lateralmente, o equivalente ao maior diâmetro do tumor, até um máximo de quatro centímetros e, em profundidade, pelo menos um plano fascial. Os resultados são comparáveis aos de outros estudos, com 85% de margens histológicas limpas, considerando que neste estudo incluíram-se tumores de grau III. É sugerida a utilidade desta técnica principalmente em zonas com pouco tecido disponível para a reconstrução cutânea ou em casos de tumores múltiplos (Pratschke et al., 2013). No sentido contrário, Schultheiss et al., 2011, não encontrou qualquer relação entre o diâmetro do tumor e o tamanho das margens histológicas, o que não suporta a utilização de margens cirúrgicas proporcionais ao tumor.

Vários estudos indicam que margens histológicas incompletas nem sempre originam a ocorrência de recidivas locais, assim como margens cirúrgicas limpas não são garantia de que não irá ocorrer recidiva local do mastocitoma (Michels et al., 2002; Weisse et al., 2002; Simpson et al., 2004; Fulcher et al., 2006; Thompson et al., 2011b; Donnelly et al., 2013; Pratschke et al., 2013). Apesar da utilidade de conhecer as margens histológicas, a sua interpretação continua bastante difícil. Para explicar o facto de muitos tumores com margens histológicas incompletas não recidivarem, foi sugerido que, por vezes, os mastócitos presentes na periferia do tumor são, na realidade, mastócitos saudáveis constituintes da resposta inflamatória, ou então que a intervenção cirúrgica poderia facilitar a destruição imuno-mediada das poucas células neoplásicas não excisadas (Fife et al., 2011). A incerteza relativamente ao valor das margens histológicas pode confundir o clínico em relação aos passos a seguir na terapêutica, portanto é recomendado que se avaliem sempre outros fatores de prognóstico e a relação risco benefício da aplicação de medidas terapêuticas como a quimioterapia e a radioterapia em cada caso específico (Pratschke et al., 2013).

Num estudo, a taxa de recidivas, locais ou distantes, aos 12 e aos 24 meses, de tumores com margens histológicas limpas foi de 21% e 28% e de tumores com margens histológicas incompletas foi de 71% e 86%, respetivamente, o que apoia a importância de obter margens histológicas limpas, através da aplicação de margens cirúrgicas adequadas. Neste

estudo, não se referem os critérios para classificação das margens histológicas (Michels et al., 2002). Em outro estudo, a importância das margens histológicas foi confirmada, já que nenhum tumor com margens laterais e em profundidade superiores ou iguais a 10 mm e 4mm, respectivamente, recidivaram localmente (Schultheiss et al., 2011). Outro estudo recente falhou na tentativa de estabelecer margens histológicas padrão que se relacionem com as probabilidades de recidivas locais. Em tumores de grau histológico III, com margens histológicas limpas, apesar de estas melhorarem o prognóstico, 36% recidivaram localmente, enquanto em tumores de grau II isso apenas aconteceu em 11% dos casos. Os resultados destes estudos, demonstram que é importante atingir margens histológicas limpas, que é essencial que o patologista indique as margens histológicas e que, na maioria das vezes, o adequado controle local do tumor é curativo, mas que, ainda assim, tratamento loco-regional agressivo deve ser aplicado em tumores com alto risco de metastização, mesmo quando as margens são consideradas limpas (Hume et al., 2011; Weisse et al., 2002; Donnelly et al., 2013). Assim, nos casos em que a excisão completa do tumor é considerada possível, mas o relatório histopatológico indica que as margens histológicas são incompletas é aconselhado que se apliquem novas ações terapêuticas no sentido de garantir adequado controle local do tumor, as quais passam pela nova cirurgia, repetindo a utilização de margens cirúrgicas adequadas ao redor da cicatriz (figura 14), ou a utilização de radioterapia para eliminação da doença microscópica (London & Thamm, 2013).



Figura 12. Nova excisão cirúrgica, com uma margem cirúrgica de 3cm ao redor da cicatriz, após obtenção de margens histológicas incompletas aquando da excisão do mastocitoma cutâneo. Adaptado de London & Thamm 2013.

Em 98% dos mastocitomas de origem primária no tecido subcutâneo em que se observaram margens histológicas limpas, definidas pela ausência de mastócitos a menos de 1 mm da margem, a excisão cirúrgica foi curativa, sem que houvessem recidivas (Thompson et al., 2011b).

Após a excisão cirúrgica de 30 mastocitomas localizados na conjuntiva, todos apresentaram margens histológicas incompletas, no entanto apenas um recidivou localmente,

pelo que cirurgia agressiva nestes casos, que implicaria enucleação ou blefaroplastias extensas, não é recomendada, assim como a radioterapia, associada ao desenvolvimento de queratoconjuntivite seca, retinopatias e cataratas (Fife et al., 2011).

Quando a avaliação de um tumor determina que é pouco provável que se consiga efectuar a excisão cirúrgica com margens adequadas, uma biópsia incisional é o passo mais adequado para determinar o grau do mastocitoma (London & Thamm, 2013).

Quando a excisão completa de um mastocitoma não é possível, London & Thamm, 2013 sugerem quatro opções terapêuticas para o controlo local da neoplasia. A primeira opção, caso se trate de um membro, é a amputação do mesmo, que deve ser reservada para os casos mais complicados de tumores agressivos em que se conclua não existirem outras opções terapêuticas eficazes (London & Thamm, 2013). Outra opção é a aplicação exclusiva de radioterapia. Apesar de não ser ideal, a utilização de radioterapia hipofracionada, numa dose total de 32 Gy dividida em quatro sessões separadas por uma semana, precedida e acompanhada por prednisolona, apresentou uma resposta total de 89%, sendo que 34% dos tumores atingiram RC e 54% RP, com um período livre de progressão da doença mediano de 1031 dias (Dobson et al., 2004). Outros estudos também evidenciam a utilidade da radioterapia como tratamento primário de tumores não ressectáveis, com 50% de controlo ao fim de um ano, utilizando doses de 40 a 50 Gy (Gillette, 1974, Allan & Gillette, 1979, Turrel et al. 1988 e LaDue et al. 1998 referidos por London & Thamm 2013). A terceira opção, e segundo London & Thamm, 2013 a mais recomendada, para tratamento de mastocitomas não ressectáveis é a cirurgia citoreductiva acompanhada de radioterapia. Com esta abordagem, em 56 cães em quem foram aplicadas doses de radioterapia de 45 a 57 Gy, após cirurgia citorreductiva e com doença microscópica, o TLD mediano foi de 54 meses, enquanto em cães com doença macroscópica, quer tenham sido alvo de cirurgia citorreductiva ou não, o TLD mediano foi de 12 meses, evidenciando a importância da redução do tamanho do tumor, previamente à aplicação de radioterapia (LaDue et al., 1998). Noutro estudo, apenas com mastocitomas de grau II em estadio 0, após citorredução cirúrgica, utilizando uma dose de 48 Gy dividida em 15 frações, conseguiu-se controlo local da neoplasia em 94% dos casos ao fim de três anos e 98% de sobrevivência ao fim dos mesmos três anos (Poirier et al., 2006). Outros estudos suportam o valor da cirurgia citorreductiva seguida de radioterapia definitiva (al-Sarraf et al., 1996; Frimberger et al., 1997). Esta opção apresenta resultados semelhantes aos encontrados em tumores de grau II excisados cirurgicamente com margens adequadas (Weisse et al., 2002). A quarta opção proposta é a cirurgia citorreductiva acompanhada de quimioterapia, que é recomendada em situações em que a radioterapia não está disponível ou não é viável economicamente (London & Thamm, 2013). Os vários protocolos de quimioterapia reportados na bibliografia são apresentados mais à frente neste capítulo.

Outros métodos terapêuticos reportados na bibliografia veterinária para controlo local de mastocitomas cutâneos, alguns deles com resultados muito interessantes, incluem hipertermia em conjunto com radioterapia, braquiterapia intralesional, terapia fotodinâmica, administração intralesional de corticosteróides, crioterapia e eletroquimioterapia (Legorreta et al. 1988, Frimberger et al. 1998, Tanabe et al. 2004, Northrup et al. 2005, Spugnini et al. 2006, Kodre et al. 2009, Spugnini et al. 2011 referidos por London & Thamm 2013; Suzuki et al. 2014). Note-se que nenhuma destas alternativas está tão bem estudada nem tão disponível como a cirurgia ou a radioterapia (London & Thamm, 2013). A utilização de água destilada intralesional foi sugerida como uma medida adjuvante à excisão cirúrgica, efectiva no controlo local da neoplasia (Grier et al. 1990 e Grier et al. 1995 referidos por London & Thamm 2013), mas estudos recentes não encontraram nenhuma vantagem, sendo a sua utilização desaconselhada (Jaffe et al., 2000a; Brocks et al., 2008).

10.2. Controlo loco-regional

Sabendo que a presença de metástases nos linfonodos regionais, correspondente ao estadio II, é um fator de prognóstico negativo, é recomendada, sempre que a avaliação do risco se justifique, fazer o tratamento dos linfonodos regionais junto com o tratamento do tumor primário, ao que se chama terapia loco-regional. A irradiação profiláctica do linfonodo regional (IPL), ao mesmo tempo que se irradia o local do tumor, em mastocitomas de grau II e III é uma prática comum em muitas instituições, recomendada independentemente da presença ou não de metástases na altura do diagnóstico, uma vez que a possível metastização subsequente é um acontecimento clínico significante (LaDue et al., 1998).

Thamm et al., 2006 preconiza a excisão cirúrgica de linfonodos com infiltração neoplásica, aquando da excisão do tumor primário.

Num estudo em que se irradiaram os linfonodos de 19 cães com mastocitomas maioritariamente de grau II e em estadio II, o TLD foi de 1240 dias, com apenas uma recidiva de tumor no linfonodo (Chaffin & Thrall, 2002). Noutro estudo apenas com mastocitomas de grau III, a utilização de radioterapia em linfonodos com metástases estendeu o TMS de 89 para 240 dias (Hume et al., 2011).

Em cães com mastocitomas cutâneos de alto risco, com a utilização de IPL, 80% dos pacientes mantiveram-se livres da neoplasia ao fim de um ano, em comparação com apenas 56% nos casos em que não foi utilizada (Thamm et al., 2006). Um estudo em cães com mastocitomas cutâneos de grau III incompletamente excisados avaliou a resposta à radioterapia loco-regional, com IPL, numa dose total de cerca de 52 Gy dividida em 18 frações em dias alternados. O período de remissão mediano foi de 27,7 meses e o TMS foi 28 meses, sendo que ao fim de um ano a taxa de remissão era de 65% e sobrevivência era de 71%. Este estudo também suporta a utilização de radioterapia loco-regional, com irradiação da cicatriz e

IPL, como método de tratamento de mastocitomas de grau III sem metastização na altura do diagnóstico, apesar de que 17 em 31 cães acabaram por morrer durante o período de acompanhamento, 16 dos quais devido a metastização para os linfonodos regionais e um devido a disseminação sistémica. (Hahn et al., 2004). Em 42 casos de mastocitoma cutâneo maioritariamente de grau II, 10 apresentavam na altura do diagnóstico metástases nos linfonodos regionais. Após terapia loco-regional incluindo a utilização de radioterapia definitiva dirigida aos linfonodos regionais, apenas um dos 10 linfonodos apresentou recidiva da neoplasia e um outro caso, previamente sem metástases, desenvolveu-as fazendo com que o prognóstico deste estadio não tenha sido estatisticamente diferente do estadio I, enaltecendo não só o valor da terapia loco-regional na presença de metástases, mas também a utilização de IPL para prevenir o desenvolvimento de metástases (LaDue et al., 1998). Noutro estudo, em mastocitomas de grau II, com adequado controlo local do tumor utilizando cirurgia e radioterapia, a utilização de IPL não alterou o prognóstico relativamente aos animais que não receberam IPL (Poirier et al., 2006).

10.3. Terapia sistémica

Um grupo de fármacos muito utilizado no tratamento de mastocitoma canino são os glucocorticóides. Foram identificados recetores de glucocorticóides em células neoplásicas de mastocitomas cutâneos e gastrointestinais caninos (Takahashi et al. 1997; Matsuda et al. 2011 referido por London & Thamm 2013). No entanto, a acção citolítica dos glucocorticóides não parece exercer-se em mastocitomas gastrointestinais (Takahashi et al., 1997). Em mastocitomas cutâneos, a resposta aos glucocorticóides é variável e está relacionada com o nível da expressão do seu recetor nas células neoplásicas (Matsuda et al., 2011). A acção anti-inflamatória com consequente diminuição do edema peri-tumoral, também contribui para a aparente diminuição do volume tumoral após administração de glucocorticóides (London & Thamm, 2013). Em duas semanas de utilização de prednisolona na dose de 40mg/m²/dia por via oral causou RP de mastocitomas cutâneos em 75% dos casos. Após esse período iniciou-se radioterapia, impedindo a avaliação da resposta a longo prazo (Dobson et al., 2004). Noutro estudo, a utilização de prednisona por via oral, antes da excisão cirúrgica, durante uma mediana de 10 dias, nas doses de 1 ou 2,2 mg/Kg/dia, permitiu 70% de resposta total do tumor ao fármaco, sendo que 13% corresponderam a RC. A dose utilizada não causou diferenças estatísticas na resposta da neoplasia ao fármaco. A mediana da redução de volume dos tumores foi de 81%, concluindo-se que a utilização pré-cirúrgica da prednisona é útil para fazer diminuir o tamanho do tumor e assim facilitar a excisão cirúrgica, nos casos em que esta é considerada difícil (Stanclift & Gilson, 2008). Num estudo sobre a utilização de prednisona e avaliação do seu efeito ao fim de 28 dias, um período mais longo que nos estudos anteriores, na dose de 1mg/Kg/dia por via oral, apenas 20% de 25 mastocitomas cutâneos responderam à utilização do fármaco, sendo que apenas 4% apresentou RC ao fim desse período (McCaw et al. 1994 referido por London & Thamm 2013). A discrepância de valores entre estes estudos,

sugere Stanclift & Gilson, 2008, deve-se ao facto de que no estudo de McCaw et al., 1994 a resposta ao tratamento apenas foi avaliada ao fim dos 28 dias, podendo-se ter negligenciado respostas efectivas à prednisona, mas de curta duração. Conclui-se assim que a utilização de glucocorticóides como a prednisona ou a prednisolona é efectiva numa parte dos casos de mastocitoma cutâneo canino, pelo menos a curto prazo.

