

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TALITA CRISTINA MODESTO

GRADUAÇÃO CITOLÓGICA DE MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM
GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA E SOBREVIDA

UBERLÂNDIA
2022

TALITA CRISTINA MODESTO

GRADUAÇÃO CITOLÓGICA DE MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM
GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA E SOBREVIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros – Ronchi.

UBERLÂNDIA
2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M691 2022	<p>Modesto, Talita Cristina, 1994- GRADUAÇÃO CITOLÓGICA DE MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM GRADUAÇÃO HISTOLOGICA E SOBREVIDA [recurso eletrônico] / Talita Cristina Modesto. - 2022.</p> <p>Orientadora: Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.86 Inclui bibliografia.</p> <p>1. Veterinária. I. Medeiros-Ronchi, Alessandra Aparecida ,1971-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 619</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

BR 050, Km 78, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 2512-6811 - www.ppgcv.famev.ufu.br - mesvet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	CIÊNCIAS VETERINÁRIAS				
Defesa de:	DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO Nº PPGCVET/ 006/2022				
Data:	03 de fevereiro de 2022	Hora de início:	9:00	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	12012MEV014				
Nome do Discente:	TALITA CRISTINA MODESTO				
Título do Trabalho:	Graduação citológica de mastocitomas caninos: correlação com graduação histológica e sobrevida				
Área de concentração:	Saúde Animal				
Linha de pesquisa:	Investigação Etiológica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Patologia Oncológica e epidemiologia das neoplasias dos animais domésticos				

Reuniu-se por Videoconferência (meio eletrônico), da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: **Márcio de Barros Bandarra - UFU; Geórgia Modé Magalhães - IF Sul de Minas; Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dra. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Aparecida Medeiros Ronchi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2022, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Barros Bandarra, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2022, às 12:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Georgia Modé Magalhães, Usuário Externo**, em 04/02/2022, às 10:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3343805** e o código CRC **99599138**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer imensamente a Deus, por me proporcionar saúde e condições para conseguir chegar até aqui, prestes a concluir a realização de um sonho, mesmo que em meio a todas as dificuldades geradas pela pandemia que nos acompanha nesses quase dois anos.

À minha mãe, pelo incentivo, amor, e por me mostrar sempre o lado bom quando eu pensei em reclamar ou desistir de algo. Aos meus irmãos e avós, pelo apoio e carinho de sempre. A esses e todos os outros familiares por compreenderem a minha ausência e distância em função da realização dos meus sonhos.

Ao meu namorado Rafael que esteve tão presente me apoiando, sendo meu ombro amigo e me acalmando nos momentos difíceis, juntamente com a sua mãe Luzia, por todo cuidado, carinho e preocupação que tiveram comigo nesse último ano.

À professora Alessandra, minha orientadora. Admiro a pessoa e profissional forte, determinada e dedicada. O último ano não foi fácil, mesmo diante das dificuldades ela não abriu mão das suas orientações e não mediu esforços para a conclusão desse trabalho, incentivando a continuidade dos meus estudos. Obrigada por toda a confiança, pelos ensinamentos, e pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

À toda equipe do Laboratório de Patologia Animal da UFU, professores Márcio e Matias, residentes e técnicos. Em especial aos amigos Igor, Ligia Assunção, Heloísa e principalmente à minha amiga e colaboradora Lígia Gundim. Amigos, obrigada por me ajudarem e escutarem todas as vezes que precisei.

Aos meus amigos de longa data, Marcelo e Júnior Artur, por compartilharem dos mesmos sonhos desde a graduação, e continuarem me incentivando, torcendo e apoiando, mesmo que à distância. À minha amiga Gabriela, por todo apoio e orações. E a todos os amigos, que de alguma forma fizeram parte dessa realização.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado.

RESUMO

O mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas mais comumente diagnosticadas em cães, e apresenta um comportamento biológico variável. O diagnóstico pode ser feito através de exames citopatológicos e/ou histopatológicos. A graduação histológica é considerada atualmente o padrão ouro para prever o prognóstico dos mastocitomas, no entanto, estudos têm sido realizados visando utilizar uma classificação citológica para fornecer informações semelhantes de maneira mais rápida, menos invasiva e mais acessível. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo, levantar dados epidemiológicos, realizar graduação citológica e correlacionar com as graduações histológicas e com a sobrevida de cães diagnosticados com mastocitoma cutâneo no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia dos anos de 2016 a 2021. Para isso, 83 lâminas de citologia e histologia de 72 animais foram revisadas e graduadas por patologistas. A concordância entre os sistemas de graduação foi avaliada utilizando uma estatística kappa, o tempo de sobrevida dos animais foi analisado através do método de Kaplan-Meier, e a análise univariada pela regressão de Cox foi utilizada para comparação das variáveis preditoras do grau citológico e grau histológico para o mastocitoma canino e o tempo de sobrevida global. Em todos os testes foi adotado o nível de significância de $p \leq 0,05$. A classificação citológica quando comparada com a graduação histológica de dois níveis, alto grau e baixo grau, obteve uma concordância moderada (kappa 0,566), e o grau na citologia previu corretamente o grau histológico em 84,3% dos casos. Na avaliação da correlação entre sobrevida e grau citológico, houve uma maior taxa de óbito no grupo de cães com mastocitoma de alto grau, comparado aos de baixo grau, sendo observada correlação entre a sobrevida e o grau citológico ($p = 0,009$). Apesar disso, o grau citológico quando comparado com a graduação histológica de três níveis, grau I, grau II e grau III, gerou uma concordância ruim. Esse estudo concluiu que o grau citológico é útil para auxiliar no planejamento do tratamento e fornecer informações prognósticas que antecedem a exérese do tumor, tendo boa correlação com a graduação histológica de dois níveis e com a sobrevida dos animais.

Palavras-chave: cão. citopatologia. grau. histopatologia. mastócitos. neoplasia. prognóstico.

ABSTRACT

Mast cell tumor is one of the most commonly diagnosed neoplasia in dogs, and it shows a variable biological behavior. The diagnostic is made using cytopathology and/or histopathology. The histological grading is considered the gold standard test to predict the prognosis of mast cell tumor. However, studies have been made using the cytological classification to provide similar information in a faster, less invasive and more accessible way. Therefore, this paper aims raise epidemiological data, perform cytological graduation, and correlate it with the histological grading and survival time of dogs diagnosed with cutaneous mast cell tumor at the Veterinary Hospital of Uberlândia Federal University, in the years of 2016 to 2021. For that, 83 cytological and histological slides from 72 animals were reevaluated and graduated by pathologists. The agreement between the grading systems were made using kappa statistics test, the survival time was analyzed with Kaplan-Meier test, and the univariate Cox regression analysis was used to compare the predictor variables of the cytological and histological grades for the canine mast cell tumor and the global survival time. In all analysis the significant level was of $p \leq 0.05$. The cytology classification when compared to the 2-tier histologic grading, high grade and low grade, had a moderated agreement (kappa 0.566), and the cytological grading predicted correctly the histologic grade in 84.3% of the cases. When evaluated the correlation between the survival time and the cytological grade, there was a higher death rate in the group with high grade mast cell tumor compared to the low grade, pointing a correlation between the survival time and the cytological grade ($p = 0.009$). Despite that, the cytological grade compared to the 3-tier histological grade, grade I, grade II and grade III, had a poor agreement. This research concludes that the cytological grade is useful to help the treatment planning and to provide prognostic information that precedes the tumor removal, showing a good correlation with the 2-tier histologic grading and with the survival time of the animals.

Keywords: cytopathology. degree. dog. histopathology. mast cell. neoplasm. prognosis.

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MCT - Mastocitoma

UFU - Universidade Federal de Uberlândia

HOVET - Hospital Veterinário

SG - Sobrevida global

H.E. - Hematoxilina e Eosina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Mastocitoma Canino	13
2.1.1 <i>Características clínicas</i>	14
2.1.2 <i>Diagnóstico</i>	14
2.1.3 <i>Gradação Histológica</i>	15
2.1.4 <i>Gradação Citológica</i>	17
2.1.5 <i>Prognóstico e Sobrevida</i>	18
2.1.6 <i>Excisão e margens cirúrgicas</i>	19
REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 2	27
ARTIGO	27
REFERÊNCIAS	39

CAPÍTULO 1

Revisão de Literatura

1 INTRODUÇÃO

O mastocitoma (MCT) é uma proliferação neoplásica de mastócitos, comumente diagnosticado na rotina veterinária (BLACKWOOD et al., 2012). Estudos mostram que o MCT, dentre todas as neoplasias cutâneas benignas e malignas, está entre as mais prevalentes em cães, representando 16,24 % (KOK et al., 2019), 17,87% (TOSTES et al., 2017) e 21% das neoplasias cutâneas nessa espécie (KIUPEL, 2017).

Apresenta comportamento biológico altamente variável, causando desde massas localizadas que podem ser curadas por ressecção cirúrgica, até tumores agressivos com potencial para recorrência local e metástases, podendo levar o animal a morte (BROCKS et al., 2021; KIUPEL et al., 2011).

O diagnóstico dessa neoplasia é baseado na análise citopatológica e/ou histopatológica das lesões. A citopatologia é eficiente para estabelecer o diagnóstico (KIUPEL, 2017), já a histopatologia, além de estabelecer o diagnóstico, também é o exame utilizado como padrão ouro para determinação do grau histológico do MCT (KIUPEL et al., 2011; PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). No entanto, estudos têm sido realizados com intuito de estabelecer graduação também na citologia (CAMUS et al., 2016; HERGT et al., 2016; SCARPA; SABATTINI; BETTINI, 2014).

A graduação histológica é elemento fundamental para determinar o prognóstico dos MCTs cutâneos caninos (BERLATO et al., 2021 KIUPEL et al., 2011). Na histopatologia, a graduação do tumor pode ser feita pelos sistemas de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) que gradua os tumores em 3 níveis : grau I (bem diferenciado), grau II (intermediariamente diferenciado) e grau III (pouco diferenciado), e também pelo sistema de Kiupel et al. (2011), que gradua os tumores em alto e baixo grau.

A sobrevida dos animais com MCT tem relação direta com a graduação histológica, sendo maior em MCTs de graus I, II e baixo grau, e menor em MCTs de grau III e de alto grau (NATIVIDADE et al., 2014). Cães com MCT de baixo grau tiveram um tempo médio de sobrevivência de mais de 2 anos (KIUPEL et al., 2011; NATIVIDADE et al., 2014;), enquanto os cães com MCTs de alto grau tiveram um tempo médio de sobrevivência inferior a 4 meses (KIUPEL et al., 2011). Animais com tumores de alto grau apresentaram mais chances de morrer quando comparados aos com MCT de baixo grau (HORTA et al., 2018).

A graduação citológica desenvolvida por Camus et al. (2016) apresenta boa correlação com a sobrevida e com a graduação histológica, sendo que cães com MCT de baixo grau citológico tiveram sobrevida prolongada. A graduação citológica dos MCTs caninos visa

preencher a lacuna entre o planejamento inicial e a graduação histopatológica pós excisão do tumor, antecipando essa informação e podendo inclusive auxiliar na conduta cirúrgica.