Vários estudos analisaram a utilização de terapia sistémica, incluindo quimioterapia, como opção terapêutica primária em mastocitomas cutâneos não excisáveis cirurgicamente (tabela 29). A aplicação destes protocolos em cães com neoplasia mensurável, mesmo os que apresentam taxas de resposta elevadas, não impede, na maioria dos casos, que os tempos de sobrevivência sejam significativamente curtos, quando comparado com os casos em que o controlo local do tumor é conseguido. Porém, em alguns casos, a RC persiste por períodos longos de tempo, por vezes anos (McCaw et al., 1994; McCaw et al., 1997; Gerritsen et al., 1998; Rassnick et al., 1999; Thamm et al., 1999; Camps-Palau et al., 2007; Henry et al., 2007; Rassnick et al., 2008; Cooper et al., 2009; Taylor et al., 2009; Malone et al., 2010; Rassnick et al., 2010a; Rassnick et al., 2010b). Da análise da tabela 29 pode-se verificar que protocolos que combinam mais que um fármaco apresentam resultados mais positivos e que a utilização de vinblastina é transversal aos protocolos quimioterápicos mais eficazes. Os efeitos adversos da quimioterapia são geralmente bem controlados, mas a utilização de lomustina no tratamento do mastocitoma canino está associada a uma taxa de efeitos adversos superior à de outros quimioterápicos (Rassnick et al., 1999; Cooper et al., 2009; Rassnick et al., 2010b). A utilização de calcitriol como agente anti-tumoral único, apesar de provocar resposta em 40% dos mastocitomas caninos estudados, causou efeitos adversos severos numa percentagem inaceitável dos animais em estudo. No entanto, estudos *in vitro* demonstram que o calcitriol atua sinergicamente com outros quimioterápicos convencionais, pelo que estudos futuros deverão estudar o efeito da utilização desta substância em doses menores, em protocolos anti-tumorais que incluam outras substâncias quimioterápicas (Malone et al., 2010).

Mastocitomas cutâneos, passíveis de serem excisados cirurgicamente, em que são identificados fatores de prognóstico negativo, tal como descrito anteriormente, devem ser alvo de terapia sistémica adjuvante à terapia local ou loco-regional, considerando que apresentam alto risco de metastização, de modo a diminuir esse risco ou atrasar a progressão da neoplasia (London & Thamm, 2013). Além da aplicação de terapia sistémica como terapia primária, tal como descrito no parágrafo anterior, também existem evidências sobre a utilização de protocolos quimioterápicos como terapia adjuvante, as quais são apresentadas nos parágrafos seguintes.

Tabela 29. Resposta tumoral à terapia sistêmica em mastocitomas cutâneos mensuráveis.

Fármaco	n	RC	RP	RT	PMR	Estudo
Vincristina	27	0%	7%	7%	NR	McCaw et al., 1997
Vinblastina	34	6%	6%	12%	NR	Henry et al., 2007
Prednisona	25	4%	16%	20%	NR	McCaw et al., 1994
Vinblastina*	51	0-4%	12-23%	12-27%	23-77dias	Rassnick et al., 2008
Hidroxiureia	46	4%	24%	28%	60 dias	Rassnick et al., 2010a
hCG/BCG	21	14%	14%	29%	NR	Henry et al., 2007
Calcitriol	10	10%	30%	40%	82 dias	Malone et al., 2010
Lomustina	19	5%	37%	42%	77 dias†	Rassnick et al., 1999
Clorambucil/Pred	21	14%	29%	43%	533 dias	Taylor et al., 2009
Prednisona/Vinb	15	33%	13%	47%	154 dias	Thamm et al., 1999
Vinb/Lomustina	37	24%	32%	57%	354 dias	Cooper et al., 2009
Vinc/Cic/Hid/Pred	17‡	23%	35%	59%	53 dias	Gerritsen et al., 1998
Vinb/Cic/Pred	11	46%	18%	64%	74 dias	Camps-Palau et al., 2007
Vinb/Lomust/prednisona	17	30%	35%	65%	125 dias	Rassnick et al., 2010b

n: número de casos em estudo, RC: Remissão completa, RP: Remissão parcial, RT: Resposta total, PMR: Período mediano de remissão, NR: Valor não reportado, Lomust: Lomustina, Pred: Prednisolona, Vinb: Vinblastina, Cic: Ciclofosfamida, Hid: Hidroxiureia, hCG: Gonadotropina coriônica humana, BCG: *Bacillus Calmette-guerin*, *: Duas doses diferentes de vinblastina foram estudadas, †: Valor não inclui o caso de RC, eutanaziado aos 440 dias sem que houvesse progressão da doença, ‡: Em dois destes casos foi utilizada doxorrubicina e prednisolona e um apresentou RP.

A utilização de um protocolo composto por vinblastina (2mg/m² IV quatro administrações semanais, seguidas de mais quatro administrações quinzenais) e prednisona (dose inicial 2mg/Kg/dia PO), após a excisão cirúrgica dos tumores e linfonodos afectados, em mastocitomas de risco elevado de metastização, a maioria de grau histológico III, permitiu que se atingisse um TLD mediano de 1305 dias, com 65% de sobrevivência ao fim de três anos. Mais especificamente, a sobrevivência ao fim de três anos para mastocitomas grau II foi de 100% e de grau III 53%, estes com TMS de 1374 dias. Note-se que foram aplicados diferentes níveis de controlo loco-regional foram aplicados, incluindo presença de doença microscópica, re-excisão cirúrgica para atingir margens histológicas limpas ou radioterapia local e IPL (Thamm et al., 2006). Noutro estudo com vinblastina (2mg/m² IV quatro administrações semanais, seguidas de mais quatro administrações quinzenais) e prednisolona (dose inicial 1mg/Kg/dia PO), em 14 cães com mastocitoma de grau III excisados cirurgicamente, a sobrevivência ao fim de dois anos foi de 71% (Hayes et al, 2007). Estes estudos comparam-se positivamente com os resultados de vários controlos históricos de estudos que avaliaram o prognóstico apenas com excisão cirúrgica (tabela 26), em que a sobrevivência de cães com mastocitoma cutâneo de grau III foi de apenas 42% ao fim de dois anos (Simoes et al., 1994) e

de 6% ao fim de três (Patnaik et al., 1984). Outros estudos avaliaram este protocolo, com resultados aceitáveis (Thamm et al., 1999; Davies et al., 2004).

Outro protocolo, composto por lomustina (59mg/m^2 PO) e vinblastina (2mg/m^2 IV), administrados a cada duas semanas alternadamente, durante quatro a seis ciclos, foi utilizado como terapia adjuvante à excisão cirúrgica em tumores de alto risco, tendo-se obtido TLD mediano de 245 dias e TMS de 336 dias (Cooper et al., 2009). Outro protocolo semelhante, em que se adicionou, à lomustina (70mg/m^2 PO) e vinblastina em dose alta ($3,5\text{mg/m}^2$ IV), a prednisona (dose inicial 2mg/Kg/dia PO), administrados alternadamente a cada duas semanas, durante cinco ciclos, e depois a cada três semanas, durante mais cinco ciclos, alternadamente, conseguiu 489 dias de TLD mediano, estimando-se um TMS de 709 dias, sendo que o prognóstico de mastocitomas grau III foi significativamente pior que o de mastocitomas grau II (Rassnick et al., 2010b).

O protocolo que melhores resultados apresentou como terapia adjuvante ao controlo local de mastocitomas de risco elevado é composto por vinblastina ($2-2,2\text{mg/m}^2$ IV no primeiro dia de um ciclo de 21 dias) ciclofosfamida ($200-250\text{mg/m}^2$ PO ou IV no oitavo dia de um ciclo de 21 dias), e prednisona (dose inicial 1mg/Kg/dia PO), durante um período de seis meses. Importa referir que neste estudo, em 63% dos casos conseguiu-se um controlo local adequado, o que, tal como já foi anteriormente referido, melhora o prognóstico. Com este protocolo, o TLD mediano foi de 865 dias e o TMS foi de 2092 dias (Camps-Palau et al., 2007). Comparar directamente os resultados destes estudos, na sua maioria retrospectivos, é uma tarefa complicada e pode não ser a mais correcta, uma vez que as populações em estudo diferem sempre relativamente ao grau histológico dos tumores, qualidade do controlo loco-regional, tratamento dos tumores primários ou de recidivas, entre outros fatores com importância prognóstica e que obrigatoriamente levam a diferenças entre os resultados dos vários estudos que podem ser mal interpretadas.

Em três casos de mastocitoma visceral primário tratados com excisão cirúrgica e quimioterapia adjuvante com lomustina, vinblastina e prednisona (doses referidas acima), o TLD foi 137, 489 e 1436 dias (Rassnick et al., 2010b), o que se compara positivamente aos 16 dias de TMS encontrados num estudo sobre mastocitoma visceral primário (Takahashi et al., 2000).

10.4. Inibidores de tirosina quinase

Já aqui foi referido que os mastócitos neoplásicos caninos mantêm a capacidade de expressar o recetor de TQ Kit (London et al., 1996), a importância deste recetor no controlo do ciclo celular (Roskoski, 2005; Lin et al., 2006; Radin & Wellman, 2010), que parte dos mastocitomas caninos apresentam mutações do gene c-kit que conferem ao recetor Kit um estado permanentemente activado, e que a presença destas mutações está associada a um

pior prognóstico e a um padrão de distribuição do Kit anormal (Downing et al., 2002; Zemke et al., 2002; Jones et al., 2004; Webster et al., 2006). Vários fármacos com ação inibitória do recetor Kit têm vindo a ser estudados e aplicados no tratamento de mastocitomas caninos, nomeadamente o toceranib, masitinib e imatinib (London & Thamm, 2013). Os inibidores de TQ inibem competitivamente a ligação do ATP ao domínio tirosina quinase intracelular do Kit, e consequente fosforilação e transdução do sinal. Os inibidores de TQ demonstraram, *in vitro*, inibir a acção do Kit, quer na presença ou ausência de mutações auto-activantes (Liao et al., 2002; Takeuchi et al., 2012) e inibir a fosforilação do Kit e transdução do sinal em mastocitomas caninos (Pryer et al., 2003; Letard et al., 2008; Yamada et al., 2011; Kobayashi et al., 2012; Takeuchi et al., 2012;). Vários outros estudos *in vitro* demonstraram o efeito anti-neoplásico dos inibidores de TQ em células de mastocitomas caninos (Gleixner et al., 2007; Kobie et al., 2007). O efeito antitumoral destes fármacos ocorre não só pela inibição do Kit nos mastócitos neoplásicos, mas também através de acção antiangiogénica (London et al., 2003). A atividade antitumoral dos inibidores de TQ, nomeadamente do toceranib, tem sido verificada em outras neoplasias caninas, nomeadamente no adenocarcinoma das glândulas dos sacos anais, osteossarcoma, carcinoma da tiróide, carcinoma nasal, entre outros carcinomas (London et al., 2012).

Um estudo inicial confirmou a utilidade do inibidor de TQ toceranib no tratamento de mastocitomas caninos mensuráveis e concluiu que tumores possuidores de mutações do tipo DIT na região justa-membranar no gene c-kit responderam com maior frequência e durante mais tempo à acção do fármaco, com 82% de respostas, embora também tenham sido obtidas respostas em mastocitomas sem essas mutações, com 18% de respostas (London et al., 2003). Um estudo subsequente de carácter duplo cego e de grandes dimensões, em 153 cães com mastocitomas macroscópicos, encontrou 43% de resposta tumoral ao toceranib, nomeadamente 14% de RC e 28% de RP e, incluindo os casos de doença estabilizada, a atividade biológica total foi de 60%, sendo que o período mediano de remissão foi de 18 semanas e superior em tumores de grau II relativamente aos de grau III. Mais uma vez, confirmou-se que cães com a mutação do tipo DIT na região justa-membranar do gene c-kit respondem com maior frequência ao fármaco, com 60% destes a desenvolverem resposta tumoral contra apenas 31% nos tumores sem este tipo de mutações. No entanto, o período até progressão da doença foi semelhante nos dois casos. Note-se que existem outros tipos de mutações com o mesmo resultado de activação do Kit, menos frequentes, e que não foram pesquisadas neste estudo. É interessante referir que 7% dos cães tratados com o toceranib mantiveram-se com doença estável durante várias semanas, tendo apresentado respostas, quatro com RC e dois com RP, apenas ao fim de 83 a 181 dias do início do tratamento. Neste estudo a dose de toceranib utilizada foi de 3,25mg/Kg PO a cada dois dias, enquanto o tumor respondesse ao fármaco (London et al., 2009).

Um estudo de características semelhantes foi realizado para avaliar o efeito do masitinib, outro inibidor de TQ, no tratamento de 202 casos de mastocitoma cutâneo mensurável. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, relativamente à resposta tumoral ao fim de quatro e seis meses, entre a utilização do masitinib ou de um placebo, devido, segundo os autores, a uma elevada taxa de respostas espontâneas no grupo tratado com placebos e ao facto de algumas respostas que se desenvolveram, já não estarem presente ao fim desse período. Ainda assim, foram encontradas vantagens estatisticamente significativas na utilização de masitinib no tratamento de mastocitoma cutâneo canino, uma vez que o período desde o início do tratamento até à progressão da doença foi de 118 e 75 dias, com masitinib e placebo, respetivamente. A maior vantagem da utilização de masitinib, tal como do toceranib, é nos casos em que os tumores apresentam mutações activantes do Kit, com um TMS de 417 e 182 dias, nos tumores com e sem a mutação, respetivamente. A utilização do masitinib como terapia de primeira linha também se mostrou significativamente mais útil do que como terapia de resgate, independentemente da presença ou não de mutações no gene c-kit. A dose de masitinib utilizada foi 12,5mg/Kg PO uma vez por dia (Hahn et al., 2008). O acompanhamento subsequente destes cães deu origem a um novo estudo, que estudou os efeitos anti-neoplásicos do masitinib a longo prazo. Do grupo de cães tratados com masitinib, a sobrevivência ao fim de um e dois anos foi de 62% e 40%, enquanto no grupo placebo foi de 36% e 15%, respetivamente. Uma conclusão importante deste estudo foi que a resposta tumoral ao masitinib aos seis meses de tratamento é significativamente mais preditiva do prognóstico a longo prazo do que a resposta às seis semanas e que, com este fármaco, apresentar resposta tumoral ou apenas doença estável, após este período de tempo, têm valor semelhante no prognóstico a longo prazo. Dos casos controlados aos seis meses (RC e RP ou doença estável), 81% estavam vivos ao fim de dois anos, enquanto apenas 43% dos casos controlados às seis semanas se mantiveram vivos ao fim desse período de tempo. Mais uma vez confirmou-se o acrescido valor da utilização dos inibidores de TQ no tratamento de mastocitomas com mutação no gene c-kit, com 20% de RC ao fim de dois anos contra 7% de RC em tumores sem mutação (Hahn et al., 2010).

Outro inibidor de TQ cuja utilização em casos de mastocitomas caninos já foi reportada é o imatinib. No entanto, nunca foi feito nenhum estudo em larga escala tal como com os outros dois inibidores de TQ acima referidos e os artigos existente restringem-se a relatos de casos ou estudos iniciais com populações pequenas e muito heterogéneas. Ainda assim, em alguns casos já demonstrou utilidade, incluindo um caso de mastocitoma visceral e casos de metastização regional e disseminação sistémica. O período de remissão é consistentemente curto, mas note-se que os casos citados referem-se a mastocitomas com mau prognóstico (Isotani et al., 2008; Marconato et al., 2008; Yamada et al., 2011; Kobayashi et al., 2012). Marconato et al., 2008 utilizou imatinib em casos com metastização medular em que o tumor primário expressava um padrão aberrante de Kit, tendo obtido melhores resultados do que com

a utilização de outros tipos de terapia sistémica em mastocitomas semelhantes mas com padrão de Kit normal. A adição de lomustina ao protocolo com masitinib pareceu apresentar efeitos sinérgicos (Marconato et al., 2008).

Os efeitos adversos mais importantes dos inibidores de TQ são a mielossupressão e sinais gastrointestinais. Em particular, o toceranib parece predispor principalmente a sinais gastrointestinais como a diarreia e presença de sangue nas fezes (London et al., 2009; Carlsten et al., 2012) e o masitinib a sinais gastrointestinais e ainda a alterações renais com perda urinária de proteína, elevação de creatinina e ureia e formação de edemas (Hahn et al., 2008).

À semelhança do que acontece com a utilização de outros quimioterápicos convencionais, também com os inibidores de TQ os mastocitomas desenvolvem mecanismos de resistência tumoral que lhes permitem deixar de responder positivamente à utilização destas substâncias. Num estudo recente *in vitro* descobriu-se que a inibição do Kit, em mastócitos neoplásicos, com masitinib, causa a alteração da expressão de 16% do genoma celular, sendo que uma porção significativa de genes viu a sua expressão aumentada, o que foi entendido como a activação de vias celulares alternativas para estimular a proliferação celular, o que pode explicar o fenómeno de resistência tumoral aos inibidores de TQ descrito acima. Estes resultados podem abrir caminho ao desenvolvimento de fármacos de acção dirigida contra estes genes, que atuem sinergicamente com os inibidores de TQ, impedindo o desenvolvimento de resistências (Klopfleisch et al., 2012).

A incorporação de inibidores de TQ em protocolos multimodais ou quimioterápicos múltiplos tem vindo a ser estudada, mas ainda existem poucos estudos divulgados. Um ensaio clínico recente em 14 cães com mastocitoma cutâneo mensurável estudou a associação de vinblastina na dose de 1,6mg/m² IV a cada duas semanas e toceranib na dose de 3,25mg/Kg PO a cada dois dias. Apesar do objectivo primário do estudo ter sido encontrar as doses máximas toleráveis, as taxas de resposta foram divulgadas, com 71% de respostas totais, incluindo 14% de RC e 57% de RP, números positivos quando comparados com os protocolos anteriormente reportados (tabela 29), e que garantem estudos futuros (Robat et al., 2012). Outro estudo avaliou a associação de toceranib, prednisona e radioterapia hipofracionada, em três ou quatro sessões, numa dose total de 24 Gy. Em 15 cães, 87% apresentaram resposta tumoral à terapia, em que 67% atingiram RC e 20% RP, com TLD mediano de 316 dias. O TMS não foi atingido, e ao fim de um ano a percentagem de cães livre de doença e vivos era 45% e 70% respetivamente. Ao contrário de outros estudos em que apenas inibidores de TQ foram utilizados, neste estudo mastocitomas com mutações activantes do Kit tiveram pior prognóstico (Carlsten et al., 2012). Os resultados deste estudo comparam-se positivamente com os de outros estudos em que apenas se utilizou o toceranib (London et al., 2009), em que se utilizou radioterapia para tratar mastocitomas mensuráveis (Gillette, 1974, Allan & Gillette 1979, Turrel

et al. 1988 e LaDue et al. 1998 referidos por London & Thamm 2013), e são comparáveis à administração de radioterapia hipofracionada e prednisolona, em que as respostas totais foram de 89% e o TLD de 1031 dias, embora com uma população diferente, já que neste estudo haviam menos tumores de grau III e por isso, uma vez mais, a comparação entre estudos torna-se difícil e duvidosa (Dobson et al., 2004).

O calcitriol, já testado como agente único (tabela 29), sem sucesso devido ao desenvolvimento de efeitos adversos intoleráveis, demonstrou, *in vitro*, ter efeito sinérgico na inibição da proliferação celular quando utilizado em conjunto com imatinib, toceranib, vinblastina ou lomustina, permitindo a utilização de doses muito inferiores ao normal (Malone et al., 2010).

10.5. Terapias futuras

Várias outras substâncias que no futuro poderão vir a demonstrar-se úteis no tratamento do mastocitoma canino, mas que ainda são alvo de estudos iniciais são os inibidores de histona deacetilase, inibidores da proteína de choque térmico 90 (HSP90), retinóides, ligante indutor de apoptose relacionado a fator de necrose tumoral (TRAIL – *TNF-related apoptosis-inducing ligand*), inibidores de quinase-1 tipo polo (London & Thamm, 2013) e novos alvos terapêuticos têm sido descobertos nos mastocitomas caninos, tais como a utilização dos recetores de IgE como alvos para aumentar a biodisponibilidade de fármacos ao nível dos tumores (Elders et al., 2014) e a proteína antiapoptótica MCL1 (myeloid cell leukemia sequence 1) (Amagai et al., 2013). A proteína COX-2 foi encontrada em 78% dos mastocitomas caninos e o gene que a codifica apresentou-se com expressão aumentada, pelo que no futuro a utilização de anti-inflamatórios não esteróides deverá ser estudada no tratamento do mastocitomas canino, à semelhança do que já ocorre com outras neoplasias caninas como o carcinoma das células de transição na bexiga e o carcinoma das células escamosas oral (Vascellari et al., 2013).

10.6. Terapia adjuvante

Terapia adjuvante é frequentemente recomendada em cães com mastocitoma de modo a diminuir os efeitos sistémicos da libertação de histamina. Antihistamínicos bloqueadores dos recetores H₁ como a difenidramina ou a clorfeniramina e bloqueadores dos recetores H₂ como a ranitidina, famotidina ou cimetidina costumam ser utilizados. O inibidor da bomba de prótons omeprazole também pode ser utilizado devido ao seu efeito inibitório de produção de ácido gástrico mais potente. Estes fármacos são recomendados principalmente quando existe neoplasia mensurável, na presença de sinais sistémicos, na eventualidade da manipulação do tumor ou outras intervenções, como radioterapia e terapia sistémica, que se esperem causar a desgranulação dos mastócitos. Sucralfato ou misoprostol são aconselhados na presença de sinais de ulceração gastrointestinal (London & Thamm, 2013).

11. Relato de caso

Espécie: Canídeo

Raça: Labrador retriever

Idade: 10 anos

Sexo: Macho

Peso: 36Kg

História clínica

O paciente apresentou-se no HVBV no dia nove de Maio de 2014, devido ao aparecimento de um nódulo, cerca de um mês antes, na face dorsal da região interdigital do membro anterior esquerdo, de rápido crescimento, apresentando também claudicação intermitente nesse membro.

No dia da consulta, o nódulo apresentou-se protuberante e ulcerado, em ambas as faces interdigitais, palmar e dorsal, de consistência elevada, edematoso. As dimensões do nódulo eram, na face palmar, 2,5x2 cm e na face dorsal 3,5x2,5 cm (figura 15). Realizou-se uma PAAF e citologicamente observou-se elevada celularidade e presença de grânulos púrpura dispersos no fundo da lâmina, uma população de células redondas com citoplasma bem delimitado e núcleo redondo, com presença de grânulos púrpura citoplasmáticos tendo as células sido identificadas como mastócitos. A relação núcleo:citoplasma e de grânulos era variável, com moderada anisocitose e anisocariose, foram observadas figuras mitóticas, células bi- e multinucleadas e presença de eosinófilos (figuras 16 e 17). O diagnóstico citológico foi mastocitoma, de diferenciação intermédia a baixa.



Figura 13. Apresentação inicial do mastocitoma cutâneo, na região digital do membro anterior esquerdo. A) Aspeto dorsal do tumor. Note-se a presença de tumefação no espaço interdigital III-IV e de lesão ulcerada, com cerca de 3,5x2,5 cm de diâmetro, na região interdigital IV-V. B) Aspeto palmar do tumor, com lesão ulcerada de cerca de 2,5x2 cm. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.

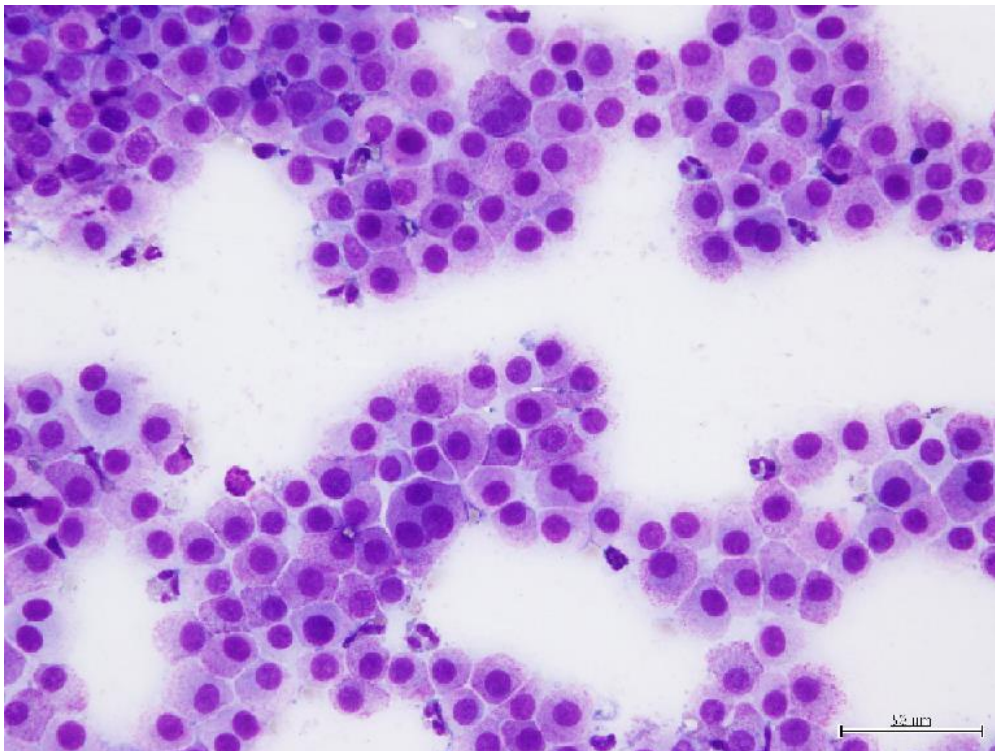


Figura 14. Citologia do mastocitoma cutâneo. Note-se a elevada celularidade, granulação variável, a boa delimitação citoplasmática, anisocitose e anisocariose moderadas e a presença de células bi- e multinucleadas. Ampliação 400x, coloração Diff-quick. Fotografia gentilmente cedida pela Dr^a Carla Marrinhas, HVBV.

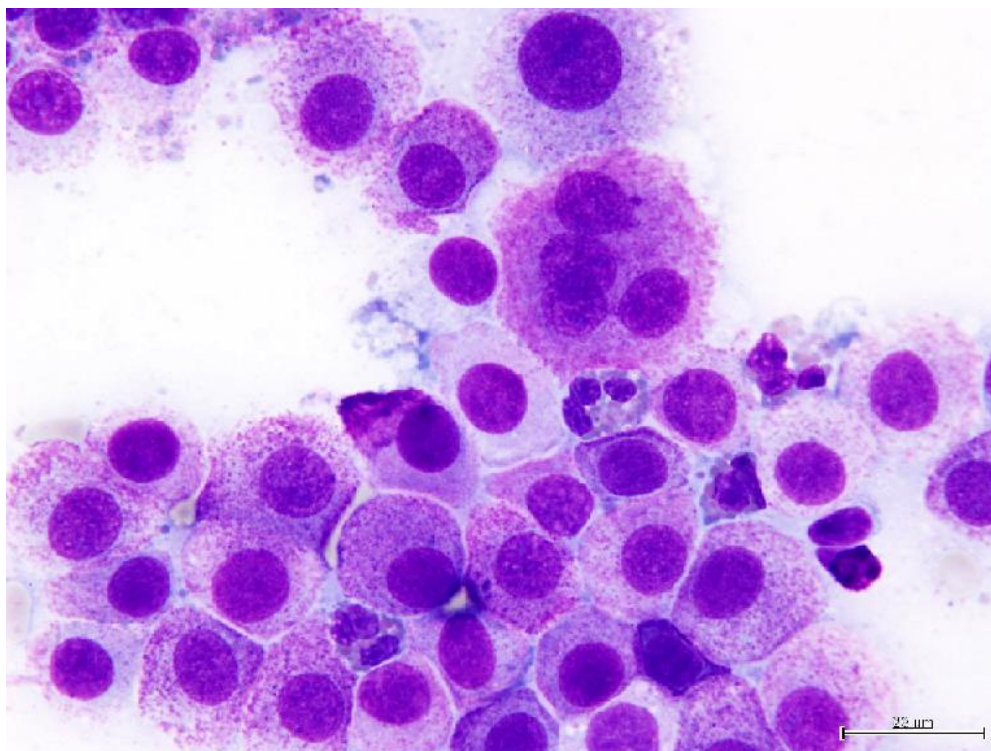


Figura 15. Citologia do mastocitoma cutâneo, na objetiva de maior ampliação. Note-se a granulação variável, anisocitose e anisocariose moderadas, a presença de uma célula multinucleada com quatro núcleos e uma célula com cariomegália, assim como eosinófilos. Ampliação 1000x, coloração Diff-quick. Fotografia gentilmente cedida pela Dr^a Carla Marrinhas, HVBV.