Entretanto, poucos estudos estão disponíveis na literatura acerca da acurácia da graduação citológica em prever o prognóstico de cães com MCT. A citologia é uma ferramenta de diagnóstico pouco invasiva, de baixo custo e eficaz no diagnóstico dos MCT caninos e a atribuição do grau na análise citológica pode contribuir para o estabelecimento do prognóstico e rápido planejamento do tratamento desta neoplasia em cães. Assim, os objetivos deste trabalho foram: realizar estudo retrospectivo dos casos de MCT cutâneo canino, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET-UFU) dos anos de 2016 a 2021; avaliar dados epidemiológicos a respeito de raça, idade e sexo de cães portadores de MCTs; atribuir grau histológico aos MCTs segundo Patnaik, Ehler e Macewen (1984) e Kiupel et al. (2011); atribuir grau citológico aos MCTs segundo algoritmo desenvolvido por Camus et al. (2016); comparar a graduação citológica com a graduação histopatológica dos MCTs caninos estudados; determinar o valor prognóstico da graduação citológica correlacionando-a com a sobrevida dos cães portadores de MCT.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mastocitoma Canino

A ocorrência de neoplasias em animais tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, relacionado ao incremento na qualidade de vida, melhor nutrição, vacinações e avanço no tratamento para doenças que antes culminariam em eutanásia (PIERINI et al., 2012). Segundo Inoue et al. (2015) as doenças neoplásicas são a principal causa de morte em cães, representando 14,9% do total de óbitos. Além disso, Bronson et al. (1982) afirmam que 45% dos cães com 10 anos ou mais, morrem devido a neoplasias e suas complicações.

Grande parte das neoplasias diagnosticadas em cães se localiza na pele (CONCEIÇÃO; LOURES, 2017). A exposição direta a fatores oncogênicos e a alta taxa de renovação celular das células da pele também são apontados como causas de neoplasias cutâneas (MEDLEAU; HNILICA, 2009; MURPHY, 2006).

Dentre as neoplasias cutâneas, destaca-se o MCT, proliferação neoplásica de mastócitos que ocorre predominantemente na pele, podendo acometer outras localizações, como órgãos hematopoiéticos, e mucosas (BLACKWOOD et al., 2012; WILLMANN et al., 2021).

Os mastócitos surgem na medula óssea, migrando para os tecidos periféricos e diferenciando-se em mastócitos maduros. Estão presentes na maioria dos tecidos, principalmente em locais em que ocorre contato do organismo com o meio ambiente, como pele e mucosas (SCOTT; STOCKHAM, 2000). Sabe-se que o proto-oncogene C-KIT está envolvido na patogênese do MCT (WEBSTER et al., 2006), entretanto a etiologia da proliferação neoplásica de mastócitos ainda é incerta, sendo apontadas causas diversas, tais como deficiência de vitamina D (WAKSHLAG et al., 2011), inflamação crônica (VAIL; WITHROW, 1996) e até infecções virais (DALECK et al., 2009).

O MCT é uma das doenças neoplásicas mais comuns em cães, sendo responsável por 21% de todos os tumores de pele (KIUPEL, 2017). Pode ocorrer em animais de qualquer idade, no entanto os cães adultos são os mais acometidos com faixa etária média de nove anos (LONDON; THAMM; VAIL, 2013). As raças mais acometidas são Boxer, Labrador, Golden Retriever (PIERINI et al., 2019) e Pug (WHITE et al., 2011). A neoplasia não apresenta predisposição sexual (COSTA et al. 2017; PIERINI et al., 2019), apesar disso, Kiupel et al. (2005) observaram que os cães machos apresentavam menos tempo de sobrevida e Śmiech et al., (2018) que nas fêmeas os MCT eram menos agressivos. Além disso, White e colaboradores

(2011), sugeriram a existência de influência hormonal no desenvolvimento do MCT dos cães, já que as fêmeas castradas apresentaram maior risco de ocorrência da doença.

2.1.1 Características clínicas

No MCT o quadro clínico do animal, o curso e prognóstico da doença variam consideravelmente dependendo do local anatômico acometido, e do grau e estágio em que o tumor se encontra. Esse tumor pode ter uma aparência macroscópica altamente variável, apresentando-se como lesões solitárias, ou também como múltiplas lesões na pele variando desde alguns milímetros a vários centímetros (GROSS et al., 2005). É uma neoplasia capaz de mimetizar a forma clínica de qualquer lesão dérmica primária ou secundária, apresentando máculas, pápulas, nódulos, tumores e crostas. Devido a esse fato, o mastocitoma deve sempre estar presente na lista de diagnósticos diferenciais de qualquer lesão cutânea em cães (DE NARDI et al., 2018). Na superfície de corte cutânea os MCTs são brancos ou rosa, às vezes com focos de hemorragia, e suas margens não são distintas (KIUPEL, 2017).

Em alguns animais, os mastócitos neoplásicos podem sofrer degranulação quando o tumor é manipulado, inchaço local, eritema e prurido são mediados principalmente pelos receptores H1 de histamina. Os animais com MCTs frequentemente manifestam sinais paraneoplásicos locais e sistêmicos, os quais estão ligados à liberação de histamina, heparina e proteases. As ulcerações gastrointestinais induzidas pela histamina são principalmente mediadas por receptores H2. Devido a este fato, animais com MCT podem manifestar vômitos, hemorragias gastrointestinais, anorexia e dor abdominal. Alguns cães desenvolvem anemia secundária devido a deficiência de ferro por hemorragia digestiva. A peritonite foi relatada devido à perfuração das úlceras gástricas. Raramente, uma reação aguda anafilática pode ser causada por liberação súbita de histamina em cães com grandes MCTs ou tumores generalizados (BLACKWOOD et al., 2012; KIUPEL, 2017; THAMM; VAIL, 2001).

2.1.2 Diagnóstico

A avaliação citológica é realizada na rotina clínica, geralmente antes do exame histopatológico e, como tal, pode ser considerada um teste de triagem, o qual apresenta 77% de sensibilidade no diagnóstico de neoplasias (COLETO et al. 2016). No caso dos mastocitomas o diagnóstico pode ser estabelecido por exame citológico em 92-96% dos casos (BAKER-

GABB; HUNT; FRANCE, 2003), já que os mastócitos esfoliam facilmente e são identificáveis pela coloração de seus grânulos intracitoplasmáticos metacromáticos (BLACKWOOD et al., 2012).

A citologia é um excelente método de diagnóstico devido à rapidez na execução, precisão, além de apresentar menor invasividade e maior acessibilidade comparado à biópsia incisional ou excisional (CAMUS; MEUTEN, 2017). Wellman e London (2020) citam a importância desse exame para o planejamento cirúrgico desses tumores, uma vez que na biópsia incisional podem ocorrer sangramentos, devido à presença de heparina e histamina nos grânulos dos mastócitos.

Outra forma de diagnóstico dos mastocitomas é o exame histopatológico, que apresenta como vantagem a possibilidade de avaliação da arquitetura tumoral, além da avaliação das margens. Neste exame, a maioria dos tumores se localizam na derme ou epiderme por vezes podendo ser subcutâneos, e de acordo com essa localização são classificados em MCT cutâneo ou subcutâneo. Estudos anteriores mostram que a maioria dos MCTs cutâneos têm um comportamento biológico mais maligno do que os MCT subcutâneos (NEWMAN et. al., 2007; THOMPSON et. al., 2011), apesar disso, não é possível prever precisamente o comportamento clínico e o curso da doença apenas pela localização. Willmann e seus colaboradores (2021), concluíram que a localização pode colaborar, mas a graduação histológica é indispensável para um prognóstico preciso.

Na histopatologia dos MCTs as células são redondas a poligonais, com núcleos redondos centrais a levemente excêntricos (KIUPEL, 2017). Apresentam citoplasma moderado, rosa pálido, contendo grânulos azuis a acinzentados, todavia estes grânulos não se coram devidamente à coloração rotineira de Hematoxilina e eosilina (H.E.), sendo necessária coloração especial de Azul de Toluidina para evidenciá-los (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1990). Observa-se ainda grande quantidade de eosinófilos de entremeio, pois os grânulos dos mastócitos contêm interleucina 5, uma citocina que induz a migração de eosinófilos (KIUPEL, 2017).

2.1.3 Graduação Histológica

A classificação histológica para mastocitomas caninos é feita através da graduação do tumor, historicamente existem 3 sistemas de classificação, Bostock (1973), Patnaik, Ehler e Macewen (1984), e o sistema de Kiupel et al. (2011), sendo que, atualmente os dois últimos são os sistemas comumente utilizados. O grau do tumor tem um grande impacto na incidência de

recorrência local e potencial metastático, além de ajudar no planejamento cirúrgico, e auxiliar no prognóstico adequado.

O método de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) é o mais tradicional e distribui os tumores em 3 graus: grau I tumores com lesões de baixa celularidade, contidos na derme com mastócitos bem diferenciados com grânulos evidentes e dispostos em fila; grau II no caso de os mastócitos serem moderadamente diferenciados com grânulos menos evidentes, infiltrando na derme e subcutâneo, com ocasionais mitoses e células binucleadas; grau III, no qual encontra-se células pouco diferenciadas, exibindo elevado pleomorfismo, escassos grânulos, índice mitótico de médio a alto com presença comum de células binucleadas e células gigantes (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). A subjetividade deste método é uma de suas desvantagens, uma vez que há grande discordância interobservadores. Berlato e seus colaboradores (2021) atribuem essa subjetividade a falta de diretrizes para graduar um MCT onde coexistem características histológicas de diferentes graus.

Um novo sistema de classificação foi proposto por Kiupel et al. (2011), uma nova classificação histológica em apenas 2 graus, com base nas características principalmente nucleares, e que além de melhorar a concordância entre patologistas, tem como vantagem frente ao sistema criado por Patnaik, Ehler e Macewen (1984) a eliminação da graduação II, pois esses tumores tem uma variabilidade no comportamento dificultando as tomadas de decisão pelos oncologistas sobre as modalidades de tratamento.

A classificação histológica segundo Kiupel et al. (2011) utiliza alto grau e baixo grau, considerando como alto grau os tumores que apresentam pelo menos uma das seguintes características: apresentar em 10 campos de maior aumento ao menos sete figuras de mitose; no mínimo 3 células multinucleadas; ao menos 3 núcleos bizarros. Às demais neoplasias que não apresentam pelo menos uma das características mencionadas acima, atribui-se baixo grau. Esse sistema tem variabilidade interobservador mínima (até 96,8% de concordância) e alto valor prognóstico.

Vascellari et al. (2013) compararam o diagnóstico de 3 patologistas, utilizando a classificação de Kiupel et al. (2011) e obteve uma concordância de 100% tanto nos tumores de alto grau quanto nos de baixo grau. Sabattini et al. (2015) e Horta et al. (2018) relatam que a classificação em dois graus foi capaz de prever o comportamento ruim de MCTs que receberam grau II na classificação de Patnaik, Ehler e Macewen (1984), já que tumores de grau II e alto grau apresentaram maior taxa de mortalidade relacionada ao tumor quando comparados aos tumores de grau II baixo grau.