Foram realizadas análises sanguíneas, nomeadamente hemograma, bioquímicas plasmáticas, avaliação do esfregaço sanguíneo e provas de coagulação. O hemograma (tabela 31), o esfregaço sanguíneo e as provas de coagulação (tabela 30) apresentaram-se sem alterações. A enzima hepática alanina aminotransferase apresentou-se ligeiramente elevada (tabela 30). Pesquisa de sangue oculto nas fezes apresentou resultado negativo.

Tabela 30. Resultados do perfil bioquímico e provas de coagulação, no dia 9 de Maio de 2014, dia do diagnóstico.

Parâmetro	9-Maio-2014 Diagnóstico	Referência
Fosfatase alcalina	53 mg/dl	13-83
Alanina aminotransferase	133 mg/dl	17-78
Ureia	13,1 mg/dl	9,2-29,2
Creatinina	0,9 mg/dl	0,4-1,4
Proteína total	6,4 g/dl	5-7,2
PT	17 seg	11-17
aPTT	78 seg	72-102

Os valores fora do intervalo de referência encontram-se a vermelho.

Os linfonodos regionais, nomeadamente o linfonodo axilar e o linfonodo pré-escapular, apresentavam tamanho normal à palpação. Foi realizada PAAF do linfonodo pré-escapular e, na citologia, observou-se celularidade elevada, com população heterogénea de linfócitos, predominando os linfócitos maduros, mas com elevação da presença de linfócitos de tamanho intermédio, de plasmócitos e de eosinófilos, e observaram-se mastócitos ocasionalmente. O diagnóstico citológico foi hiperplasia reativa com componente eosinofílico, sem presença óbvia de metastização.

Na ecografia abdominal não foram observadas alterações relevantes. Realizou-se PAAF de fígado e baço. A citologia esplénica não apresentou alterações. Na citologia hepática observou-se uma elevação da presença de células inflamatórias, nomeadamente macrófagos, eosinófilos e mastócitos ocasionais, com moderada granulação e presença, por vezes, de núcleos irregulares.

O caso foi classificado no estadio Ia do sistema de estadiamento da OMS, correspondente à presença de um tumor localizado na derme sem envolvimento de linfonodo regional nem metástases à distância, e sem a presença de sinais clínicos sistémicos. Foram apresentadas aos proprietários as várias opções terapêuticas, tendo sido negada qualquer abordagem cirúrgica. Iniciou-se terapia com prednisolona (2mg/Kg/dia PO), inibidor dos recetores H₂ ranitidina (2mg/Kg BID PO) e o inibidor dos recetores H₁ hidroxizina (2mg/Kg TID PO). Não foi realizada classificação histológica do tumor. Após uma semana de terapia a dose de prednisolona foi diminuída para 1mg/Kg/dia.

Ocorreu rapidamente resposta tumoral à prednisolona, sendo que a resposta máxima estabeleceu-se vinte dias após início da terapia. Nesta data o diâmetro máximo do tumor era de 2 cm, no aspeto dorsal, correspondente a uma diminuição de 43% no seu diâmetro, ou seja, resposta parcial à administração do glucocorticoide. Durante este período o paciente perdeu cerca de 6Kg de massa corporal, o que se considerou ser o desenvolvimento de atrofia muscular (figura 18) devido à utilização de glucocorticóides. O paciente também se apresentava excessivamente sedado devido à hidroxizina, pelo que se diminuiu a sua dose para 1,7mg/Kg BID PO e posteriormente, com o início da quimioterapia, descontinuou-se este fármaco.

Os proprietários decidiram iniciar quimioterapia com vinblastina no dia 19 de Junho de 2014, 41 dias após o diagnóstico e 36 dias após o início da terapia com prednisolona. Neste dia, a massa mantinha as mesmas dimensões mas o aspeto palmar já não se apresentava ulcerado e o paciente continuava a apresentar atrofia muscular, que se considerou ser associada aos glucocorticóides. Iniciou-se um protocolo de vinblastina na dose de 2mg/m², sendo que os tratamentos planeados seriam semanais durante quatro administrações, seguidos de mais quatro administrações com intervalos de duas semanas entre elas, quatro

administrações com intervalo de três semanas e, por fim, quatro administrações com intervalo de quatro semanas, para um total estimado de 10 meses de quimioterapia. Os efeitos adversos associados à quimioterapia foram um episódio de vômito entre o primeiro e segundo tratamento e neutropenia ligeira, de grau I/IV, sete dias após o primeiro tratamento, pelo que o segundo tratamento foi adiado por quatro dias, altura em que o hemograma se apresentou normalizado. Nenhuma medida terapêutica ou alteração de dose foi instituída perante a apresentação destes efeitos adversos ligeiros. Ao longo dos restantes tratamentos, nenhum outro efeito adverso claramente associado à quimioterapia foi encontrado. Os resultados dos hemogramas realizados antes de cada sessão de quimioterapia apresentam-se na tabela 31. A resposta à quimioterapia notou-se desde cedo, com a resposta máxima a ser observada 27 dias após o início da utilização de vinblastina, no dia do quarto tratamento, na forma de RC, uma vez que o tumor diminui de tamanho em 100%, deixando de ser visível e ocorrendo cicatrização completa das úlceras anteriormente presentes. No total foram realizadas cinco sessões de quimioterapia, além da administração diária de prednisolona, sendo que à data do último controlo, no dia 16 de Julho de 2014, 41 dias após início da quimioterapia e 82 dias após o diagnóstico, o mastocitoma cutâneo mantinha-se em RC. As figuras 15 e 19 a 22 demonstram a evolução do mastocitoma ao longo do tratamento.

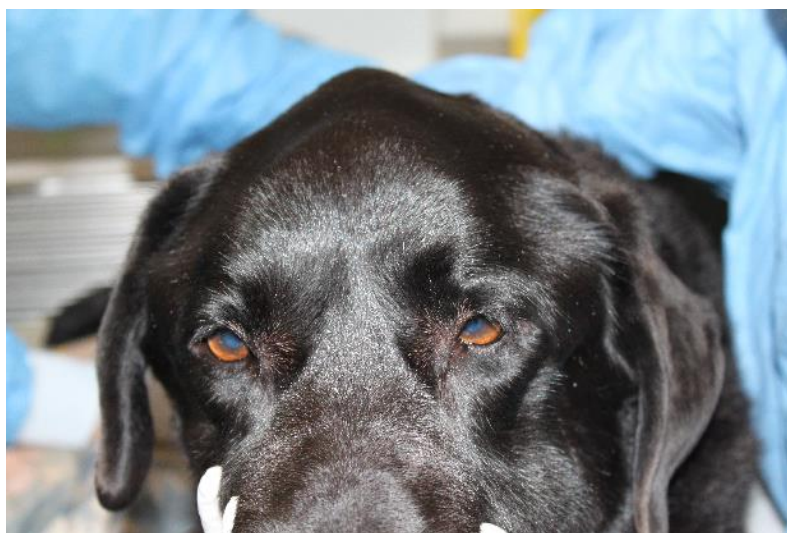


Figura 16. Atrofia da musculatura da região temporal. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.

Tabela 31. Resultados dos hemogramas realizados no dia do diagnóstico e ao longo da quimioterapia.

Parâmetro	9-Maio-2014 Diagnóstico	Dia 1 Vinb	Dia 8	Dia 12 Vinb	Dia 19 Vinb	Dia 27 Vinb	Dia 41 Vinb	Ref.
Hct (%)	55,4	45,4	46,6	46	45,5	49,7	47,2	37-55
Eritrócitos (M/ μ L)	8,26	6,49	7,2	6,78	6,88	7,68	7,57	5,5-8,5
Hgb (g/dL)	19,7	16,3	16,1	14,5	14,5	14,3	15	12-18
VCM (fL)	67,1	69,9	64,7	67,9	66,2	64,8	62,3	60-77
CHCM (g/dL)	35,6	35,8	34,5	31,5	31,8	28,9	31,7	30-37,5
Reticulócitos (K/ μ L)	86,6	50,9	84,1	57,5	74,6	119,2	69,5	10-110
Plaquetas (K/ μ L)	288	499	623	361	440	464	543	175-500
Leucócitos (K/ μ L)	6,22	48,37	3,24	12,42	5,03	5,09	17,14	5,5-16,9
Neutrófilos (K/ μ L)	3,86	42,25	1,91	10,16	3,92	2,95	13,42	2-12
Linfócitos (K/ μ L)	1,57	1,06	0,37	0,58	0,21	0,48	1,73	0,5-4,9
Monócitos (K/ μ L)	0,53	4,12	0,82	1,47	0,72	1,45	1,56	0,3-2
Eosinófilos (K/ μ L)	0,21	0,75	0,09	0,15	0,08	0,17	0,36	0,1-1,49
Basófilos (K/ μ L)	0,05	0,19	0,06	0,06	0,09	0,04	0,08	0-0,1

O número de dias é contado desde o dia da primeira administração de vinblastina. Os dias em que se administrou vinblastina têm a referência "vinb" (vinblastina). Os valores fora do intervalo de referência encontram-se a vermelho. Ref.: Valores do intervalo de referência, Hct: Hematócrito, Hgb: Hemoglobina, VCM: Volume corpuscular médio, CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média.



Figura 17. Estado do tumor ao fim de 20 dias de tratamento com prednisolona, correspondente ao estado de RP. A) Aspecto dorsal do tumor, com dimensões de 2x1 cm. B) Aspecto palmar do tumor, com dimensões de 0,6x0,8 cm. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.



Figura 18. Estado do tumor ao fim de 36 dias de tratamento com prednisolona, correspondente ao dia do primeiro tratamento com vinblastina. A) Aspetto dorsal do tumor. Note-se a manutenção da região ulcerada e o desaparecimento da intumescência na região interdigital III-IV. B) Aspetto palmar do tumor, com cicatrização completa da úlcera cutânea. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.



Figura 19. Aspetto dorsal do tumor 12 (A) e 19 (B) dias após o início da quimioterapia com vinblastina. Note-se a diminuição progressiva do diâmetro da úlcera. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.



Figura 20. Resposta completa do mastocitoma ao protocolo quimioterápico, 27 dias após o início do tratamento com vinblastina. A) Aspetto dorsal. B) Aspetto palmar. Fotografia gentilmente cedida pelo Dr Hugo Vilhena, HVBV.

12. Discussão

O paciente pertence a uma raça que tem risco elevado de desenvolvimento de mastocitoma cutâneo (McNiel et al., 2006; Villamil et al., 2011; White et al., 2011; London & Thamm, 2013; Warland & Dobson, 2013) e está no pico da idade de maior risco, que é entre os 10 e 15 anos (Villamil et al., 2011). Setenta e três por cento das lesões nos dígitos dos canídeos correspondem a neoplasias e, entre as malignas, os mastocitomas correspondem a 7% (Wobeser et al., 2007). Os membros são uma das localizações mais comuns do mastocitoma canino, com cerca de 34 a 36% de incidência nesta localização (Ginn et al., 2000; Jaffe et al., 2000b). Não foi encontrada nenhuma associação entre a localização nos membros e o prognóstico (Ginn et al., 2000). No entanto, avaliando especificamente a localização a nível digital, três em oito casos em que se realizou amputação digital evoluíram para metastização e morte, com 63% de sobrevivência ao fim de dois anos (Wobeser et al., 2007), enquanto noutro estudo dois em cinco tumores nesta localização, mesmo tratados com prednisolona e radioterapia, evoluíram com metastização (Dobson et al., 2004), o que sugere um prognóstico desfavorável para mastocitomas localizados ao nível dos dígitos.

Neste caso, considerou-se que o mastocitoma apresentou um crescimento rápido, tendo em conta que em cerca de quatro semanas, desde que foi notado pelos proprietários, atingiu cerca de 3,5 cm de diâmetro. O ritmo rápido de crescimento (Bostock, 1973 referido por London & Thamm 2013) e o diâmetro superior a 3 cm (Hahn et al., 2004) são fatores negativos de prognóstico.

Devido à decisão dos proprietários de não se efectuar uma abordagem cirúrgica e à não realização de biópsia incisional, não foi possível obter a classificação histológica do

mastocitoma, nem a avaliação de outras técnicas com valor prognóstico como a determinação do IM ou utilização de coloração imunohistoquímica do marcador de proliferação celular Ki-67 (Ginn et al., 2000; Scase et al., 2006; Thompson et al., 2011b; Berlato et al., 2013; Vascellari et al., 2013) ou do padrão de distribuição de Kit (Kiupel et al., 2004; Giantin et al., 2012).