Não obstante, Berlato et al. (2021) ressaltam que uma limitação do sistema de Kiupel et al. (2011) é não levar em consideração o padrão de crescimento ou extensão do MCT, podendo ocasionar a subestimação da agressividade local do tumor.

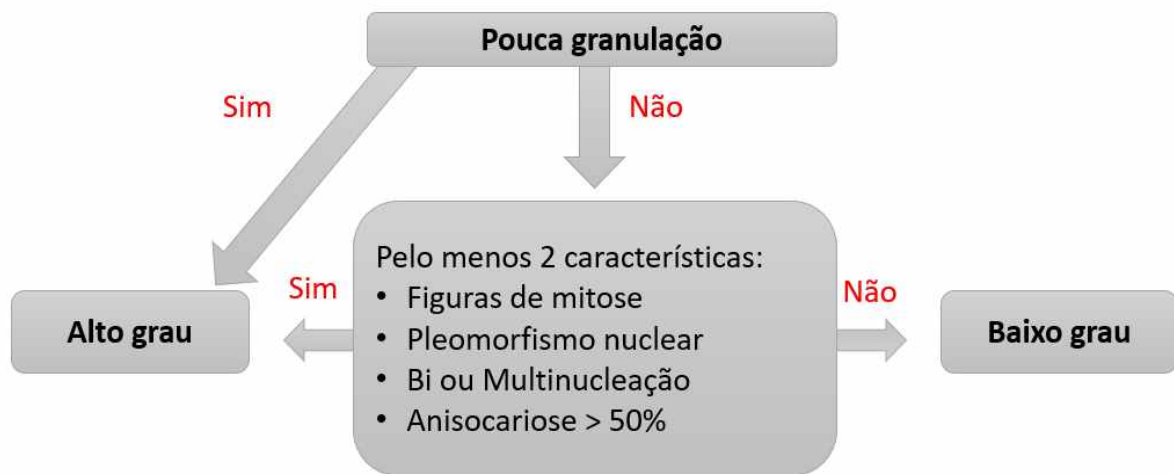
2.1.4 Graduação Citológica

Além das classificações histológicas, estudos têm sido realizados para estabelecer uma classificação na citologia, visando fornecer as mesmas informações de forma mais rápida, barata e menos invasiva (CAMUS et al., 2016; HERGT et al., 2016; SCARPA; SABATTINI; BETTINI, 2014). Como o exame citológico já é utilizado para diagnóstico dos MCTs, a graduação do tumor através dessa técnica pode ser estabelecida sem custo adicional ou trauma para o paciente, colaborando com o planejamento para o tratamento e fornecendo informações prognósticas valiosas antes da intervenção cirúrgica (CAMUS et al., 2016).

Scarpa, Sabattini e Bettini (2014) propuseram um sistema de graduação dos MCTs na citologia, utilizando os mesmos parâmetros propostos por Kiupel et al. (2011), no qual o grau histológico foi previsto corretamente em até 94% dos casos de citologia. Camus e seus colaboradores (2016), de modo semelhante também se basearam na classificação histológica de Kiupel et al. (2011), no entanto desenvolveram seu próprio algoritmo para classificar os MCTs na citologia, o qual utiliza critérios como baixa granularidade dos mastócitos, pleomorfismo nuclear, binucleação ou multinucleação, figuras de mitose e anisocariose com variação >50% no tamanho nuclear. O tumor é classificado como de alto grau se é pouco granular, ou se apresenta pelo menos dois dos critérios citados acima. O algoritmo desenvolvido por Camus et al. (2016) está representado na figura 1.

Kiupel e Camus (2019) afirmam que a graduação citológica auxilia na tomada de decisão inicial, porém a graduação histológica em 2 graus, proposta por Kiupel et al. (2011) ainda é a melhor forma de identificar neoplasias de alto grau.

Figura 1 - Algoritmo de graduação citológica



Fonte: Camus et al., (2016).

2.1.5 Prognóstico e Sobrevida

A determinação do prognóstico nos mastocitomas é ferramenta fundamental, tendo em vista a alta prevalência, o comportamento biológico e a resposta terapêutica variável nesses tumores. Portanto, um prognóstico preciso ajuda a selecionar corretamente a abordagem terapêutica mais adequada (SLEDGE; WEBSTER; KIUPEL, 2016).

São inúmeros os fatores prognósticos, tais como idade, tamanho do tumor, progressão clínica e marcadores de proliferação (BERLATO et al., 2021). Apesar disso, atualmente, a classificação histológica precisa ainda é elemento fundamental para determinar o prognóstico dos MCTs cutâneos caninos (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984; KIUPEL et al., 2011; BERLATO et al., 2021). A classificação citológica, fornece uma abordagem simples para a tomada de decisão clínica inicial, no entanto um prognóstico mais detalhado deve ser baseado na histopatologia (KIUPEL; CAMUS 2019).

Em relação ao sistema de Patnaik, Ehler e Macewen, (1984) que classifica os tumores em grau I (bem diferenciado), grau II (intermediariamente diferenciado) e grau III (pouco diferenciado), a maioria dos tumores grau I é benigno, com baixo potencial de metástase (<10%), e se desenvolvem e crescem lentamente (BLACKWOOD et al., 2012). Os tumores de grau III, por outro lado, tem taxa de metástase que varia de 55% a 96%, apresentam um

crescimento agressivo e alto potencial de recorrência, a maioria dos cães morrem dentro de um ano após o diagnóstico (BOSTOCK, 1973; HUME et al., 2011).

O prognóstico para tumores grau II é muito variável, sendo que 17 a 56 % dos cães podem vir a óbito (BLACKWOOD et al., 2012), no entanto, a grande maioria dos cães pode ser curado após excisão cirúrgica completa e ter uma sobrevivência de longo prazo (MICHELS et al., 2002; SCHULTHEISS et al., 2011). Portanto, os critérios de classificação para tumores de grau II não permitem uma avaliação confiável, já que alguns devem ser considerados potencialmente agressivos.

O sistema de classificação Kiupel de 2 graus, que separa tumores em uma categoria de alto ou baixo grau, tem sido uma ferramenta prognóstica mais confiável. Em estudo realizado no Brasil, Horta et al. (2018) afirmam que os animais com tumores de alto grau na classificação de Kiupel apresentaram risco intermediário de morte, independente do grau de Patnaik. De acordo com Kiupel et al. (2011), cães com MCT de baixo grau tiveram um tempo médio de sobrevivência de mais de 2 anos, enquanto os cães com MCTs de alto grau tiveram um tempo médio de sobrevivência inferior a 4 meses.

Berlato e colaboradores (2021) no consenso Oncology Pathology Working Group recomendam a utilização concomitante das duas graduações histológicas (Patnaik e Kiupel), além de associação com outros fatores prognóstico, tais como idade, tamanho do tumor, progressão clínica e marcadores de proliferação, uma vez que alguns tumores com grau I e baixo grau ainda podem apresentar comportamento clínico agressivo, independente da classificação utilizada.

Em relação a graduação citológica, Camus et al. (2016) observaram que os animais com mastocitomas de baixo grau na citologia apresentavam maior sobrevida (média de 562 dias), comparado aos que receberam alto grau (média de 364,6 dias). De semelhante modo, Berlato et al. (2021) afirmam que o sistema proposto por Camus fornece informações pré-operatórias valiosas, uma vez que as neoplasias classificadas como baixo grau na citologia apresentam boa correlação com a graduação histológica e o comportamento clínico, entretanto, deve-se ter cautela com os diagnósticos de alto grau na citologia, pois podem ocorrer casos falso positivos.

2.1.6 Excisão e margens cirúrgicas

A determinação do protocolo terapêutico é baseada, na maioria das vezes, na apresentação clínica e presença de fatores prognósticos (MELO et al., 2021). No entanto, a excisão cirúrgica a princípio é o tratamento de escolha para os mastocitomas no cão quando a

avaliação clínica indica que o tumor é ressecável (SCHULTHEISS et al., 2011; THAMM, VAIL, 2001). Essa excisão deve ser realizada com ampla margem de segurança (SIMPSON et al., 2004), pois mesmo que o nódulo seja pequeno é possível que existam células neoplásicas do mastocitoma abrangendo mais que a região macroscópica do nódulo neoplásico (LONDON, 2009). Além disso visa prevenir a recorrência local e prolongar a sobrevida do paciente (MILOVANCEV et al., 2017).

As diretrizes cirúrgicas para os mastocitomas estão bem estabelecidas na literatura para mastocitomas de grau II e sugerem que esses tumores sejam ressecados com margens cirúrgicas de 2 a 3 cm lateralmente e um plano de profundidade (SIMPSON et al., 2004; SCHULTHEISS et al., 2011). Entretanto, outros estudos indicam que essas mesmas dimensões podem ser utilizadas para atingir margens "completas" e minimizar o risco de recorrência local, independente do seu grau de malignidade (DONNELLY et al., 2015; RISSELADA; MATHEWS; GRIFFITH, 2015). Os mastocitomas grau III, são de crescimento agressivo e tem um alto potencial de recorrência (BLACKWOOD et al., 2012), no entanto, Schultheiss et al., (2011) concluiu em seu estudo que nesses casos não há relação entre o tamanho da margem cirúrgica e a recorrência ou metástase da neoplasia.

Estudos recentes questionam a necessidade de retirada de uma margem tão ampla, uma vez que margens cirúrgicas menores podem influenciar positivamente a morbidade do paciente, a satisfação do proprietário e a redução do ônus financeiro (SELMIC; RUPLE, 2020).

Atualmente, na rotina veterinária, a histopatologia é método utilizado para avaliação das margens de mastocitomas. Microscopicamente as margens são definidas como: ressecção completa (sem células tumorais dentro de 1mm da margem cirúrgica); completa, porém, com células próximas da margem (mastócitos dentro 1 mm da margem cirúrgica), ou; Incompleta (mastócitos na margem cirúrgica) (BLACKWOOD et al., 2012). Nessa avaliação é comum a observação de margens comprometidas, ou seja, incompletas, porém a avaliação deve ser cuidadosa, já que este fato pode ocorrer devido à retração do tecido ao formol durante a fixação do tecido, pois as margens histológicas retraem 35 a 42% em relação às margens verdadeiramente cirúrgicas (RISSELADA; MATHEWS; GRIFFITH, 2015).

Até o momento, apenas um estudo avaliou a eficácia do método citopatológico na determinação da margem cirúrgica, indicando que a citopatologia obteve uma maior detecção de margens incompletas para mastocitoma, em comparação a outros métodos de avaliação de margem cirúrgica (MILOVANCEV et al., 2017).

REFERÊNCIAS

- BAKER-GABBY, M.; HUNT, G. B.; FRANCE, M. P. Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs; clinical behaviour and response to surgery. **Australian veterinary journal**, Australian, v. 81, n. 12, p. 732-738, 2003. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2003.tb14601.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-0813.2003.tb14601.x>. Acesso em: 10 out. 2020.
- BERLATO, D. *et al.* Value, Limitations, and Recommendations for Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. **Veterinary Pathology**. [s.l.], v.58, n.5, p.858-863, 2021. DOI:10.1177/03009858211009785 Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/03009858211009785>. Acesso em: 05 dez. 2021.
- BLACKWOOD, L. *et al.* European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary and comparative oncology**, [s. l.], v. 10, n. 3, e1-e29, September 2012. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x>. Acesso em: 10 Out. 2020.
- BOSTOCK DE. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **Journal of Small Animal Practice**. V. 14, p. 27 – 40, jan. 1973. DOI:10.1111/j.1748-5827.1973.tb06891.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1748-5827.1973.tb06891.x>. Acesso em: 22 nov. 2021.
- BROCKS, B.A.W. *et al.* Internal tandem duplication of exon 8 of *c-kit* is associated with longer total survival in canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, [s.l.], v.58, n. 2, p.315-324, March, 2021. DOI: 10.1177/0300985820973463. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985820973463?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 22 nov. 2021.
- BRONSON, R.T. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. **American journal of veterinary research**, [s.l.], v. 43, n. 11, p. 2057-2059, 1982. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/6891194>. Acesso em: 15 set. 2020.
- COLETO, A.F. *et al.* Perfil de exames citológicos, sensibilidade e especificidade da punção por agulha fina em amostras cutâneas e subcutâneas em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 38, n. 3, p. 311-315, 2016. Disponível em: <https://rbmv.org/BJVM/article/view/119>. Acesso em: 02 jun. 2021.
- CAMUS, M. S. *et al.* Cytologic criteria for mast cell tumor grading in dogs with evaluation of clinical outcome. **Veterinary pathology**, Madison, v.53, n.6, p. 1117-1123, 2016. DOI: 10.1177/0300985816638721. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985816638721>. Acesso em: 15 set. 2020.
- CAMUS, M.S.; MEUTEN D.J. Cytologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *In*: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 5 ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc, 2017. p. 842 – 899.

CONCEIÇÃO, L.S.; LOURES, F.H. Sistema Tegumentar. In: SANTOS, R.L. ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2016. cap. 7, p. 407- 486.

COSTA, M. C. *et al.* Prevalence and epidemiological and histopathological features of canine cutaneous mast cell tumours in Uberlândia, Brazil. **Acta Veterinaria Brno**, Brno, v. 86, n. 2, p. 189-193, 2017. DOI: 10.2754/avb201786020189. Disponível em: <https://actavet.vfu.cz/86/2/189/>. Acesso em: 7 nov. 2021.

DALECK, C.R.; *et al.* Mastocitoma. In: DALECK, C.R.; NARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 282-291.

DE NARDI, A. B. *et al.* Brazilian consensus for the diagnosis, treatment and prognosis of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Investigação**, Franca, v.17, n.1, 2018. DOI: 10.26843/investigacao.v17i1.1837. Disponível em: <http://publicacoes.unifran.br/index.php/investigacao/article/view/1837>. Acesso em: set. 2020.

DONNELLY, L. *et al.* 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**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 70-76, 2015. DOI: 10.1111/vco.12021 Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vco.12021?casa_token=UVj0QcKHe9YAAA%3A8V_2Y09fdv-R4Y1qnDhfZ3XeWjzuNMGjCeU60OWaZj9oMMDLa6LPpBAJ9FjUDYupbOCNRdH05c5c_Bw. Acesso em: 05 dez. 2021.

GROSS, T. L. *et al.* **Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis**. 2° ed. Oxford: Blackwell Science Ltd, Blackwell Publishing, 2005. p. 944.

HERGT, F. *et al.* Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. **Veterinary clinical pathology**, [s.l.], v. 45, n. 3, p. 477-483, 2016. DOI: 10.1111/vcp.12387. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27483044/>. Acesso em: 22 nov. 2020.

HORTA, R.S. *et al.* Assessment of canine mast cell tumor mortality risk based on clinical, histologic, immunohistochemical, and molecular features. **Veterinary pathology**, [s.l.], v. 55, n. 2, p. 212-223, 2018. DOI: 10.1177/0300985817747325. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985817747325>. Acesso em: 04 nov. 2020.

HUME, C.T. *et al.* Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). **Journal of the American Animal Hospital Association**, [s.l.], v.47, p.37– 44, 2011. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-5557. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jaaha/article-abstract/47/1/37/176685/Outcomes-of-Dogs-with-Grade-3-Mast-Cell-Tumors-43>. Acesso em: 20 nov. 2021.

INOUE, Mai *et al.* A current life table and causes of death for insured dogs in Japan. **Preventive Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 120, n. 2, p. 210-218, 2015. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2015.03.018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587715001130?casa_token=Wq-

ey8GRiEcAAAAA:qALsLgksEj7PGFLv6Dqx2MDcIAZT4ggyILBLt4WPVjdNKYGNNG_A
D1VZfHWXti8eeRsGULQm3f3rd. Acesso em: 10 set. 2020.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido conjuntivo. *In: Histologia básica*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1990. p. 92-124.

KIUPEL, M.; *et al.* Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, [s.l.], v.52, p.280–286, 2005. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2005.00726.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0442.2005.00726.x?casa_token=ggq-t0wjAoIAAAA%3AA3U1qCzod6v6nwfrHJe_a9QsbhZ7PJnS-CNEPieaK01mC0BULiz7Bk0sLPn2SOcrkwELnsBb0kQTuhU. Acesso em: 15 nov. 2021

KIUPEL, M. *et al.* Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary pathology**, Madison, v.48, n.1, p.147-155, 2011. DOI: 10.1177/0300985810386469. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985810386469>. Acesso em: 10 set. 2020.

KIUPEL, M. Mast Cell Tumors. *In: MEUTEN, D. J. Tumors in domestic animals*. 5 ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc, 2017. p. 176 – 202.

KIUPEL, M.; CAMUS, M. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. [s.l.], v. 49, n. 5, p. 819-836, 2019. DOI:10.1016/j.cvsm.2019.04.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31178200/> Acesso em: 08 jun. 2021.

KOK, M. K. *et al.* Retrospective study of canine cutaneous tumors in Japan, 2008–2017. **Journal of Veterinary Medical Science**, [s. l.], v.81, p. 19-0248, June 2019. DOI: 10.1292/jvms.19-0248. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/advpub/0/advpub_19-0248/_article/-char/ja/. Acesso em: 15 set. 2020.

LONDON, C.A.; THAMM, D.H.; VAIL, D.M. Mast cell tumors. *In: WITHROW, S.J., MAC EWEN, E.G. Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier Health Sciences, 2013. p.335 – 355.

LONDON, C. A. Mast Cell Tumor. *In: BONAGURA, J. D.; TWEDT, D. C.; KIRK'S. Current Veterinary Therapy*. 14. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. cap. 81, p. 373-377.

MEDLEAU, L.; HNILICA, K. A. **Dermatologia de Pequenos Animais**: Atlas colorido e guia terapêutico. 2 ed. São Paulo: Roca, 2009.

MELO, S.R. *et al.* Immunohistochemical Expression of Vascular Endothelial Growth Factor as a Prognostic Marker for Canine Mast Cell Tumors. **Topics in Companion Animal Medicine**, [s.l.], v. 42, p.100506, 2021. DOI: 10.1016/j.tcam.2020.100506. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1938973620301045>. Acesso em: 05, dez. 2021.

MICHELS, G.M. *et al.* 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**. [s.l.], v.38, n.5, p. 458–466, 2002. DOI:10.5326/0380458. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jaaha/article-abstract/38/5/458/175693/Prognosis-Following-Surgical-Excision-of-Canine>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MILOVANCEV, M. *et al.* Shaved margin histopathology and imprint cytology for assessment of excision in canine mast cell tumors and soft tissue sarcomas. **Veterinary surgery**, Ontário, v. 46, n.6, p. 879-885, February 2017. DOI: 10.1111/vsu.12668. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vsu.12668>. Acesso em: 13 set. 2021.

MURPHY, S. Skin neoplasia in small animals. Principles of diagnosis and management. **In Practice**, Londres, v. 28, n.6, p. 266-27, 2006. DOI:10.1136/inpract.28.5.266. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/inpract.28.5.266>. Acesso em: 10 set. 2020

NATIVIDADE, F. S. *et al.* Análise de sobrevida e fatores prognósticos de cães com mastocitoma cutâneo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 34, n. 9, p. 874–884, 2014. DOI:10.1590/S0100-736X2014000900012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/YZhHPXgVKyGb4sZ47wNpb5f/?lang=pt>. Acesso em: 2 set. 2020.

NEWMAN, S.J. Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. **Journal of Comparative Pathology**. [s.l.], v.136, n.4, p. 231-239, 2007. DOI:10.1016/j.jcpa.2007.02.003 Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997507000242?casa_token=BCi2U5PCPK8AAAAA:5Ffcmz4RNengx-HmjAYxGUnYHsvxMG5F-7r4wN5M_UNfC4Qt7lqN8m7eEhM7zLsCpzdxF3xGmw. Acesso em: 23 nov. 2021.

PATNAIK, A.K.; EHLER, W.J.; MACEWEN, E.G. Canine mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, Madison, v.21, p.469-474, 1984. DOI: 10.1177/030098588402100503. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/030098588402100503>. Acesso em: 2 set. 2020.

PIERINI, A. *et al.* From Humans to Dogs and Back: The Translational Lesson of Metronomic Chemotherapy. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, [s.l.], v.7, n.4, p.198-212, 2012. DOI: 10.3844/ajavsp.2012.198.212. Disponível em: <https://thescipub.com/abstract/10.3844/ajavsp.2012.198.212>. Acesso em: 05 dez. 2020.

PIERINI, A. *et al.* Epidemiology of Breed-Related Mast Cell Tumour Occurrence and Prognostic Significance of Clinical Features in a Defined Population of Dogs in West-Central Italy. **Veterinary Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 53, 2019. DOI: 10.3390/vetsci6020053. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-7381/6/2/53>. Acesso em: 4 set. 2020.

RISSELADA, M.; MATHEWS, K. G.; GRIFFITH, E. Surgically planned versus histologically measured lateral tumor margins for resection of cutaneous and subcutaneous

mast cell tumors in dogs: 46 cases (2010–2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [s.l.], v. 247, n. 2, p.184–189, 2015. DOI: 10.2460/javma.247.2.184. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.247.2.184>. Acesso em: 10 out. 2020.

SCARPA, F.; SABATTINI, S.; BETTINI, G. Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary and comparative oncology**, [s.l.], v.14, n.3, p. 245-251, 2014. DOI: 10.1111/vco.12090. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vco.12090>. Acesso em: 10 set. 2020.

SCHULTHEISS, P. C. *et al.* 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**, [s.l.], v.238, n.11, p.1464-1469, 2011. DOI: 10.2460/javma.238.11.1464. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.238.11.1464>. Acesso em: 4 out. 2020.