Na avaliação citológica considerou-se que o mastocitoma tinha diferenciação intermédia a baixa, devido à presença de anisocariose, anisocitose, granulação variável e presença de figuras mitóticas e células bi- e multinucleadas. A classificação citológica, apesar de comumente aplicada, não tem evidências que suportem a sua correlação com a classificação histopatológica. A observação de um elevado número de grânulos na citologia não exclui a presença de um mastocitoma pouco diferenciado (Scarpa et al., 2014), assim como, com a utilização de corantes rápidos à base de água, a observação de um número reduzido de grânulos não significa obrigatoriamente baixa diferenciação neoplásica (Friedrichs & Young, 2013). Adaptando o sistema de classificação histológica de Kiupel à classificação citológica de Kiupel obtiveram-se resultados concordantes em 94% dos casos, com uma tendência para a subvalorização do grau. A observação de, em mil mastócitos, três ou mais células multinucleadas, ou três ou mais com núcleo aberrante, ou sete ou mais mitoses, ou presença de cariomegália, são os critérios para classificação de um mastocitoma em alto grau citologicamente, sendo que células multinucleadas, com mais de dois núcleos e presença de cariomegália mostraram ser os critérios mais sensíveis para identificação de alto grau (Scarpa et al., 2014). No nosso caso, este sistema não foi aplicado, mas poderá sê-lo em futuros casos em que não seja possível obter classificação histológica, uma vez que se relaciona com um sistema de classificação histológica com elevado valor prognóstico (Kiupel et al. 2011; Donnelly et al. 2013; Takeuchi et al. 2013; Vascellari et al. 2013; Sabbatini et al. 2014).

A única alteração bioquímica na altura do diagnóstico era a elevação ligeira da ALT, o que num estudo se associou a um pior prognóstico, devido a metastização hepática (Camps-Palau et al., 2007), a qual não se considerou presente neste caso.

Apesar do linfonodo regional apresentar tamanho normal à palpação, a PAAF é recomendada, uma vez que apenas 26% dos linfonodos com metastização se encontram com tamanho aumentado (Chaffin & Thrall, 2002). A citologia do linfonodo pré-escapular, e apesar da presença de mastócitos ocasionais, foi compatível com hiperplasia reativa linfóide e considerou-se não existir metastização do mastocitoma (Krick et al., 2009). A ausência de metastização nesta localização é um importante fator de prognóstico, sendo que num estudo o TMS sem infiltração foi superior a seis anos e com infiltração foi inferior a 10 meses (Krick et al., 2009). Devido à presença de fatores de prognóstico negativo como a localização, o ritmo de crescimento, tamanho do tumor e achados citológicos, decidiu-se investigar o estadiamento, uma vez que a disseminação sistémica é um indicador negativo de prognóstico, através da realização de ecografia abdominal e PAAF de fígado e baço. A imagem ecográfica não

apresentou alterações relevantes. No entanto, a sensibilidade e especificidade da ecografia abdominal na determinação da presença de metastização de mastocitomas é baixa (Sato & Solano, 2004; Stefanello et al., 2009; Book et al., 2011). No nosso caso, a citologia hepática apresentou sinais inflamatórios e a presença de alguns mastócitos com núcleos irregulares e moderadamente granulados. Os critérios citológicos para determinação da presença de metastização nos órgãos abdominais ainda não são consensuais. Foi proposto, com valor prognóstico, que a presença de agregados ou elevados números de mastócitos bem diferenciados, ou a presença de mastócitos pouco diferenciados, com pleomorfismo e baixa granulação, seja compatível com infiltração neoplásica (Stefanello et al., 2009). A metastização distante de mastocitomas cutâneos considerados de alto risco não é muito frequente, sendo a infiltração dos linfonodos regionais mais comum (Camps-Palau et al., 2007; Hume et al., 2011). Devido à ausência de alterações no hemograma e provas de coagulação optou-se por não realizar punção de medula óssea. Fatores associados à presença de mieloptise são neutrofilia, monocitose, eosinofilia, basofilia, anemia, anemia não regenerativa, trombocitopenia, elevação dos tempos de coagulação, embora seja possível a metastização medular sem alterações no hemograma (Endicott et al., 2007; Marconato et al., 2008). Associando os achados citológicos e hemograma à avaliação geral do paciente, considerou-se a ausência de disseminação sistêmica. O paciente foi então classificado no estadio clínico Ia.

Devido à localização, tamanho e agressividade local deste tumor, considerou-se que a excisão cirúrgica completa e com margens não era possível sem recorrer à amputação do membro, que foi negada pelos proprietários. Devido à inexistência de unidades de radioterapia veterinária em Portugal, tornou-se claro que seria impossível obter um adequado controlo local da neoplasia. A utilização de citorredução cirúrgica prosseguida por radioterapia é a opção terapêutica com melhores resultados em casos de mastocitoma cutâneo não ressectável (al-Sarraf et al., 1996; Frimberger et al., 1997; LaDue et al., 1998; Poirier et al., 2006).

Iniciou-se terapia com prednisolona na dose de 2mg/Kg/dia e, ao fim de 36 dias o mastocitoma apresentava-se em RP. A utilização de glucocorticóides no tratamento de mastocitomas cutâneos apresenta comumente resposta tumoral, com valores entre 20% a 75%, sendo que a maioria das respostas são de curta duração. O período máximo reportado de utilização exclusiva destas substâncias no tratamento de mastocitomas é de 28 dias, pelo que efeitos a longo prazo são desconhecidos (McCaw et al. 1994 referido por London & Thamm 2013; Dobson et al. 2004; Stanclift & Gilson 2008). Ao fim de 36 dias após o início da terapia e de 41 dias após o diagnóstico, iniciou-se quimioterapia com vinblastina. O protocolo utilizado consiste na administração de vinblastina (2mg/m² IV) semanalmente durante quatro semanas, seguidas de mais quatro administrações separadas por duas semanas, quatro administrações com intervalo de três semanas e, por fim, quatro administrações com intervalo de quatro semanas, associado à administração de prednisolona, que neste caso se iniciou 36 dias antes com a dose de 2mg/Kg/dia PO durante uma semana, seguida de 1mg/Kg/dia PO

durante 9 semanas. Com a utilização deste protocolo, o tumor apresentou RC ao fim de 27 dias após o seu início. Num estudo que avaliou a resposta tumoral a este protocolo, as administrações bi-semanais prolongaram-se enquanto o efeito se mantivesse. Nesse estudo, em 15 casos, 47% desenvolveram resposta, incluindo 60% de tumores grau II e 40% dos tumores grau III, sendo que 33% atingiram RC e 14% RP, com período mediano de remissão (PMR) de 154 dias, um período curto e explicado em grande parte pela utilização da terapia sistémica com a presença de lesão mensurável, uma situação longe do ideal (Thamm et al., 1999). No presente caso, o último controlo foi ao fim de 72 dias, um período demasiado curto para se aferir o efeito da quimioterapia a longo prazo. No estudo de Thamm, 2009, apesar do PMR ter sido de 154 dias, alguns dos sete cães que responderam ao protocolo atingiram remissões de longo prazo, tendo o período mínimo e máximo de remissão sido de 28 e > 645 dias, respetivamente. Outras combinações quimioterápicas que apresentaram resultados semelhantes ou melhores ao protocolo utilizado, em casos de tumores não ressectáveis e que poderiam ter sido opção, com RT de 43% a 65%, incluem clorambucil e prednisolona (Taylor et al., 2009), vinblastina e lomustina (Cooper et al., 2009), vincristina, ciclofosfamida, hidroxiureia e prednisolona (Gerritsen et al., 1998), vinblastina, ciclofosfamida e prednisolona (Camps-Palau et al., 2007), ou vinblastina, lomustina e prednisona (Rassnick, et al., 2010b). Outra opção de terapia sistémica já testada em casos de mastocitomas cutâneos não ressectáveis, são os inibidores de TQ: a utilização de toceranib apresentou RT de 43% (London et al., 2009); o masitinib, apesar de não terem sido divulgados os valores de resposta total à terapia, demonstrou ser útil no controlo de mastocitomas, principalmente a longo prazo (Hahn et al., 2010); a combinação de toceranib e vinblastina, num estudo preliminar, apresentou 71% de respostas tumorais ao protocolo (Robat et al., 2012). Qualquer que seja o inibidor de TQ utilizado, apresenta melhor resposta quando há presença de mutações do tipo DIT no domínio justa-membranar do gene c-kit (Hahn et al., 2008; London et al., 2009; Hahn et al., 2010).

Os efeitos adversos exibidos pelo paciente, associados à quimioterapia, foram um episódio de vômito durante a primeira semana de tratamento e neutropenia ligeira sete dias após o primeiro tratamento. Estes efeitos adversos eram expectáveis. Thamm, 1999 reportou 20% de pacientes desenvolvendo efeitos adversos, na sua maioria ligeiros e normalmente após a primeira dose de vinblastina, incluindo vômito, neutropenia, letargia e fezes de consistência mole (Thamm et al., 1999).

13. Conclusão

As doenças neoplásicas corresponderam a 9% dos casos acompanhados na área da clínica médica durante o estágio no HVBV. Com o aumento progressivo da esperança média de vida e da importância dos animais de companhia no seio da sociedade portuguesa, a tendência é para que a oncologia ganhe cada vez mais importância na Medicina Veterinária em Portugal, com desenvolvimentos nas áreas do diagnóstico e do tratamento destas doenças.

O mastocitoma é a neoplasia cutânea maligna mais comum no cão. Realizar esta revisão bibliográfica permitiu-me desenvolver conhecimentos não só sobre esta neoplasia, mas também naqueles que são os princípios gerais da oncologia, quer a nível de plano diagnóstico e de estadiamento, prognóstico e opções terapêuticas ao nosso dispor e efeitos adversos associados.

O estágio no HVBV permitiu-me também contactar com a maioria das áreas da Medicina Veterinária de animais de companhia, desenvolvendo competências e capacidade de trabalho em equipa, que certamente me serão úteis no exercício da profissão, e adquirindo novos horizontes profissionais, guiado por uma equipa de médicos veterinários com conhecimentos aprofundados em diversas áreas.

Bibliografia

- Adams, P., Bolus, R., Middleton, S., Moores, A. P., & Grierson, J. (2011). Influence of signalment on developing cranial cruciate rupture in dogs in the UK. *The Journal of Small Animal Practice*, 52(7), 347–52. doi:10.1111/j.1748-5827.2011.01073.x
- Allan, G. S., & Gillette, E. L. (1979). Response of canine mast cell tumors to radiation. *Journal of the National Cancer Institute*, 63(3), 691–4.
- al-Sarraf, R., Mauldin, G. N., Patnaik, A. K., & Meleo, K. A. (1996). A prospective study of radiation therapy for the treatment of grade 2 mast cell tumors in 32 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 10(6), 376–8.
- Amagai, Y., Tanaka, A., Matsuda, A., Oida, K., Jung, K., Nishikawa, S., ... Matsuda, H. (2013). Increased expression of the antiapoptotic protein MCL1 in canine mast cell tumors. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 75(7), 971–4.
- Atkins, C., Bonagura, J., Ettinger, S., Fox, P., Gordon, S., Haggstrom, J., ... Stepien, R. (2009). Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(6), 1142–50. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0392.x
- Ayl, R. D., Couto, C. G., Hammer, A. S., Weisbrode, S., Ericson, J. G., & Mathes, L. (1992). Correlation of DNA ploidy to tumor histologic grade, clinical variables, and survival in dogs with mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 29(5), 386–90.
- Baird, A. E. G., Carter, S. D., Innes, J. F., Ollier, W., & Short, A. (2014). Genome-wide association study identifies genomic regions of association for cruciate ligament rupture in Newfoundland dogs. *Animal Genetics*. doi:10.1111/age.12162
- Barbosa, D. de F. L., Paraventi, M. D., & Strefezzi, R. de F. (2014). Reproducibility of nuclear morphometry parameters from cytologic smears of canine cutaneous mast cell tumors-intra- and interobserver variability. *Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*. doi:10.1111/vcp.12167
- Bartlett, P. C., Van Buren, J. W., Bartlett, A. D., & Zhou, C. (2010). Case-control study of risk factors associated with feline and canine chronic kidney disease. *Veterinary Medicine International*, 2010. doi:10.4061/2010/957570
- Berlato, D., Murphy, S., Monti, P., Stewart, J., Newton, J. R., Flindall, A., & Maglennon, G. A. (2013). Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*. doi:10.1111/vco.12029

Book, A. P., Fidel, J., Wills, T., Bryan, J., Sellon, R., & Mattoon, J. (2011). Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 52(5), 548–54. doi:10.1111/j.1740-8261.2011.01839.x

Borgarelli, M., & Buchanan, J. W. (2012). Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 14(1), 93–101. doi:10.1016/j.jvc.2012.01.011

Borrego, J. F., Cartagena, J. C., & Engel, J. (2009). Treatment of feline mammary tumours using chemotherapy, surgery and a COX-2 inhibitor drug (meloxicam): a retrospective study of 23 cases (2002-2007)*. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7(4), 213–21. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00194.x

Bostock, D. E. (1973). The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 14(1), 27–41.

Bowles, C. A., Kerber, W. T., Rangan, S. R., Kwapien, R., Woods, W., & Jensen, E. M. (1972). Characterization of a transplantable, canine, immature mast cell tumor. *Cancer Research*, 32(7), 1434–41.

Bracken, M. B. (2012). Steroids for acute spinal cord injury. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD001046. doi:10.1002/14651858.CD001046.pub2

Bracken, M. B., Shepard, M. J., Collins, W. F., Holford, T. R., Young, W., Baskin, D. S., ... Maroon, J. (1990). A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *The New England Journal of Medicine*, 322(20), 1405–11. doi:10.1056/NEJM199005173222001

Brocks, B. A. W., Neyens, I. J. S., Teske, E., & Kirpensteijn, J. (2008). Hypotonic water as adjuvant therapy for incompletely resected canine mast cell tumors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Veterinary Surgery: VS*, 37(5), 472–8. doi:10.1111/j.1532-950X.2008.00412.x

Brønden, L. B., Eriksen, T., & Kristensen, A. T. (2010). Mast cell tumours and other skin neoplasia in Danish dogs--data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52, 6. doi:10.1186/1751-0147-52-6

Cahalane, A. K., Payne, S., Barber, L. G., Duda, L. E., Henry, C. J., Mauldin, G. E., ... Moore, A. S. (2004). Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors

treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(3), 401–8.

Camps-Palau, M. A., Leibman, N. F., Elmslie, R., Lana, S. E., Plaza, S., McKnight, J. A., ... Bergman, P. J. (2007). Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997-2004). *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(3), 156–67. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00125.x

Car, B. (2010). The hematopoietic system. In D. Weiss & J. Wardrop (Eds.), *Schalm's Veterinary hematology* (6th ed., pp. 27–35). Wiley-blackwell.