SCOTT, M.A.; STOCKHAM, S. L. Basophils and mast cells. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Haematology**, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2000, p. 308–315.

SABATTINI, S. *et al.* Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor Is 2 Better Than 3?. **Veterinary pathology**, v. 52, n. 1, p. 70-73, 2015. DOI: 10.1177/0300985814521638. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985814521638>. Acesso em: 15 fev. 2021.

SELMIC, L. E.; RUPLE, A. A systematic review of surgical margins utilized for removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. **BMC veterinary research**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2020. Disponível em: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-019-2227-8>. Acesso em: 12 jul. 2021.

SIMPSON, A.M. *et al.* Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [s.l.], v.224, n.2, p. 236-240, 2004. DOI: 10.2460/javma.2004.224.236. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2004.224.236>. Acesso em: 2 set. 2020.

SLEDGE, D.G.; WEBSTER, J.; KIUPEL, M. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. **The Veterinary Journal**, [s.l.], v. 215, p. 43-54, 2016. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.06.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023316300752?casa_token=dZr5pVdSqwYAAAAA:FxVgvZO0Ti_hj_q-gBPHxol8c7K85cRWTBZn95Q43zLe6v1slng1q76bVnVZa0Gv8VVElW5nUg. Acesso em: 22 nov. 2021.

THAMM, D.H.; VAIL, D. M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2001. p. 261–282.

THAMM, D.H.; VAIL, D.M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. **Small animal clinical oncology**. 4th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2008. Cap.19, p.402-424.

THOMPSON, J.J. et al. Canine subcutaneous mast cell tumors: cellular proliferation and KIT expression as prognostic indices. **Veterinary Pathology**. [s.l.], v.48, p.169-81, 2011. DOI: 10.1177/0300985810390716. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21160022/>. Acesso em: 23 nov. 2021.

VAIL, D.M.; WITHROW, S.J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. *In*: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p.167-191.

VASCELLARI, M. *et al.* Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. *Veterinary Pathology*. [s.l.], v. 50, n.1, p. 110-121, 2013. DOI: 10.1177/0300985812447829. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22673539/>. Acesso em: 23 nov. 2021.

WAKSHLAG, J. J. *et al.* Cross-sectional study to investigate the association between vitamin D status and cutaneous mast cell tumours in Labrador retrievers. **British journal of nutrition**, [s.l.], v. 106, n. S1, p. S60-S63, 2011. DOI: 10.1017/S000711451100211X. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/crosssectional-study-to-investigate-the-association-between-vitamin-d-status-and-cutaneous-mast-cell-tumours-in-labrador-retrievers/59B59280540950A7DFDDFFF27D7C3921>. Acesso em: 25 out. 2021.

WEBSTER, J.D. *et al.* The role of c-KIT in tumorigenesis: evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. **Neoplasia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 104–111, 2006. DOI: 10.1593/neo.05622. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1476558606800199>. Acesso em: 15 fev. 2021.

WELLMAN, M.L.; LONDON, C. Cutaneous Mast Cell Tumors. **Veterinary Cytology**, 2020, p. 138-150, 2020.

WHITE, C. R. *et al.* Cutaneous MCTs: associations with spay/neuter status, breed, body size, and phylogenetic cluster. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [s.l.], v. 47, n. 3, p. 210-216, 2011. DOI:10.5326/JAAHA-MS-5621. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jaaha/article-abstract/47/3/210/176792/Cutaneous-MCTs-Associations-with-Spay-Neuter>. Acesso em: 23 nov. 2021.

WILLMANN, M. *et al.* Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, 2021. DOI 10.3389/fvets.2021.755258. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.755258/full>. Acesso em: 05 jan.2022.

CAPÍTULO 2

Artigo nas normas da revista *Cytopathology*

CYTOLOGICAL GRADUATION OF CANINE MAST CELL TUMORS: CORRELATION WITH HISTOLOGIC GRADING AND SURVIVAL TIME

Talita Cristina Modesto, Lígia Fernandes Gundim, Lígia Assunção Oliveira, Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi

Laboratório de Patologia Animal, Universidade Federal de Uberlândia, Av. Mato Grosso 3289, Uberlândia, MG 38400-900, Brazil

ABSTRACT

Mast cell tumor is one of the most common neoplasia in dogs and cytopathology and/or histopathology exams are used for diagnostic. Histologic grading is also considered the gold standard test to predict the prognosis of this neoplasia. However, studies have been made using the cytological classification to provide similar information in a faster, less invasive and more accessible way. This paper aims to perform cytological graduation and to correlate it with the histological grading and survival time of dogs diagnosed with cutaneous mast cell tumor at the Veterinary Hospital of Uberlândia Federal University during 5 years. For that, cytological and histological slides from 72 animals were reviewed. The statistical methods used were kappa test for the agreement between the grading systems, Kaplan-Meier for survival time, univariate Cox regression for comparison of cytological and histological grades and the survival time. The cytological grading when compared to the 2-tier histologic grading, high grade and low grade, had a moderated agreement (kappa 0.566). When evaluated the correlation between the survival time and the cytological grade, there was a higher death rate in the group with high grade mast cell tumor compared to the low grade, pointing a correlation between the survival time and the cytological grade ($p= 0.009$). In conclusion, the cytological grade is useful to the treatment planning and to provide prognostic information that precedes the tumor removal, showing a good correlation with the 2-tier histologic grading and with the survival time of the animals.

Keywords: cytopathology. degree. dog. histopathology. mast cell. neoplasm. prognosis.

GRADUAÇÃO CITOLÓGICA DE MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA E SOBREVIDA

Talita Cristina Modesto, Lígia Fernandes Gundim, Lígia Assunção Oliveira, Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi

Laboratório de Patologia Animal, Universidade Federal de Uberlândia, Av. Mato Grosso 3289, Uberlândia, MG 38400-900, Brazil

RESUMO

O mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas mais comum nos cães e os exames citopatológicos e/ou histopatológicos são utilizados para diagnóstico. A graduação histológica também é considerada padrão ouro para prever o prognóstico dessa neoplasia. Contudo, estudos têm sido realizados visando utilizar graduação citológica para fornecer informações semelhantes de maneira rápida, menos invasiva e mais acessível. Esse trabalho objetivou realizar graduação citológica e correlacionar com as graduações histológicas e com a sobrevida de cães diagnosticados com mastocitoma cutâneo no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia durante 5 anos. Para isso, lâminas de citologia e histologia de mastocitomas de 72 animais foram revisadas. Os métodos estatísticos utilizados foram teste kappa para concordância entre os sistemas de graduação, método Kaplan-Meier para tempo de sobrevida dos animais, e análise univariada pela regressão de Cox para comparação do grau citológico e grau histológico e o tempo de sobrevida global. A graduação citológica quando comparada com a histológica de dois níveis, alto grau e baixo grau, obteve uma concordância moderada (kappa 0,566). Na avaliação da correlação entre sobrevida e grau citológico, houve maior taxa de óbito no grupo de cães com mastocitoma de alto grau, comparado aos de baixo grau, sendo observada correlação entre a sobrevida e o grau citológico ($p=0,009$). Esse estudo concluiu que o grau citológico é útil para o planejamento do tratamento e para fornecer informações prognósticas que antecedem a exérese do tumor, tendo boa correlação com a graduação histológica de dois níveis e com a sobrevida dos animais.

Palavras-chave: cão. citopatologia. grau. histopatologia. mastócitos. neoplasia. prognóstico

INTRODUÇÃO

O mastocitoma (MCT) canino é uma das neoplasias cutâneas mais comuns em cães, representando cerca de 20% dentre todos os tumores cutâneos caninos (KIUPEL, 2017). Apresenta comportamento biológico variável, manifestando desde tumores únicos que podem ser tratados com excisão cirúrgica, até neoplasias agressivas com potencial de recorrência e metástases (KIUPEL et al., 2011; BROCKS et al., 2021). Diante desses fatos, fica clara a importância de estudos que possam contribuir com ferramentas diagnósticas rápidas e que forneçam informações tanto para prever o prognóstico como para direcionar um tratamento adequado aos animais.

Vários fatores podem ser utilizados na determinação do prognóstico do MCT canino, tais como características clínicas, critérios histológicos, avaliação imuno-histoquímica e características moleculares (HORTA et al., 2018). São vários os estudos sobre MCTs cutâneos disponíveis na literatura que propõe esquemas a serem utilizados para determinação do prognóstico (THOMPSON et al., 2011). No entanto, infelizmente, ainda não há uma maneira uniforme de prognosticar a maioria desses tumores e, atualmente, as decisões terapêuticas são baseadas na apresentação clínica, grau histológico e presença de fatores prognósticos negativos (MELO et al., 2021). Resultados clínicos baseados na adoção destes parâmetros indicam que estes são muitas vezes imprecisos e o prognóstico pode ser difícil de determinar, especialmente em MCTs de grau intermediário (WELLE et al., 2008; HORTA et al., 2018)

A limitação do sistema de graduação de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) está no fato de atribuir grande importância à extensão do tumor e incluir critérios subjetivos que resultam na inclusão de mais de 40% dos MCT em grau 2, reunindo um grupo amplo e diversificado de lesões com comportamento biológico distinto (GROSS, et al., 2005), podendo chegar até 80,5% dos MCT classificados como grau 2, além de não estar correlacionado com a desfecho clínico (HORTA et al., 2018). O sistema de graduação de Kiupel et al. (2011) reduz a subjetividade do sistema de graduação de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) e é altamente reprodutível, apresentando superioridade prognóstica. Segundo Horta et al. (2018) cães com MCT alto grau de Kiupel devem ser incluídos em grupo de risco intermediário, qualquer que seja o grau de Patnaik, e outros fatores prognósticos devem ser utilizados juntamente com o sistema de classificação Kiupel.

Alguns autores tem proposto a utilização das características celulares avaliadas na citopatologia como fator de prognóstico (STREFEZZI et al., 2009; SCARPA, SABATTINI,

BETTINI, 2014). Mais recentemente, Camus e colaboradores (2016) desenvolveram um sistema de graduação citológica que utiliza basicamente os mesmos critérios nucleares da graduação histológica, fornecendo as mesmas informações com a vantagem da citologia ser um exame mais acessível, menos invasivo e mais rápido, e que consegue diagnosticar corretamente cerca de 92-96% dos MCTs (BAKER-GABB; HUNT; FRANCE, 2003).

A classificação citológica proposta por Camus et al. (2016) apresentou boa correlação com a sobrevivência e com a graduação histológica, sendo que cães com MCT de baixo grau citológico tiveram sobrevida prolongada. Considerando que o grau citológico pode ser potencial ferramenta no planejamento terapêutico e determinação do prognóstico de cães com MCT e os estudos correlacionando a graduação citológica com sobrevida são escassos, os objetivos deste estudo foram: realizar estudo retrospectivo dos casos de mastocitoma cutâneo canino, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET-UFU); avaliar dados epidemiológicos a respeito de raça, idade e sexo de cães portadores de MCTs; atribuir grau histológico aos MCTs segundo Patnaik, Ehler e Macewen (1984) e Kiupel et al. (2011); atribuir grau citológico aos MCTs segundo algoritmo desenvolvido por Camus et al. (2016); comparar a graduação citológica com a graduação histopatológica dos MCTs caninos estudados; determinar o valor prognóstico da graduação citológica correlacionando-a com a sobrevida dos cães portadores de MCT.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das amostras

Realizou-se estudo retrospectivo e prospectivo dos casos de MCT canino a partir do arquivo do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET – UFU). Foram utilizadas amostras de exames citológicos e histológicos com diagnóstico de MCT que tenham sido submetidas a análise no período de seis anos (2016 a 2021).

Os critérios de inclusão foram os seguintes: (a) cães com mastocitoma com amostras colhidas para análise citológica por punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e/ou imprint e amostras coletadas do mesmo nódulo para análise histológica, após exérese cirúrgica por biópsia excisional; (b) intervalo máximo de 8 semanas entre o diagnóstico citológico e a biópsia excisional para coleta de fragmento para exame histopatológico e (c) amostras que possuíam pelo menos 100 mastócitos viáveis para a análise microscópica. Cães submetidos à

quimioterapia foram excluídos. Todos os cães foram submetidos à cirurgia com intenção curativa.

A partir dos prontuários coletou-se dados epidemiológicos (idade, sexo, raça) e da localização dos tumores, para certificação de que a amostra coletada para a análise histopatológica era referente ao mesmo nódulo puncionado para exame citológico.

Corantes do tipo Romanowsky (Panótico rápido e Giemsa) foram utilizados para coloração das lâminas citológicas. As amostras provenientes da biópsia excisional dos MCTs foram fixadas em formol a 10%, embebidas em parafina, seccionadas a 4 μ m e coradas com Hematoxilina e Eosina e, adicionalmente, com Azul de Toluidina.

Graduação das amostras

Todas as lâminas histológicas foram analisadas por no mínimo dois patologistas, sem conhecimento dos achados citológicos anteriores, e graduadas utilizando o esquema de graduação histológica de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) e Kiupel et al. (2011). Quando houve discordância de graduação um terceiro patologista foi consultado.

As amostras citológicas foram analisadas por 3 patologistas. A graduação citológica foi realizada com base no algoritmo desenvolvido por Camus et al. (2016), que utiliza os critérios a seguir: baixa granularidade dos mastócitos, pleomorfismo nuclear, binucleação ou multinucleação, figuras de mitose e anisocariose (Figura 1). O tumor foi classificado como de alto grau se apresentava pouca granulação ou pelo menos dois dos demais critérios.

Acompanhamento dos pacientes

Para determinação da sobrevida, os cães com MCT foram acompanhados desde a biópsia excisional até a data do óbito ou por um período mínimo de seis meses. Realizou-se a avaliação do tempo de sobrevida global (SG) que foi definida como o tempo pós biópsia excisional até a data da morte por qualquer causa. Na análise da SG foram censuradas cadelas que ainda estavam vivas.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software comercial (IBM SPSS Statistics v. 19, IBM, Somers, NY, USA and Prism v. 5.0, GraphPad, San Diego, CA, USA). Na comparação da graduação citológica e as graduações histológicas de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) e Kiupel et al. (2011), utilizando essa última como padrão ouro, foi calculado o nível de concordância (kappa), a especificidade, sensibilidade e a precisão. Para o nível de

concordância (kappa valor [K]) foram considerados: $K < 0$ indicando discordância, 0-0,20 concordância ruim, 0,21-0,40 concordância razoável, 0,41-0,60 moderada concordância, 0,61-0,80 concordância substancial, e 0,81-1,00 concordância quase perfeita, de acordo com Landis e Koch (1977).

O tempo de SG foi analisado através do método de Kaplan-Meier e emprego do teste Log-Rank para comparação das curvas de sobrevida de acordo com a graduação na citologia e na histologia. A análise univariada pela regressão de Cox foi utilizada para comparação das variáveis predictoras grau citológico e grau histológico para o MCT canino e o tempo de SG. Em todos os testes foi adotado o nível de significância de $p \leq 0,05$.

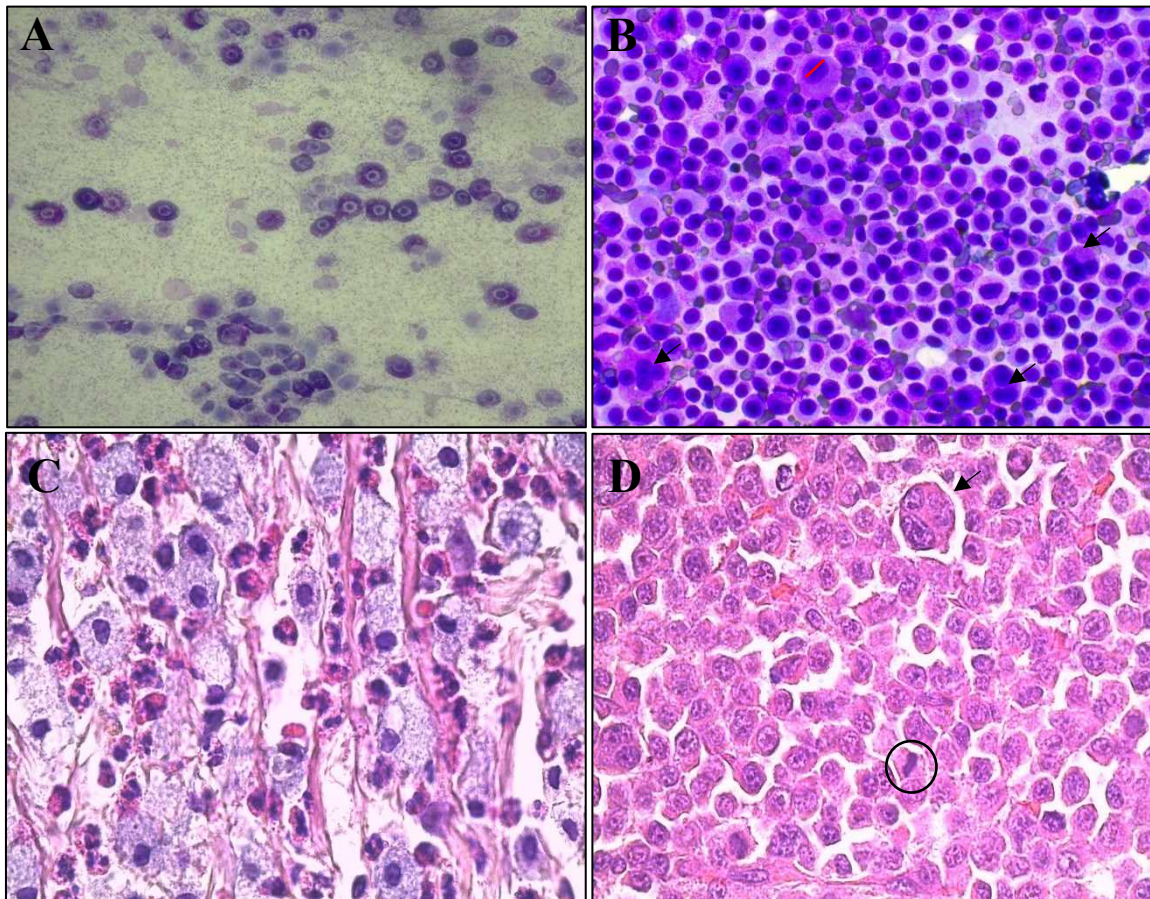


Figura 1: Fotomicrografias de mastocitomas, pele, cão. **A:** Mastocitoma de baixo grau apresentando células redondas com granulação citoplasmática. Citologia. Panótico rápido, aumento de 100x **B:** Mastocitoma de alto grau com presença de células bi e multinucleadas (setas) e anisocariose (barra vermelha). Citologia. Panótico rápido, aumento de 100x **C:** Mastocitoma grau I segundo Patnaik et al. (1984) e baixo grau segundo Kiupel et al. (2011) apresentando proliferação de mastócitos bem diferenciados com grânulos evidentes e dispostos em fila. Histologia. Hematoxilina e Eosina (H.E.), aumento de 100x. **D:** Mastocitoma grau III segundo Patnaik et al. (1984) e alto grau segundo Kiupel et al. (2011) apresentando proliferação de mastócitos, células multinucleares (seta) e figura de mitose (círculo). Histologia. H.E. aumento de 100x.

RESULTADOS

Um total de 83 amostras de 72 cães foram incluídas no estudo. Desses, 56 (77,8 %) animais eram fêmeas e 16 (22,2 %) machos. A idade média dos animais foi de 9,38 anos, variando de 2 a 20 anos de idade. Os cães mestiços foram os mais acometidos 53% (n = 38), e as raças com mais de dois cães no estudo incluíram Labrador retriever 15% (n = 11), Pit bull 7% (n = 5), Pinscher 6% (n = 4), Boxer 4% (n = 3), Basset hound 4% (n = 3) e Maltês 3% (n = 2), com um total de 13 raças representadas (Tabela 1).

A graduação dos MCT segundo Patnaik resultou em 18,0 % grau I, 66,3% grau II, 15,7% grau III. Usando o sistema de classificação de Kiupel obteve-se, 20,5% de MCT alto grau e 79,5% baixo grau. Já na graduação citológica segundo o algoritmo criado por Camus et al. (2016), as porcentagens foram de 26,5 % de MCT alto grau e 73,5 % baixo grau (Tabela 1).

Correlacionando as classificações histológica e citológica, tendo como padrão ouro a classificação histológica de Kiupel et al. (2011), obteve-se uma concordância moderada, com kappa de 0,566, sensibilidade de 76,5 % e especificidade de 86,4 %. O grau na citologia previu corretamente o grau histológico em 84,3% dos casos. No entanto, houve discordância em 13/83 casos, sendo que desses 40,9% eram falsos positivos, ou seja, casos que foram classificados como alto grau na citologia quando eram baixo grau na histologia, e 6,6 % eram falso negativos, confirmados como alto grau na histologia, porém classificados como baixo grau na citologia. A correlação das classificações histológicas de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) com as citológicas, gerou uma concordância ruim, com valor de kappa de 0,154.

Foi possível acompanhar a evolução clínica de 26 cães, durante um período médio de 455 dias (intervalo 1 - 1400) e 11 animais vieram a óbito. A média de SG dos cães com MCT foi de 835 dias (Intervalo de confiança de 95% [IC], 592-1077), e a mediana foi de 1000 dias (Intervalo de confiança de 95% [IC], 220 -1780).