Carlsten, K. S., London, C. A., Haney, S., Burnett, R., Avery, A. C., & Thamm, D. H. (2012). Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 135–41. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00851.x

Chaffin, K., & Thrall, D. E. (2002). Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 43(4), 392–5.

Cooper, M., Tsai, X., & Bennett, P. (2009). Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7(3), 196–206. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00190.x

Davies, D. R., Wyatt, K. M., Jardine, J. E., Robertson, I. D., & Irwin, P. J. (2004). Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(2), 124–30.

Davis, B. J., Page, R., Sannes, P. L., & Meuten, D. J. (1992). Cutaneous mastocytosis in a dog. *Veterinary Pathology*, 29(4), 363–5.

Day, M. J., Horzinek, M. C., & Schultz, R. D. (2010). WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 51(6), 1–32.

Dean, R. S., Pfeiffer, D. U., & Adams, V. J. (2013). The incidence of feline injection site sarcomas in the United Kingdom. *BMC Veterinary Research*, 9, 17. doi:10.1186/1746-6148-9-17

Dobson, J., Cohen, S., & Gould, S. (2004). Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2(3), 132–41. doi:10.1111/j.1476-5810.2004.00048.x

Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., & Wood, J. L. N. (2002). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 43(6), 240–6.

Donnelly, L., Mullin, C., Balko, J., Goldschmidt, M., Krick, E., Hume, C., ... Sorenmo, K. (2013). Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*. doi:10.1111/vco.12021

Downing, S., Chien, M. B., Kass, P. H., Moore, P. E., & London, C. A. (2002). 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*, 63(12), 1718–23.

Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B. N., Hedhammar, A., Olson, P., & Lagerstedt, A. S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 15(6), 530–8.

Eisenhauer, E. A., Therasse, P., Bogaerts, J., Schwartz, L. H., Sargent, D., Ford, R., ... Verweij, J. (2009). New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, 45(2), 228–47. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026

Elders, R. C., Holder, A., Smith, K. C., Baines, S. J., & Catchpole, B. (2014). Recombinant canine IgE Fc and an IgE Fc-TRAIL fusion protein bind to neoplastic canine mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 159(1-2), 29–40. doi:10.1016/j.vetimm.2014.02.018

Elston, L. B., Sueiro, F. A. R., Cavalcanti, J. N., & Metze, K. (2009). The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. *Veterinary Pathology*, 46(2), 362–4, author reply 364–5. doi:10.1354/vp.46-2-362

Endicott, M. M., Charney, S. C., McKnight, J. A., Loar, A. S., Barger, A. M., & Bergman, P. J. (2007). Clinicopathological findings and results of bone marrow aspiration in dogs with cutaneous mast cell tumours: 157 cases (1999-2002). *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(1), 31–7. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00115.x

Fall, T., Hedhammar, A., Wallberg, A., Fall, N., Ahlgren, K. M., Hamlin, H. H., ... Kämpe, O. (2010). Diabetes mellitus in elkhounds is associated with diestrus and pregnancy. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 24(6), 1322–8. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0630.x

Ferasin, L., Crews, L., Biller, D. S., Lamb, K. E., & Borgarelli, M. (2013). Risk factors for coughing in dogs with naturally acquired myxomatous mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal*

Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine, 27(2), 286–92. doi:10.1111/jvim.12039

Fife, M., Blocker, T., Fife, T., Dubielzig, R. R., & Dunn, K. (2011). Canine conjunctival mast cell tumors: a retrospective study. *Veterinary Ophthalmology*, 14(3), 153–60. doi:10.1111/j.1463-5224.2010.00857.x

Finora, K., Leibman, N. F., Fettman, M. J., Powers, B. E., Hackett, T. A., & Withrow, S. J. (2006). Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and of dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4(3), 178–83. doi:10.1111/j.1476-5829.2006.00107.x

Fox, L. E., Rosenthal, R. C., Twedt, D. C., Dubielzig, R. R., MacEwen, E. G., & Grauer, G. F. (1990). Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 4(5), 242–6.

Frey, T. N., Hoelzler, M. G., Scavelli, T. D., Fulcher, R. P., & Bastian, R. P. (2010). Risk factors for surgical site infection-inflammation in dogs undergoing surgery for rupture of the cranial cruciate ligament: 902 cases (2005-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(1), 88–94. doi:10.2460/javma.236.1.88

Friedrichs, K., & Young, K. (2013). Diagnostic cytopathology in clinical oncology. In S. Withrow, D. Vail, & R. Page (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small animal clinical oncology* (5th ed., pp. 111–130). Elsevier.

Frimberger, A. E., Moore, A. S., Cincotta, L., Cotter, S. M., & Foley, J. W. (1998). Photodynamic therapy of naturally occurring tumors in animals using a novel benzophenothiazine photosensitizer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 4(9), 2207–18.

Frimberger, A. E., Moore, A. S., LaRue, S. M., Gliatto, J. M., & Bengtson, A. E. (1997). Radiotherapy of incompletely resected, moderately differentiated mast cell tumors in the dog: 37 cases (1989-1993). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 33(4), 320–4.

Fulcher, R. P., Ludwig, L. L., Bergman, P. J., Newman, S. J., Simpson, A. M., & Patnaik, A. K. (2006). 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*, 228(2), 210–5. doi:10.2460/javma.228.2.210

Fuller, M. C., Hayashi, K., Bruecker, K. A., Holsworth, I. G., Sutton, J. S., Kass, P. H., ... Kapatkin, A. S. (2014). Evaluation of the radiographic infrapatellar fat pad sign of the contralateral stifle joint as a risk factor for subsequent contralateral cranial cruciate ligament

rupture in dogs with unilateral rupture: 96 cases (2006-2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244(3), 328–38. doi:10.2460/javma.244.3.328

Geddes, R. F., Finch, N. C., Syme, H. M., & Elliott, J. (2013). The role of phosphorus in the pathophysiology of chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 122–133. doi:10.1111/vec.12032

Gerritsen, R. J., Teske, E., Kraus, J. S., & Rutteman, G. R. (1998). Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *The Veterinary Quarterly*, 20(1), 28–31. doi:10.1080/01652176.1998.9694960

Giantin, M., Granato, A., Baratto, C., Marconato, L., Vascellari, M., Morello, E. M., ... Dacasto, M. (2014). Global gene expression analysis of canine cutaneous mast cell tumor: could molecular profiling be useful for subtype classification and prognostication? *PloS One*, 9(4), e95481. doi:10.1371/journal.pone.0095481

Giantin, M., Vascellari, M., Morello, E. M., Capello, K., Vercelli, A., Granato, A., ... Dacasto, M. (2012). c-KIT messenger RNA and protein expression and mutations in canine cutaneous mast cell tumors: correlations with post-surgical prognosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(1), 116–26. doi:10.1177/1040638711425945

Gillette, E. L. (1974). Indications and selection of patients for radiation therapy. *The Veterinary Clinics of North America*, 4(4), 889–96.

Ginn, P. E., Fox, L. E., Brower, J. C., Gaskin, A., Kurzman, I. D., & Kubilis, P. S. (2000). Immunohistochemical detection of p53 tumor-suppressor protein is a poor indicator of prognosis for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 37(1), 33–9.

Gleixner, K. V, Rebuzzi, L., Mayerhofer, M., Gruze, A., Hadzijasufovic, E., Sonneck, K., ... Valent, P. (2007). Synergistic antiproliferative effects of KIT tyrosine kinase inhibitors on neoplastic canine mast cells. *Experimental Hematology*, 35(10), 1510–21. doi:10.1016/j.exphem.2007.06.005

Grauer, G. (2009). Acute renal failure and chronic kidney disease. In R. Nelson & G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (4th ed., pp. 645–659). Mosby Elsevier.

Greene, C., & Decaro, N. (2012). Canine viral enteritis. In C. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat* (4th ed., pp. 67–75). Elsevier.

Grier, R. L., Di Guardo, G., Myers, R., & Merkle, D. F. (1995). Mast cell tumour destruction in dogs by hypotonic solution. *The Journal of Small Animal Practice*, 36(9), 385–8.

- Grier, R. L., Di Guardo, G., Schaffer, C. B., Pedrosa, B., Myers, R., Merkley, D. F., & Thouvenelle, M. (1990). Mast cell tumor destruction by deionized water. *American Journal of Veterinary Research*, 51(7), 1116–20.
- Hagman, R. (2012). Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 47 Suppl 6, 323–5. doi:10.1111/rda.12031
- Hahn, K. A., King, G. K., & Carreras, J. K. (2004). Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(1), 79–82.
- Hahn, K. A., Lantz, G. C., Salisbury, S. K., Blevins, W. E., & Widmer, W. R. (1990). Comparison of survey radiography with ultrasonography and x-ray computed tomography for clinical staging of subcutaneous neoplasms in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(11), 1795–8.
- Hahn, K. A., Legendre, A. M., Shaw, N. G., Phillips, B., Ogilvie, G. K., Prescott, D. M., ... Hermine, O. (2010). Evaluation of 12- and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 71(11), 1354–61. doi:10.2460/ajvr.71.11.1354
- Hahn, K. A., Ogilvie, G., Ogilvie, G., Rusk, T., Devauchelle, P., Leblanc, A., ... Hermine, O. (2008). Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(6), 1301–9. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0190.x
- Harasen, G. (2008). Canine cranial cruciate ligament rupture in profile: 2002-2007. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 49(2), 193–4.
- Hawkins, E. (2007). Disorders of the pulmonary parenchyma and vasculature. In R. Nelson & G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (4th ed.). Mosby Elsevier.
- Hayes, A., Adams, V., Smith, K., Maglennon, G., & Murphy, S. (2007). Vinblastine and prednisolone chemotherapy for surgically excised grade III canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(3), 168–76. doi:10.1111/j.1476-5829.2007.00135.x
- Hayes, G. (2009). Gastrointestinal foreign bodies in dogs and cats: a retrospective study of 208 cases. *The Journal of Small Animal Practice*, 50(11), 576–83. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00783.x
- Hendricks, C. G., Levy, J. K., Tucker, S. J., Olmstead, S. M., Crawford, P. C., Dubovi, E. J., & Hanlon, C. A. (2014). Tail vaccination in cats: a pilot study. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(4), 275–80. doi:10.1177/1098612X13505579

- Henry, C. J., Downing, S., Rosenthal, R. C., Klein, M. K., Meleo, K., Villamil, J. A., ... McMichael, J. (2007). Evaluation of a novel immunomodulator composed of human chorionic gonadotropin and bacillus Calmette-Guerin for treatment of canine mast cell tumors in clinically affected dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68(11), 1246–51. doi:10.2460/ajvr.68.11.1246
- Herring, I. P., Panciera, D. L., & Werre, S. R. (2014). Longitudinal prevalence of hypertension, proteinuria, and retinopathy in dogs with spontaneous diabetes mellitus. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 488–95. doi:10.1111/jvim.12286
- Hillman, L. A., Garrett, L. D., de Lorimier, L.-P., Charney, S. C., Borst, L. B., & Fan, T. M. (2010). Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237(8), 936–42. doi:10.2460/javma.237.8.936
- Howell, S. J., Mekhail, M. N., Azem, R., Ward, N. L., & Kern, T. S. (2013). Degeneration of retinal ganglion cells in diabetic dogs and mice: relationship to glycemic control and retinal capillary degeneration. *Molecular Vision*, 19, 1413–21.
- Hume, C. T., Kiupel, M., Rigatti, L., Shofer, F. S., Skorupski, K. A., & Sorenmo, K. U. (2011). Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(1), 37–44. doi:10.5326/JAAHA-MS-5557
- Hume, D. Z., Drobatz, K. J., & Hess, R. S. (2006). Outcome of dogs with diabetic ketoacidosis: 127 dogs (1993-2003). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 20(3), 547–55.
- IRIS. (2013a). IRIS Staging of CKD. *IRIS*. Retrieved June 05, 2014, from <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.shtml>
- IRIS. (2013b). Treatment recommendations for CKD in cats. *IRIS*. Retrieved June 05, 2014, from <http://www.iris-kidney.com/guidelines/recommendations.shtml>
- IRIS. (2013c). Treatment recommendations for CKD in dogs. *IRIS*. Retrieved June 05, 2014, from <http://www.iris-kidney.com/guidelines/recommendations.shtml>
- Ishiguro, T., Kadosawa, T., Takagi, S., Kim, G., Ohsaki, T., Bosnakovski, D., ... Fujinaga, T. (2003). Relationship of disease progression and plasma histamine concentrations in 11 dogs with mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17(2), 194–8.

- Isotani, M., Ishida, N., Tominaga, M., Tamura, K., Yagihara, H., Ochi, S., ... Bonkobara, M. (2008). Effect of tyrosine kinase inhibition by imatinib mesylate on mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 985–8. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.00132.x
- Ito, D. (2012). Spinal cord injury: new developments. In *WSAVA/FECAVA/BSAVA World congress*.
- Jaffe, M. H., Hosgood, G., Kerwin, S. C., Hedlund, C. S., & Taylor, H. W. (2000a). Deionised water as an adjunct to surgery for the treatment of canine cutaneous mast cell tumours. *The Journal of Small Animal Practice*, 41(1), 7–11.
- Jaffe, M. H., Hosgood, G., Taylor, H. W., Kerwin, S. C., Hedlund, C. S., Lopez, M. K., ... Paranipe, M. (2000b). Immunohistochemical and clinical evaluation of p53 in canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 37(1), 40–6.
- Johnson, C. (2009). Disorder of the vagina and uterus. In R. Nelson & G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (4th ed., pp. 911–925). Mosby Elsevier.
- Jones, C. L. R., Grahn, R. A., Chien, M. B., Lyons, L. A., & London, C. A. (2004). Detection of c-kit mutations in canine mast cell tumors using fluorescent polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 16(2), 95–100.
- Kalli, I., Leontides, L. S., Mylonakis, M. E., Adamama-Moraitou, K., Rallis, T., & Koutinas, A. F. (2010). Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in Veterinary Science*, 89(2), 174–8. doi:10.1016/j.rvsc.2010.02.013
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., & Dessiris, A. (2001). Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 48(2), 85–96.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., ... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary Pathology*, 48(1), 147–55. doi:10.1177/0300985810386469
- Kiupel, M., Webster, J. D., Kaneene, J. B., Miller, R., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 41(4), 371–7. doi:10.1354/vp.41-4-371

- Klopfleisch, R., Meyer, A., Schlieben, P., Bondzio, A., Weise, C., Lenze, D., ... Gruber, A. D. (2012). Transcriptome and proteome analysis of tyrosine kinase inhibitor treated canine mast cell tumour cells identifies potentially kit signaling-dependent genes. *BMC Veterinary Research*, 8, 96. doi:10.1186/1746-6148-8-96
- Kobayashi, M., Sugisaki, O., Ishii, N., Yamada, O., Ito, K., Kuroki, S., ... Bonkobara, M. (2012). Canine intestinal mast cell tumor with c-kit exon 8 mutation responsive to imatinib therapy. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 193(1), 264–7. doi:10.1016/j.tvjl.2011.10.027
- Kobie, K., Kawabata, M., Hioki, K., Tanaka, A., Matsuda, H., Mori, T., & Maruo, K. (2007). The tyrosine kinase inhibitor imatinib [STI571] induces regression of xenografted canine mast cell tumors in SCID mice. *Research in Veterinary Science*, 82(2), 239–41. doi:10.1016/j.rvsc.2006.06.006
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cor, A., & Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo (Athens, Greece)*, 23(1), 55–62.
- Krick, E. L., Billings, A. P., Shofer, F. S., Watanabe, S., & Sorenmo, K. U. (2009). Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7(2), 130–8. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00185.x
- LaDue, T., Price, G. S., Dodge, R., Page, R. L., & Thrall, D. E. (1998). Radiation therapy for incompletely resected canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology & Ultrasound : The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 39(1), 57–62.
- Ledbetter, E., & Gilger, B. (2013). Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In K. Gelatt, B. Gilger, & T. Kern (Eds.), *Veterinary ophthalmology, Vol II* (5th ed., pp. 976–1049). Wiley-blackwell.
- Legorreta, R. A., Denman, D. L., Kelley, M. C., & Lewis, G. C. (1988). Use of hyperthermia and radiotherapy in treatment of a large mast cell sarcoma in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(12), 1545–8.
- Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S., ... Dubreuil, P. (2008). Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Molecular Cancer Research : MCR*, 6(7), 1137–45. doi:10.1158/1541-7786.MCR-08-0067
- Liao, A. T., Chien, M. B., Shenoy, N., Mendel, D. B., McMahon, G., Cherrington, J. M., & London, C. A. (2002). Inhibition of constitutively active forms of mutant kit by multitargeted indolinone tyrosine kinase inhibitors. *Blood*, 100(2), 585–93. doi:10.1182/blood-2001-12-0350

- Lin, T., Rush, L. J., & London, C. A. (2006). Generation and characterization of bone marrow-derived cultured canine mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113(1-2), 37–52. doi:10.1016/j.vetimm.2006.03.024
- London, C. A., Hannah, A. L., Zadovskaya, R., Chien, M. B., Kollias-Baker, C., Rosenberg, M., ... Cherrington, J. M. (2003). Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule recetor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 9(7), 2755–68.
- London, C. A., Kisseberth, W. C., Galli, S. J., Geissler, E. N., & Helfand, S. C. (1996). Expression of stem cell fator recetor (c-kit) by the malignant mast cells from spontaneous canine mast cell tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 115(4), 399–414.
- London, C. A., Malpas, P. B., Wood-Follis, S. L., Boucher, J. F., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., ... Michels, G. M. (2009). Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a recetor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 15(11), 3856–65. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1860
- London, C., Mathie, T., Stingle, N., Clifford, C., Haney, S., Klein, M. K., ... Gillings, S. (2012). Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia®) in solid tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), 194–205. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00275.x
- London, C., & Thamm, D. (2013). Mast cell tumors. In S. Withrow, D. Vail, & R. Page (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small animal clinical oncology* (5th ed., pp. 335–355). Elsevier.
- MacEwen, E. G., Hayes, A. A., Harvey, H. J., Patnaik, A. K., Mooney, S., & Passe, S. (1984). Prognostic fators for feline mammary tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(2), 201–4.
- Malone, E. K., Rassnick, K. M., Wakshlag, J. J., Russell, D. S., Al-Sarraf, R., Ruslander, D. M., ... Trump, D. L. (2010). Calcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol) enhances mast cell tumour chemotherapy and recetor tyrosine kinase inhibitor activity in vitro and has single-agent activity against spontaneously occurring canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(3), 209–20. doi:10.1111/j.1476-5829.2010.00223.x
- Marconato, L., Bettini, G., Giacoboni, C., Romanelli, G., Cesari, A., Zatelli, A., & Zini, E. (2008). Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 1001–7. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0128.x

- Martinez, M., & Rossignol, S. (2013). A dual spinal cord lesion paradigm to study spinal locomotor plasticity in the cat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1279, 127–34. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06823.x
- Matos, A. J. F., Baptista, C. S., Gärtner, M. F., & Rutteman, G. R. (2012). Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: the need for standardized procedures. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 193(1), 24–31. doi:10.1016/j.tvjl.2011.12.019
- Matsuda, A., Tanaka, A., Amagai, Y., Ohmori, K., Nishikawa, S., Xia, Y., ... Matsuda, H. (2011). Glucocorticoid sensitivity depends on expression levels of glucocorticoid receptors in canine neoplastic mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144(3-4), 321–8. doi:10.1016/j.vetimm.2011.08.013
- Mayr, B., Reifinger, M., Brem, G., Feil, C., & Schleger, W. (1999). Cytogenetic, ras, and p53: studies in cases of canine neoplasms (hemangiopericytoma, mastocytoma, histiocytoma, chloroma). *The Journal of Heredity*, 90(1), 124–8.
- McCaw, D. L., Miller, M. A., Bergman, P. J., Withrow, S. J., Moore, A. S., Knapp, D. W., ... Johnson, J. C. (1997). Vincristine therapy for mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 11(6), 375–8.
- McCaw, D. L., Miller, M. A., Ogilvie, G. K., Withrow, S. J., Brewer, W. G., Klein, M. K., ... Anderson, S. K. (1994). Response of canine mast cell tumors to treatment with oral prednisone. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 8(6), 406–8.
- McManus, P. M. (1999). Frequency and severity of mastocytemia in dogs with and without mast cell tumors: 120 cases (1995-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(3), 355–7.
- McNeill, C. J., Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., Gibeon, L., Durham, A. C., Barber, L. G., ... Overley, B. (2009). Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(1), 123–9. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0244.x
- McNiel, E. A., Prink, A. L., & O'Brien, T. D. (2006). Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4(1), 2–8. doi:10.1111/j.1476-5810.2006.00085.x
- Merlo, D. F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., ... Bocchini, V. (2008). Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 976–84. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x

- Michels, G. M., Knapp, D. W., DeNicola, D. B., Glickman, N., & Bonney, P. (2002). Prognosis following surgical excision of canine cutaneous mast cell tumors with histopathologically tumor-free versus nontumor-free margins: a retrospective study of 31 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(5), 458–66.
- Miller, D. M. (1995). The occurrence of mast cell tumors in young Shar-Peis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 7(3), 360–3.
- Mohr, A. J., Leisewitz, A. L., Jacobson, L. S., Steiner, J. M., Ruaux, C. G., & Williams, D. A. (2003). Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17(6), 791–8.
- Monteiro, B., Boston, S., & Monteith, G. (2011). Factors influencing complete tumor excision of mast cell tumors and soft tissue sarcomas: a retrospective study in 100 dogs. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 52(11), 1209–14.
- Moore, S. (2014). Acute Spinal Cord Injury: Fact, Fiction, and Future Directions. In *ACVIM Forum*. Nashville.
- Morini, M., Bettini, G., Preziosi, R., & Mandrioli, L. (2004). C-kit gene product (CD117) immunoreactivity in canine and feline paraffin sections. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 52(5), 705–8.
- Mullins, M. N., Dernell, W. S., Withrow, S. J., Ehrhart, E. J., Thamm, D. H., & Lana, S. E. (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). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(1), 91–5. doi:10.2460/javma.228.1.91
- Murphy, S., Sparkes, A. H., Smith, K. C., Blunden, A. S., & Brearley, M. J. (2004). Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *The Veterinary Record*, 154(24), 743–6.
- Nelson, R. (2009). Disorders of the endocrine pancreas. In R. Nelson & G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (pp. 764–809). Mosby Elsevier.
- Niessen, S. J. M., Petrie, G., Gaudiano, F., Khalid, M., Smyth, J. B. A., Mahoney, P., & Church, D. B. (2007). Feline acromegaly: an underdiagnosed endocrinopathy? *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 21(5), 899–905.

Northrup, N. C., Harmon, B. G., Gieger, T. L., Brown, C. A., Carmichael, K. P., Garcia, A., ... Howerth, E. W. (2005). Variation among pathologists in histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 17(3), 245–8.

Northrup, N. C., Roberts, R. E., Harrell, T. W., Allen, K. L., Howerth, E. W., & Gieger, T. L. (n.d.). Iridium-192 interstitial brachytherapy as adjunctive treatment for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(4), 309–15.

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

O'Keefe, D. A., Couto, C. G., Burke-Schwartz, C., & Jacobs, R. M. (1987). Systemic mastocytosis in 16 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 1(2), 75–80.

Overley, B., Shofer, F. S., Goldschmidt, M. H., Sherer, D., & Sorenmo, K. U. (2005). Association between ovariectomy and feline mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 19(4), 560–3.

Oyama, M. A. (2009). Neurohormonal activation in canine degenerative mitral valve disease: implications on pathophysiology and treatment. *The Journal of Small Animal Practice*, 50 Suppl 1, 3–11. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00801.x

Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2002). Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. *Veterinary Pathology*, 39(5), 557–64.

Palacio, F. (2013). Risk factors in dogs and cats for development of chronic kidney disease. *IRIS*. Retrieved June 05, 2014, from <http://www.iris-kidney.com/education/risk-factors.shtml>

Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*, 21(5), 469–74.

Patruno, R., Arpaia, N., Gadaleta, C. D., Passantino, L., Zizzo, N., Misino, A., ... Ranieri, G. (2009). VEGF concentration from plasma-activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(3), 555–61. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00355.x

Patruno, R., Marech, I., Zizzo, N., Ammendola, M., Nardulli, P., Gadaleta, C., ... Ranieri, G. (2014). c-Kit expression, angiogenesis, and grading in canine mast cell tumour: a unique model to study c-Kit driven human malignancies. *BioMed Research International*, 2014, 730246. doi:10.1155/2014/730246

- Piermattei, D., Flo, G., & DeCamp, C. (2006). The stifle joint. In D. Piermattei, G. Flo, & C. DeCamp (Eds.), *Handbook of small animal orthopedics and fracture repair* (4th ed., pp. 582–607). Saunders Elsevier.
- Platt, S., & Olby, N. (2004). Neurological emergencies. In S. Platt & N. Olby (Eds.), *BSAVA Manual of canine and feline neurology* (3rd ed., pp. 320–326). BSAVA.
- Pohlman, L. (2010). Basophils, mast cells, and their disorders. In D. Weiss & J. Wardrop (Eds.), *Schalm's Veterinary hematology* (6th ed., pp. 290–297). Wiley-blackwell.
- Poirier, V. J., Adams, W. M., Forrest, L. J., Green, E. M., Dubielzig, R. R., & Vail, D. M. (2006). Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42(6), 430–4.
- Polzin, D. J. (2013). Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 23(2), 205–15. doi:10.1111/vec.12034
- Poppenga, R. (2007). Toxicological emergencies. In L. King & A. Boag (Eds.), *BSAVA Manual of canine and feline emergency and critical care* (2nd ed., pp. 278–295). BSAVA.
- Pouchelon, J.-L., Jamet, N., Gouni, V., Tissier, R., Serres, F., Carlos Sampedrano, C., ... Chetboul, V. (2008). Effect of benazepril on survival and cardiac events in dogs with asymptomatic mitral valve disease: a retrospective study of 141 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 905–14. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0105.x
- Pratschke, K. M., Atherton, M. J., Sillito, J. A., & Lamm, C. G. (2013). Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008-2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(10), 1436–41. doi:10.2460/javma.243.10.1436
- Pretzer, S. D. (2008). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. *Theriogenology*, 70(3), 359–63. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.04.028
- Preziosi, R., Sarli, G., & Paltrinieri, M. (2004). Prognostic value of intratumoral vessel density in cutaneous mast cell tumors of the dog. *Journal of Comparative Pathology*, 130(2-3), 143–51. doi:10.1016/j.jcpa.2003.10.003
- Pryer, N. K., Lee, L. B., Zadovaskaya, R., Yu, X., Sukbuntherng, J., Cherrington, J. M., & London, C. A. (2003). Proof of target for SU11654: inhibition of KIT phosphorylation in canine mast cell tumors. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 9(15), 5729–34.

Radin, J., & Wellman, M. (2010). Granulopoiesis. In D. Weiss & J. Wardrop (Eds.), *Schalm's Veterinary hematology* (6th ed., pp. 43–49). Wiley-blackwell.

Randolph, J. E., Scarlett, J. M., Stokol, T., Saunders, K. M., & MacLeod, J. N. (2004). Expression, bioactivity, and clinical assessment of recombinant feline erythropoietin. *American Journal of Veterinary Research*, 65(10), 1355–66.

Randolph, J. E., Scarlett, J., Stokol, T., & MacLeod, J. N. (2004). Clinical efficacy and safety of recombinant canine erythropoietin in dogs with anemia of chronic renal failure and dogs with recombinant human erythropoietin-induced red cell aplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 81–91.

Raskin, R. (2010). Skin and subcutaneous tissues. In R. Raskin & D. Meyer (Eds.), *Canine and Feline Cytology* (2nd ed., pp. 26–76). St. Louis: Saunders Elsevier.