Na avaliação da correlação entre sobrevida e grau citológico, houve uma maior taxa de óbito no grupo de cães com MCT de alto grau (4/6 - 67%), comparado ao grupo de cães com MCT de baixo grau (7/20 - 35%), sendo observada correlação entre a sobrevida e o grau citológico (p= 0,009) (Figura 2 – A). A média de sobrevida de cães com MCT de alto grau foi de 138 dias e a mediana de 7 dias. Já os cães com MCT de baixo grau apresentaram sobrevida média de 957 dias e mediana de sobrevida de 1000 dias. Na análise univariada de regressão de Cox, cães com MCT de alto grau citológico apresentaram 5,026 mais chances de morrer se comparado com cães com baixo grau citológico (p = 0,018).

Tabela 1- Dados epidemiológicos, graduação histológica e citológica.

Variável	n (%)
<i>Gênero</i>	
Fêmeas	56 (77,8%)
Machos	16 (22,2%)
<i>Idade</i>	9,38
<i>Raça</i>	
Sem raça definida	38 (53,0%)
Labrador retriever	11 (15,0%)
Pit Bull	05 (7,0%)
Pinscher	04 (6,0%)
Boxer	03 (4,0%)
Basset hound	03 (4,0%)
Maltês	02 (3,0%)
Outras raças	06 (8,0%)
<i>Graduação histológica (Kiupel)</i>	
Alto grau	17 (20,5%)
Baixo grau	66 (79,5%)
<i>Graduação histológica (Patnaik)</i>	
Grau I	15 (18,0%)
Grau II	55 (66,3%)
Grau III	13 (15,7%)
<i>Graduação citológica</i>	
Alto grau	22 (26,5%)
Baixo grau	61 (73,5%)

Fonte: A autora.

Na análise da graduação segundo Kiupel et al. (2011), a taxa de óbito no grupo de cães com MCT de alto grau (3/6 - 50%) foi maior que a taxa do grupo de cães com MCT de baixo grau (8/20 - 40%), no entanto não houve correlação estatística entre a sobrevida e o grau histológico segundo Kiupel et al. (2011) ($p=0,954$) (Figura 2 – B). A média de sobrevida de cães com MCT de alto grau foi de 595 dias, e mediana de 70 dias. Já os cães com MCT de baixo grau apresentaram sobrevida média de 863 dias e mediana de sobrevida de 1000 dias. O modelo estatístico de regressão de Cox não pode ser aplicado para análise da taxa de risco pois as taxas

de risco entre os dois grupos (baixo grau e alto grau) não foram proporcionais ao longo do tempo.

Na avaliação da correlação entre sobrevida e grau histológico segundo Patnaik, Ehler e Macewen (1984), a maior taxa de óbito foi observada no grupo de cães com MCT de grau III (3/4 – 75 %), comparado ao grupo de cães com MCT de grau II (7/20 – 35%) e grau I (1/2 – 50%), não havendo correlação entre a sobrevida e o grau histológico segundo Patnaik, Ehler e Macewen (1984) ($p= 0,071$) (Figura 2 – C). A média de sobrevida de cães com MCT de grau III foi de 120 dias e a mediana de 30 dias. Já os cães com MCT de grau II apresentaram sobrevida média de 943 dias e mediana de sobrevida de 1000 dias, enquanto cães com MCT grau I apresentaram sobrevida média de 411 dias e mediana de sobrevida de 212 dias. Assim como na avaliação da graduação de Kiupel et al (2011), o modelo estatístico de regressão de Cox não pode ser aplicado para análise da taxa de risco pois as taxas de risco entre os grupos (grau I, grau II e grau III) não foram proporcionais ao longo do tempo.

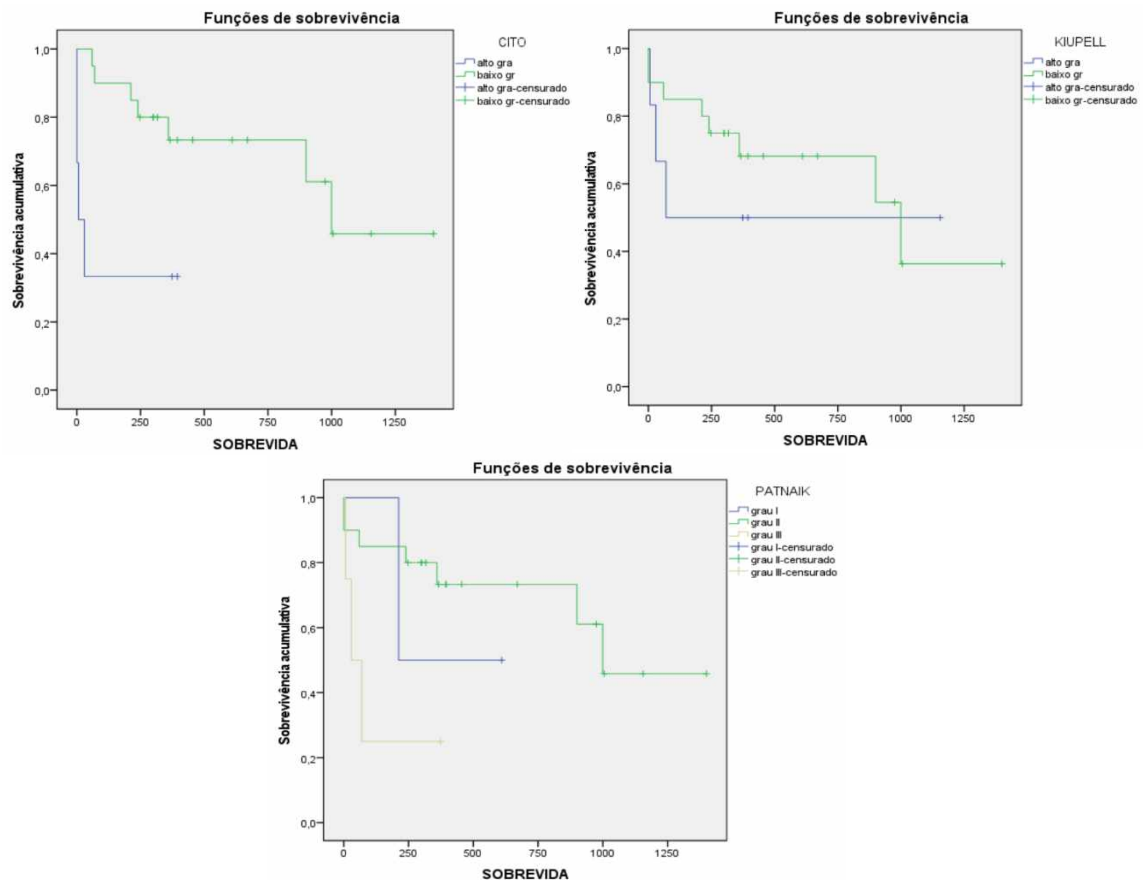


Figura 2: Curvas de sobrevida para animais com mastocitoma (MCT). A. Graduação Citologia: média de sobrevida global (SG) de cães com MCT de alto grau 138 dias e de baixo grau 958 dias ($p = 0,009$). B. Graduação segundo Kiupel et al. (2011): média de sobrevida global (SG) de cães com MCT de alto grau foi de 595 dias e baixo grau de 864 dias ($p = 0,566$). C. Graduação segundo Patnaik et al. (1984):

média de SG de cães com MCT grau I de 411 dias, grau II média de 943 dias e grau III média de 120 dias ($p = 0,071$).

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou 72 cães acometidos por MCT. Quanto aos dados epidemiológicos 77,8% (56/72) eram fêmeas e 22,2% machos (16/72). Pierini et al. (2019) e Costa et al. (2017) não observaram predisposição sexual para ocorrência do MCT. Já Souza et al. (2018) verificaram que fêmeas são mais afetadas por esta neoplasia. Quanto à idade, Shoop et al. (2015) relatam maior risco de desenvolvimento de MCT em cães com mais de 10 anos e a média dos animais deste estudo (9,38 anos) foi similar à observada por Kluthcovsky et al. (2020).

Cães sem raça definida (SRD) representaram 53% das raças acometidas por MCT. Este resultado era esperado, uma vez que o HOVET-UFU atende predominantemente animais SRD. Além disso, outros estudos realizados no Brasil também descreveram animais SRD como os mais acometidos por mastocitoma (HORTA et al. 2018; KLUTHCOVSKY et al., 2020). A raça Labrador, observada em 15% dos animais do presente estudo, também foi citada entre as mais frequentes nos estudos conduzidos por Warland e Dobson (2013) e Śmiech et al. (2018).

A avaliação citológica é indicada como triagem para todos os pacientes que apresentam nodulações cutâneas e é uma maneira rápida, pouco invasiva e barata de diagnosticar mastocitomas cutâneos em cães (MARCOS; SANTOS, 2021), sendo que o diagnóstico citológico de MCT é alcançado com sucesso nos casos atendidos no HOVET-UFU. Porém, a determinação do curso clínico do MCT na citologia, com a diferenciação das formas agressivas das menos agressivas podem ser difícil.

A principal característica utilizada para determinar o prognóstico do MCT cutâneo canino tem sido a gradação histopatológica (MOORE et al., 2020). Assim, estudos têm sido realizados para verificar o uso de método de gradação citológica para MCT, preciso e reprodutível, que possa ser utilizado como fator prognóstico para MCTs. Apesar das propostas de gradação citológica de Scarpa; Sabbatini; Bettini (2014); Hergt et al. (2016) e Camus et al. (2016), a gradação histopatológica continua sendo usada como padrão ouro (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984; KIUPEL et al., 2011; WILLMANN et al., 2021).

Um dos anseios de Camus et al. (2016) em seu estudo era de que a gradação citológica gerasse alta concordância com a gradação histológica, a fim de prever o comportamento do tumor antes mesmo da cirurgia. No presente estudo, isso foi possível em 84,3% dos casos, gerando uma concordância moderada com a gradação histológica de Kiupel et al., 2011.

Neste estudo, um maior número de MCT de alto grau foi diagnosticado pela citologia do que pela histologia, ou seja, 40,9% dos casos foi falso positivo, assim como descrito por Kiupel e Camus (2019), que afirmam que o valor preditivo positivo da classificação citológica é baixo. Não obstante, como a citologia é um teste de triagem, é esperado que gere resultados falso positivos sem maiores prejuízos ao animal, uma vez que o principal inconveniente de um tumor classificado como alto grau na citologia é que o animal pode ser submetido à uma cirurgia invasiva desnecessariamente, enquanto que falsos negativos podem permitir que um tumor agressivo não seja tratado (CAMUS et al., 2016).

Apesar de diversos autores relatarem que os animais com MCT grau I apresentam melhor prognóstico (PATNAIK, EHLER e MACEWEN, 1984; SABATINI et al. 2015; STEFANELLO et al. 2015; WILLMANN et al, 2021), os animais graduados em I deste estudo não alcançaram o tempo médio de sobrevivência. Uma das desvantagens na metodologia de graduação de Patnaik, Ehler e Macewen (1984) é que a maioria dos tumores recebem graduação II (STEFANELLO, et al., 2015; SABATTINI et al. 2015; CAMUS et al., 2016; NORTHROP et al., 2005). Sendo assim, o grande número de animais com tumores grau II, 66,27% no presente estudo, e, conseqüentemente, o pequeno número de animais com graduações I e III, prejudicaram a avaliação prognóstica para esse sistema.

Quanto a graduação de Kiupel et al. (2011), a maior parte dos tumores foram classificados como baixo grau (79,52%) resultado superior ao observado por Horta et al. (2018) e Sabattini et al. (2015). Esses animais com MCT de baixo grau tiveram um tempo médio de sobrevivência de mais de dois anos, resultado semelhante ao relatado por Kiupel et al. (2011), e os animais com MCT de alto grau não atingiram a sobrevivência média. A graduação histológica segundo Kiupel et al. (2011) provou ser superior à graduação histológica proposta por Patnaik, Ehler e Macewen (1984) para avaliação prognóstica, uma vez que os animais com tumores de alto grau apresentaram mais chances de morrer quando comparados aos animais com MCT de baixo grau, assim como observado por Sabattini et al (2015) e Horta et al. (2018).

Os dados do presente estudo reforçam as observações de Camus et al. (2016), uma vez que as neoplasias foram majoritariamente classificadas como baixo grau (73,49%) na graduação citológica. Outros estudos que também adaptaram a graduação de Kiupel et al. (2011) para a citologia observaram predomínio de tumores de baixo grau (HERGT et al., 2016; SCARPA; SABATTINI; BETTINI., 2014).

Apesar de Strefezzi; Xavier e Catao-Dias (2003) descreverem que uma das vantagens do exame citopatológico é a possibilidade de melhor avaliação celular e nuclear, uma vez que não há perda de detalhes na secção do material, como ocorre no exame histopatológico, Berlatto

et al. (2021) afirmaram que os corantes utilizados na citologia podem corar os grânulos de forma intensa, o que dificulta a avaliação do pleomorfismo nuclear. No entanto, com as colorações utilizadas nesse trabalho (Panótico rápido e Giemsa), essa não foi uma dificuldade encontrada.

Kiupel e Camus (2019) afirmaram que a graduação citológica auxilia na tomada de decisão inicial, porém a graduação histológica em 2 graus, proposta por Kiupel et al. (2011) é a melhor forma de identificar neoplasias de alto grau. No presente estudo a graduação citológica se mostrou excelente instrumento para avaliação prognóstica de MCTs, uma vez que os animais com tumores de alto grau não atingiram a média e apresentaram maior chance de morrer se comparados aos cães com tumores de baixo grau. Camus et al. (2016) também observaram que animais com tumores de alto grau apresentam chances de morrer 25 vezes maior do que os de baixo grau e afirmam que o grau citológico é um preditor útil para o planejamento do tratamento e prognóstico.

CONCLUSÃO

O mastocitoma canino têm sido diagnosticado com frequência no HOVET-UFU, acometendo principalmente cães adultos a idosos, fêmeas, cães sem raça definida e cães da raça labrador. A graduação histológica segundo Kiupel et al. (2011) provou ser superior à graduação histológica proposta por Patnaik, Ehler e Macewen (1984) para avaliação prognóstica. A graduação dos mastocitomas caninos através da citologia utilizando o sistema desenvolvido por Camus et al. (2016) é útil para fornecer informações prognósticas que antecedem a exérese do tumor, podendo auxiliar inclusive no planejamento cirúrgico e orientação aos tutores. Ademais, o grau citológico está relacionado com a sobrevida, indicando que cães com alto grau na citologia tem menor sobrevida do que cães com baixo grau na citologia.

REFERÊNCIAS

BAKER-GABBY, M.; HUNT, G. B.; FRANCE, M. P. Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs; clinical behaviour and response to surgery. **Australian veterinary journal**, Australian, v. 81, n. 12, p. 732-738, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb14601.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-0813.2003.tb14601.x>. Acesso em: 10 out. 2020.

BERLATO, D. *et al.* Value, Limitations, and Recommendations for Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. **Veterinary Pathology**. [s.l.], v.58, n.5, p.858-863, 2021.

DOI:10.1177/03009858211009785_Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/03009858211009785>. Acesso em: 05 dez. 2021.

BROCKS, B.A.W. *et al.* Internal tandem duplication of exon 8 of *c-kit* is associated with longer total survival in canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, [s.l.], v.58, n. 2, p.315-324, March, 2021. DOI: 10.1177/0300985820973463. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985820973463?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 22 nov. 2021.

CAMUS, M. S. *et al.* Cytologic criteria for mast cell tumor grading in dogs with evaluation of clinical outcome. **Veterinary pathology**, Madison, v.53, n.6, p. 1117-1123, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985816638721>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985816638721>. Acesso em: 15 set. 2020.

COSTA, M. C. *et al.* Prevalence and epidemiological and histopathological features of canine cutaneous mast cell tumours in Uberlândia, Brazil. **Acta Veterinaria Brno**, Brno, v. 86, n. 2, p. 189-193, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2754/avb201786020189>. Disponível em: <https://actavet.vfu.cz/86/2/189/>. Acesso em: 7 nov. 2021.

DE STREFEZZI, R.F. *et al.* Nuclear Morphometry in Cytopathology: A Prognostic Indicator for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. [s.l.], v.21, n.6, p. 821-825, 2009. doi:10.1177/104063870902100608. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19901282/>. Acesso em: 15 dez. 2021.

GROSS, T. L. *et al.* **Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis**. 2º ed. Oxford: Blackwell Science Ltd, Blackwell Publishing, 2005. p. 944.

HERGT, F. *et al.* Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. **Veterinary clinical pathology**, [s.l.], v. 45, n. 3, p. 477-483, 2016. DOI: 10.1111/vcp.12387. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27483044/>. Acesso em: 22 nov. 2020.

HORTA, R.S. *et al.* Assessment of canine mast cell tumor mortality risk based on clinical, histologic, immunohistochemical, and molecular features. **Veterinary pathology**, [s.l.], v. 55, n. 2, p. 212-223, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985817747325>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985817747325>. Acesso em: 04 nov. 2020.

KIUPEL, M. Mast Cell Tumors. *In*: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 5 ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc, 2017. p. 176 – 202.

KIUPEL, M. *et al.* Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary pathology**, Madison, v.48, n.1, p.147-155, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300985810386469>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985810386469>. Acesso em: 10 set. 2020.

KIUPEL, M.; CAMUS, M. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. [s.l.], v. 49, n. 5, p. 819-836, 2019. DOI:10.1016/j.cvsm.2019.04.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31178200/> Acesso em: 08 jun. 2021.

KLUTHCOVSKY, L. C. *et al.* Complete blood count evaluation of dogs treated with four different antineoplastic chemotherapy protocols. **Comparative Clinical Pathology**, v. 29, n. 3, p. 675-681, 2020. DOI: 10.6084/m9.figshare.9761231.v3 Disponível em: <https://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2052-6687-2-1>. Acesso em: 5 dez. 2021.

LANDIS JR, KOCH GG. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, [s.l.], V.33, p.159–174, 1977. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/843571/>. Acesso em: 20 nov. 2021.

MARCOS, R.; SANTOS, M. Técnicas de Colheita e Coloração de Esfregaços. *In*: PELETEIRO, M. C.; MARCOS, R.; SANTOS, M.; CORREIA, J.; PISSARRA, H.; CARVALHO, T. **Atlas de citologia veterinária**. Porto: Líder - Edições Técnicas, 2011. p. 1 – 27.

MOORE, A.S. *et al.* Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. **Vet Comp Oncol**. v. 18, n.3 p. 408, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/vco.12565>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vco.12565>. Acesso em: 18 dez. 2021.

NORTHRUP, N.C. *et al.* Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference . **J Vet Diag Invest**. v.17, p. 561 – 564, 2005. DOI: 10.1177/104063870501700606. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/104063870501700606>. Acesso em: 5 set. 2021.

PATNAIK, A.K.; EHLER, W.J.; MACEWEN, E.G. Canine mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, Madison, v.21, p.469-474, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098588402100503>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/030098588402100503>. Acesso em: 2 set. 2020.

PIERINI, A. *et al.* Epidemiology of Breed-Related Mast Cell Tumour Occurrence and Prognostic Significance of Clinical Features in a Defined Population of Dogs in West-Central Italy. **Veterinary Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 53, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci6020053>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-7381/6/2/53>. Acesso em: 4 set. 2020.

SABATTINI, S. *et al.* Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor Is 2 Better Than 3?. **Veterinary pathology**, v. 52, n. 1, p. 70-73, 2015. DOI: 10.1177/0300985814521638. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24513799/>. Acesso em: 07 dez 2021.

SCARPA, F.; SABATTINI, S.; BETTINI, G. Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary and comparative oncology**, [s.l.], v.14, n.3, p. 245-251, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/vco.12090>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vco.12090>. Acesso em: 10 set. 2020.

SHOOP, Stephanie JW *et al.* Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. **Canine Genetics and Epidemiology**, v. 2, n. 1, p. 1, 2015. Disponível em:

<https://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2052-6687-2-1>. Acesso em: 12 mar. 2021.

STEFANELLO, D. *et al.* Comparison of 2-and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009–2014). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 7, p. 765-769, 2015. DOI: 10.2460/javma.246.7.765. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25794126/>. Acesso em: 5 dez. 2021.

SLEDGE, D.G.; WEBSTER, J.; KIUPEL, M. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. **The Veterinary Journal**, [s.l.], v. 215, p. 43-54, 2016. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.06.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023316300752?casa_token=dZr5pVdSqwYAAAAA:FxVgvZOOti_hj_q-gBPHxol8c7K85cRWTBZn95Q43zLe6v1slng1q76bVnVZa0Gv8VVElW5nUg. Acesso em: 22 nov. 2021.

STREFEZZI, R.DE. F., XAVIER, J.G., CATAO-DIAS, J.L. Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**. [s.l.], v.40, n.3, p. 268–275, 2003. DOI: 10.1354/vp.40-3-268. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12724567/>. Acesso em: 15 fev. 2021.

SOUZA, A. C. F. *et al.* Canine cutaneous mast cell tumors: retrospective study of cases attended by the oncology service at the Veterinary Hospital of FCAV-Unesp, Jaboticabal, from 2005 to 2015. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1808-1817, 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5150 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/dm4GwssLKVfffxnSZpjWyLQ/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 26 nov,2021.

ŠMIECH, A. *et al.* Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. **Acta veterinaria scandinavica**, [s.l.], v. 60, n. 1, p. 70, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0424-2>. Disponível em: <https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13028-018-0424-2#citeas>. Acesso em: 13 set. 2021.

WARLAND, James; DOBSON, Jane. Breed predispositions in canine mast cell tumour: a single centre experience in the United Kingdom. **The Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 496-498, 2013. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.02.017 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23583004/>. Acesso em: 2 dez. 2021.

WELLE, M.M. *et al.* Canine mast cell tumors: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. **Vet Dermatol**. [s.l.], v.19, n.6, p. 321-339, 2008 DOI: 10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18980632/>. Acesso em: 15, nov. 2021.

WILLMANN, M. *et al.* Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, 2021. DOI 10.3389/fvets.2021.755258. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.755258/full>. Acesso em: 05 jan.2022.