Rassnick, K. M., Al-Sarraf, R., Bailey, D. B., Chretien, J. D., Phillips, B., & Zwhalen, C. H. (2010). Phase II open-label study of single-agent hydroxyurea for treatment of mast cell tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(2), 103–11. doi:10.1111/j.1476-5829.2010.00211.x

Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Flory, A. B., Balkman, C. E., Kiselow, M. A., Intile, J. L., & Autio, K. (2008). Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(6), 1390–6. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0195.x

Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Russell, D. S., Flory, A. B., Kiselow, M. A., Intile, J. L., ... Barnard, S. M. (2010). A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(2), 138–52. doi:10.1111/j.1476-5829.2010.00217.x

Rassnick, K. M., Moore, A. S., Williams, L. E., London, C. A., Kintzer, P. P., Engler, S. J., & Cotter, S. M. (1999). Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (lomustine). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 13(6), 601–5.

Reynolds, C. A., Brown, D. C., Rush, J. E., Fox, P. R., Nguyenba, T. P., Lehmkuhl, L. B., ... Oyama, M. A. (2012). Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 14(1), 193–202. doi:10.1016/j.jvc.2012.01.008

Richards, J. M., Farrar, E. J., Kornreich, B. G., Moïse, N. S., & Butcher, J. T. (2012). The mechanobiology of mitral valve function, degeneration, and repair. *Journal of Veterinary*

Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology, 14(1), 47–58. doi:10.1016/j.jvc.2012.01.002

Robat, C., London, C., Bunting, L., McCartan, L., Stingle, N., Selting, K., ... Vail, D. M. (2012). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia®) in dogs: a phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), 174–83. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00261.x

Romansik, E. M., Reilly, C. M., Kass, P. H., Moore, P. F., & London, C. A. (2007). Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 44(3), 335–41. doi:10.1354/vp.44-3-335

Roskoski, R. (2005). Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase--the stem cell factor receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(3), 1307–15. doi:10.1016/j.bbrc.2005.09.150

Rucinsky, R., Cook, A., Haley, S., Nelson, R., Zoran, D. L., & Poundstone, M. (2010). AAHA diabetes management guidelines. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 46(3), 215–24.

Sabattini, S., Scarpa, F., Berlato, D., & Bettini, G. (2014). Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor: Is 2 Better Than 3? *Veterinary Pathology*. doi:10.1177/0300985814521638

Sailasuta, A., Ketpun, D., Piyaviriyakul, P., Theerawatanasirikul, S., Theewasutrakul, P., & Rungsipipat, A. (2014). The Relevance of CD117-Immunocytochemistry Staining Patterns to Mutational Exon-11 in c-kit Detected by PCR from Fine-Needle Aspirated Canine Mast Cell Tumor Cells. *Veterinary Medicine International*, 2014, 787498. doi:10.1155/2014/787498

Santos, A. A., Lopes, C. C., Ribeiro, J. R., Martins, L. R., Santos, J. C., Amorim, I. F., ... Matos, A. J. (2013). Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumours: a multivariable survival study. *BMC Veterinary Research*, 9, 1. doi:10.1186/1746-6148-9-1

Sato, A. F., & Solano, M. (2004). Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 45(1), 51–7.

Scarpa, F., Sabattini, S., & Bettini, G. (2014). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*. doi:10.1111/vco.12090

Scase, T. J., Edwards, D., Miller, J., Henley, W., Smith, K., Blunden, A., & Murphy, S. (2006). Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis.

Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine, 20(1), 151–8.

Schmitz, S., Coenen, C., König, M., Thiel, H.-J., & Neiger, R. (2009). Comparison of three rapid commercial Canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(3), 344–5.

Schneider, R., Dorn, C. R., & Taylor, D. O. (1969). Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal of the National Cancer Institute*, 43(6), 1249–61.

Schultheiss, P. C., Gardiner, D. W., Rao, S., Olea-Popelka, F., & Tuohy, J. L. (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1464–9. doi:10.2460/javma.238.11.1464

Schwab, T. M., Popovitch, C., DeBiasio, J., & Goldschmidt, M. (2014). Clinical outcome for MCTs of canine pinnae treated with surgical excision (2004-2008). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 50(3), 187–91. doi:10.5326/JAAHA-MS-6039

Séguin, B., Leibman, N. F., Bregazzi, V. S., Ogilvie, G. K., Powers, B. E., Dernell, W. S., ... Withrow, S. J. (2001). Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 cases (1996-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(7), 1120–3.

Seixas, F., Palmeira, C., Pires, M. A., Bento, M. J., & Lopes, C. (2011). Grade is an independent prognostic factor for feline mammary carcinomas: a clinicopathological and survival analysis. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187(1), 65–71. doi:10.1016/j.tvjl.2009.10.030

Sfiligoi, G., Rassnick, K. M., Scarlett, J. M., Northrup, N. C., & Gieger, T. L. (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1368–74.

Simoes, J. P., Schoning, P., & Butine, M. (1994). Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Veterinary Pathology*, 31(6), 637–47.

Simon, D., Schoenrock, D., Baumgärtner, W., & Nolte, I. (2006). Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumors in dogs with doxorubicin and docetaxel. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 20(5), 1184–90.

- Simpson, A. M., Ludwig, L. L., Newman, S. J., Bergman, P. J., Hottinger, H. A., & Patnaik, A. K. (2004). Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(2), 236–40.
- Sonnenschein, E. G., Glickman, L. T., Goldschmidt, M. H., & McKee, L. J. (1991). Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *American Journal of Epidemiology*, 133(7), 694–703.
- Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., & Goldschmidt, M. H. (2000). Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 14(3), 266–70.
- Sorenmo, K., Worley, D., & Goldschmidt, M. (2013). Tumors of the mammary gland. In S. Withrow, D. Vail, & R. Page (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small animal clinical oncology* (5th ed., pp. 538–556). Elsevier.
- Spugnini, E. P., Vincenzi, B., Baldi, F., Citro, G., & Baldi, A. (2006). Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Research*, 26(6B), 4585–9.
- Spugnini, E. P., Vincenzi, B., Citro, G., Dotsinsky, I., Mudrov, T., & Baldi, A. (2011). Evaluation of Cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), 407–11. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0678.x
- Srivastav, A., Kass, P. H., McGill, L. D., Farver, T. B., & Kent, M. S. (2012). Comparative vaccine-specific and other injectable-specific risks of injection-site sarcomas in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(5), 595–602. doi:10.2460/javma.241.5.595
- Stanclift, R. M., & Gilson, S. D. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(1), 53–62. doi:10.2460/javma.232.1.53
- Stefanello, D., Valenti, P., Faverzani, S., Bronzo, V., Fiorbianco, V., Pinto da Cunha, N., ... Caniatti, M. (2009). Ultrasound-guided cytology of spleen and liver: a prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(5), 1051–7. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0354.x
- Støvring, M., Moe, L., & Glatte, E. (1997). A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 105(8), 590–6.

Strefezzi, R. de F., Xavier, J. G., Kleeb, S. R., & Catão-Dias, J. L. (2009). Nuclear morphometry in cytopathology: a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(6), 821–5.

Suzuki, D. O. H., Anselmo, J., de Oliveira, K. D., Freytag, J. O., Rangel, M. M. M., Marques, J. L. B., & Ramos, A. (2014). Numerical Model of Dog Mast Cell Tumor Treated by Electrochemotherapy. *Artificial Organs*, n/a–n/a. doi:10.1111/aor.12333

Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Matsunaga, S., Mochizuki, M., Nishimura, R., & Sasaki, N. (2000). Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(2), 222–6.

Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Mochizuki, M., Matsunaga, S., Nishimura, R., & Sasaki, N. (1997). Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumor. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 59(11), 995–1001.

Takeuchi, Y., Fujino, Y., Fukushima, K., Watanabe, M., Nakagawa, T., Ohno, K., ... Tsujimoto, H. (2012). Biological effect of tyrosine kinase inhibitors on three canine mast cell tumor cell lines with various KIT statuses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35(1), 97–104. doi:10.1111/j.1365-2885.2011.01296.x

Takeuchi, Y., Fujino, Y., Watanabe, M., Takahashi, M., Nakagawa, T., Takeuchi, A., ... Tsujimoto, H. (2013). Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: a retrospective cohort study. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 196(3), 492–8. doi:10.1016/j.tvjl.2012.11.018

Tams. (2013). Gastrointestinal foreign body obstruction in dogs. In *Western veterinary conference*. Las Vegas.

Tanabe, S., Yamaguchi, M., Iijima, M., Nakajima, S., Sakata, I., Miyaki, S., ... Sarashina, T. (2004). Fluorescence detection of a new photosensitizer, PAD-S31, in tumour tissues and its use as a photodynamic treatment for skin tumours in dogs and a cat: a preliminary report. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 167(3), 286–93. doi:10.1016/j.tvjl.2003.07.001

Taylor, F., Gear, R., Hoather, T., & Dobson, J. (2009). Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. *The Journal of Small Animal Practice*, 50(6), 284–9. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00732.x

Thamm, D. (2013). Miscellaneous tumors. In S. Withrow, D. Vail, & R. Page (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small animal clinical oncology* (5th ed., pp. 706–715). Elsevier.

Thamm, D. H., Mauldin, E. A., & Vail, D. M. (1999). Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor--41 cases (1992-1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 13(5), 491–7.

Thamm, D. H., Turek, M. M., & Vail, D. M. (2006). Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 cases. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 68(6), 581–7.

Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L., & Foster, R. A. (2011a). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48(1), 156–68. doi:10.1177/0300985810387446

Thompson, J. J., Yager, J. A., Best, S. J., Pearl, D. L., Coomber, B. L., Torres, R. N., ... Foster, R. A. (2011b). Canine subcutaneous mast cell tumors: cellular proliferation and KIT expression as prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48(1), 169–81. doi:10.1177/0300985810390716

Torres de la Riva, G., Hart, B. L., Farver, T. B., Oberbauer, A. M., Messam, L. L. M., Willits, N., & Hart, L. A. (2013). Neutering dogs: effects on joint disorders and cancers in golden retrievers. *PloS One*, 8(2), e55937. doi:10.1371/journal.pone.0055937

Turrel, J. M., Kitchell, B. E., Miller, L. M., & Théon, A. (1988). Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(8), 936–40.

Vaden, S. L. (2009). What's On the Horizon for Management of Proteinuria Renal Diseases? In *ACVIM 2009*. Raleigh.

Vaden, S. L. (2011). Glomerular disease. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(3), 128–34. doi:10.1053/j.tcam.2011.04.003

Vascellari, M., Giantin, M., Capello, K., Carminato, A., Morello, E. M., Vercelli, A., ... Mutinelli, F. (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. *Veterinary Pathology*, 50(1), 110–21. doi:10.1177/0300985812447829

Villamil, J. A., Henry, C. J., Bryan, J. N., Ellersieck, M., Schultz, L., Tyler, J. W., & Hahn, A. W. (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(7), 960–5. doi:10.2460/javma.239.7.960

- Waddell, L. S., Poppenga, R. H., & Drobatz, K. J. (2013). Anticoagulant rodenticide screening in dogs: 123 cases (1996-2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(4), 516–21. doi:10.2460/javma.242.4.516
- Ware, W. (2009). Acquired valvular and endocardial disease. In R. Nelson & G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (4th ed., pp. 114–127).
- Ware, W. (2014). Management of heart failure. In R. Nelson & G. C. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (5th ed.). Elsevier.
- Warland, J., & Dobson, J. (2013). Breed predispositions in canine mast cell tumour: a single centre experience in the United Kingdom. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 197(2), 496–8. doi:10.1016/j.tvjl.2013.02.017
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Kaneene, J. B., Miller, R., Resau, J. H., & Kiupel, M. (2006). The role of c-KIT in tumorigenesis: evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 8(2), 104–11. doi:10.1593/neo.05622
- Weisse, C., Shofer, F. S., & Sorenmo, K. (2002). Recurrence rates and sites for grade II canine cutaneous mast cell tumors following complete surgical excision. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(1), 71–3.
- White, C. R., Hohenhaus, A. E., Kelsey, J., & Procter-Gray, E. (2011). Cutaneous MCTs: associations with spay/neuter status, breed, body size, and phylogenetic cluster. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(3), 210–6. doi:10.5326/JAAHA-MS-5621
- Witsberger, T. H., Villamil, J. A., Schultz, L. G., Hahn, A. W., & Cook, J. L. (2008). Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(12), 1818–24. doi:10.2460/javma.232.12.1818
- Wobeser, B., Kidney, B., Powers, B., Withrow, S., Mayer, M., Spinato, M., & Allen, A. (2007). Diagnoses and clinical outcomes associated with s... [Vet Pathol. 2007] - PubMed - NCBI. *Veterinary Pathology*, 44(3), 355–361.
- Woodward, K. N. (2011). Origins of injection-site sarcomas in cats: the possible role of chronic inflammation-a review. *ISRN Veterinary Science*, 2011, 210982. doi:10.5402/2011/210982
- Wu, H., Hayashi, T., & Inoue, M. (2004). Immunohistochemical expression of p27 and p21 in canine cutaneous mast cell tumors and histiocytomas. *Veterinary Pathology*, 41(3), 296–9. doi:10.1354/vp.41-3-296
- Wucherer, K. L., Conzemius, M. G., Evans, R., & Wilke, V. L. (2013). Short-term and long-term outcomes for overweight dogs with cranial cruciate ligament rupture treated surgically or

nonsurgically. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(10), 1364–72. doi:10.2460/javma.242.10.1364

Yamada, O., Kobayashi, M., Sugisaki, O., Ishii, N., Ito, K., Kuroki, S., ... Bonkobara, M. (2011). Imatinib elicited a favorable response in a dog with a mast cell tumor carrying a c-kit c.1523A>T mutation via suppression of constitutive KIT activation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 142(1-2), 101–6. doi:10.1016/j.vetimm.2011.04.002

Zavodovskaya, R., Chien, M. B., & London, C. A. (2004). Use of kit internal tandem duplications to establish mast cell tumor clonality in 2 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 18(6), 915–7.

Zemke, D., Yamini, B., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2002). Mutations in the juxtamembrane domain of c-KIT are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Veterinary Pathology*, 39(5), 529–35.

Aviso nº 7957/2013 de 4 de Junho. *Diário da República nº 118/2013* – II Série. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território – Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa

Decreto-lei nº 313/2003 de 17 de Dezembro. *Diário da República nº 290/2003* – I Série-A. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas. Lisboa

Portaria nº 264/2013 de 16 de Agosto. *Diário da República nº 157/2013* – I Série. Ministérios das Finanças, da Administração Interna e da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa