



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MASTOCITOMA INTESTINAL NO CÃO – CASE REPORT

Sofia Valente Quinteiro

Coimbra, julho de 2023



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MASTOCITOMA INTESTINAL NO CÃO – CASE REPORT

Coimbra, julho de 2023

Sofia Valente Quinteiro

Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Sofia Ferreira

Anastácio

Arguente: Professor Doutor Gonçalo Petrucci

Orientador: Professora Doutora Ana Catarina Pais dos Santos Figueira

Orientadora Interna

Prof. Doutora Ana Catarina Pais
dos Santos Figueira

Orientadores Externos

Dra. Rita Serras

Onevet Hospital Veterinário Berna

Dra. Margarida Almeida

Onevet Hospital Veterinário

Universitário de Coimbra

Dissertação do Estágio Curricular dos ciclos de estudo conducentes ao Grau de Mestrado em
Medicina Veterinária da EUVG

Agradecimentos

Quero agradecer à minha família pelas palavras de encorajamento, carinho e todo o apoio incondicional durante todos estes anos.

À minha orientadora interna, Professora Doutora Ana Catarina Figueira, por quem guardo uma grande empatia, quero agradecer por toda a disponibilidade e a ajuda prestada na realização desta dissertação, bem como em todo o meu percurso académico.

Ao Professor Doutor Hugo Vilhena, Dr. João Oliveira, Dr. Pedro Olivério e Dr. Mauro Moura, obrigada pelos comentários, contribuições e críticas construtivas relativas a este caso clínico.

Por fim, a todos os meus professores e orientadores de estágios, um obrigada por todos os conhecimentos transmitidos.

Índice geral

Índice de figuras.....	vi
Lista de abreviaturas e acrónimos.....	vii
Resumo.....	2
<i>Abstract</i>	3
1. Introdução.....	4
2. Apresentação do caso.....	7
2.1. Anamnese.....	7
2.2. Avaliação clínica do animal e ecografia abdominal.....	7
2.3. Outros Exames Complementares de Diagnósticos.....	8
2.4. Diagnóstico definitivo e Tratamento.....	11
3. Discussão.....	16
4. Conclusão.....	19
Referências Bibliográficas.....	20

Índice de figuras

Figuras 1 a) e b): Imagens obtidas pela ecografia abdominal onde se visualiza a intussusceção ao nível do cólon descendente proximal (setas); corte longitudinal e transversal respetivamente.....	8
Figura 2: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se visualiza uma estrutura atípica hipoeecogénica (seta) distal ao segmento invaginado, na porção média do cólon descendente; corte transversal.....	8
Figura 3: Radiografia abdominal com visualização, ao nível do abdómen médio, de uma estrutura oval (setas) com opacidade de tecido mole sobreposta com o cólon descendente, com comprimento aproximado de duas vértebras, margens regulares e parcialmente sobreposta com o pólo caudal do rim esquerdo; projeção latero-lateral.....	9
Figuras 4: a) e b) Imagens por endoscopia gastrointestinal completa onde se observou uma massa que ocupava quase a totalidade do lúmen do cólon descendente e projetava-se no cólon transverso/ascendente e c) região caudal à intussusceção, que impossibilitou a exploração dessa região.....	9
Figuras 5: a) e b) Imagens reconstruídas obtidas pela tomografia computadorizada, onde se observa a intussusceção íleo-ceco-cólica (setas) em plano sagital e dorsal modificados, respetivamente.....	10
Figuras 6: a) Imagem intra cirúrgica com visualização da intussusceção ileocólica; b) da enterotomia com remoção da massa e c) da anastomose ileocólica.....	11
Figura 7: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa o linfonodo cólico de tamanho aumentado e bastante hipoeecogénico, quase anecogénico; corte transversal (seta).....	12
Figuras 8 a) e b): Imagens obtidas pela ecografia abdominal onde se visualizam linfonodos da cadeia cólica com sinais de reatividade, não se descartando a possibilidade de alteração metastática inicial (setas); corte transversal.....	13
Figura 9: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa uma estrutura oval hipoeecogénica com cerca de 12X6mm no plano longitudinal na região da anastomose, invadindo a camada muscular e submucosa da parede (setas).....	13
Figura 10: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa a massa mural adjacente à anastomose com crescimento caudal e dorsal (seta); corte transversal.....	14
Figura 11: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa a massa intestinal (seta); corte transversal.....	14
Figura 12: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se visualiza a massa no fígado (seta); corte transversal.....	15

Lista de abreviaturas e acrónimos

%: percentagem

μL: microlitro

AgNOR: Regiões organizadoras nucleolares argirófilas

CAMV: Centro de Atendimento Médico-Veterinário

cm: centímetro

dL: decilitro

g: grama

HVUC: Hospital Veterinário Universitário de Coimbra

kg: quilograma

LN: linfonodo

mg: miligrama

OMS: Organização Mundial de Saúde

PAAF: Punção aspirativa com Agulha Fina

PAF: Punção com Agulha Fina

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

TC: Tomografia Computorizada

TKI's: Inibidor de Tirosina Quinase

UI: Unidade Internacional

Mastocitoma Intestinal no Cão - Case Report

Sofia Valente Quinteiro ^a, Hugo Vilhena ^{a,b,c}, João Oliveira ^{a,c,d}, Mauro Moura ^e, Pedro
Olivério ^{a,c}, Ana Catarina Figueira ^{a,b,c}

^a Departamento de Ciências Veterinárias, Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av.
José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

(sofiavalentequinteiro@gmail.com) (hugo.vilhena@euvg.pt) (joao.oliveira@euvg.pt)
(pedro.pinto@euvg.pt) (ana.figueira@euvg.pt)

^b Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Escola Universitária Vasco da Gama
(EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra,
Portugal

^c Onevet ospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), Av. José R. Sousa Fernandes
197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

^d Onevet Clínica veterinária da Figueira da Foz, Ponte Galante - R. Almeida Garrett, nº3 C e
D, 3080-094, Figueira da Foz, Portugal

^e Vetendomis- Serviço de Endoscopia ambulatorio, Figueira da Foz

(mauromouravet@gmail.com)

Resumo

O mastocitoma canino apresenta-se maioritariamente sobre a forma de massa cutânea e/ou subcutânea, no entanto, estão descritas formas viscerais. O seu quadro clínico e prognóstico variam substancialmente entre animais, localização anatômica, grau e estadio da doença.

Os mastocitomas intestinais em cães estão ainda pouco descritos, existindo poucas publicações a documentá-los, sendo importante que todos sejam relatados e expostos à comunidade científica, a fim de melhorar as estratégias de diagnóstico, tratamento e prognóstico.

O presente caso clínico refere-se a uma cadela esterilizada, *bulldog* francês, com 8 anos de idade com história de hematoquezia, sem alterações nas análises sanguíneas (hemograma e bioquímicas). Nos exames complementares de imagem (ecografia abdominal, radiografia abdominal, tomografia computadorizada e endoscopia completa) foi possível observar sinais de intussusceção íleo-ceco-cólica e a identificação de uma massa de grandes dimensões ao nível do cólon. Na endoscopia gastrointestinal completa foram realizadas biópsias dos diferentes segmentos, incluindo da massa, contudo estas não foram conclusivas.

Como forma de diagnóstico e tratamento, foi realizada enterectomia com remoção da massa e posteriormente avaliação histopatológica. O resultado da histopatologia foi compatível com tumor de células redondas, sendo que após imunohistoquímica com o marcador CD117, confirmou-se o diagnóstico de mastocitoma intestinal. A evolução rápida dos achados nos controlos ecográficos realizados (linfonodos reativos de tamanhos diversos, massa mural adjacente à anastomose da parede intestinal e posteriormente aparecimento de uma massa no fígado) levaram à determinação presuntiva de uma recidiva local, de metastização ganglionar e envolvimento hepático.

Após diagnóstico definitivo e identificação da nova massa no local da anastomose implementou-se terapia adjuvante com fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/kg. O estado geral do animal foi piorando e sete semanas e dois dias após diagnóstico foi eutanasiado.

Com o presente trabalho pretende-se contribuir para o conhecimento do mastocitoma intestinal no cão, bem como retratar a evolução de uma neoplasia ainda pouco reportada em cães.

Palavras-chave: cão, diagnóstico, mastocitoma, mastocitoma intestinal, prognóstico.

Abstract

Canine mast cell tumour predominantly presents as a cutaneous and/or subcutaneous mass, although visceral forms have also been described. The clinical presentation and prognosis of mast cell tumours vary significantly among animals, anatomical location, grade and stage of the disease.

Intestinal mast cell tumors in dogs are still poorly described, with few publications documenting them and it is important that all cases are reported and exposed to the scientific community to improve diagnostic, treatment, and prognostic strategies.

The present clinical case refers to an 8-year-old spayed female French Bulldog with a history of hematochezia, with no abnormalities in blood tests (hemogram and biochemistry). Complementary imaging exams (abdominal ultrasound, abdominal radiography, computed tomography and complete endoscopy) revealed signs of ileo-ceco-colic intussusception and the identification of a large mass in the colon. Biopsies were taken from different segments during complete gastrointestinal endoscopy, including the mass, but they were inconclusive.

To establish a diagnosis and treatment, enterectomy was performed with mass removal, followed by histopathological evaluation. The histopathology result was consistent with a round cell tumor, and immunohistochemistry with the CD117 marker confirmed the diagnosis of intestinal mast cell tumor. The rapid progression of findings in follow-up ultrasounds (reactive lymph nodes of different sizes, mural mass adjacent to the intestinal wall anastomosis, and subsequently, the appearance of a mass in the liver) led to the presumptive determination of local recurrence, nodal metastasis and hepatic involvement.

After a definitive diagnosis and identification of the new mass at the anastomosis site, adjuvant therapy with toceranib phosphate was implemented at a dose of 3.25 mg/kg. However, the animal's overall condition worsened, and seven weeks and two days after the diagnosis, euthanasia was performed.

This study aims to contribute to the understanding of intestinal mast cell tumors in dogs and depict the progression of a neoplasm that is still rarely reported in dogs.

Keywords: canine, diagnosis, intestinal mast cell tumour, mast cell tumour, prognosis.

1. Introdução

Os mastocitomas são os tumores cutâneos mais comuns no cão, representando 16 a 21% das neoplasias cutâneas (London & Thamm, 2020). A sua verdadeira etiologia ainda não está bem definida, mas acredita-se que seja multifatorial. Alguns autores sugerem que a inflamação cutânea crônica pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento desta neoplasia (London & Thamm, 2020; Welle et al., 2008). Este tipo de tumor manifesta-se como uma proliferação descontrolada e/ou acumulação de mastócitos, frequentemente na derme e tecido subcutâneo (Ozaki et al., 2002), mas também, embora menos comum, em locais extracutâneos, como o trato gastrointestinal ou de forma sistêmica (mastocitose) (Grano et al., 2012). Quando há disseminação interna, os tecidos mais frequentemente envolvidos são os gânglios linfáticos regionais, o baço e o fígado. As células neoplásicas também podem ser encontradas na medula óssea e no sangue periférico, representando envolvimento sistêmico grave (Souza et al., 2000).

O mastócito origina-se a partir de células precursoras hematopoéticas da medula óssea, mais especificamente de células estaminais CD34+ (Valent et al., 2020; Welle et al., 2008). Os mastócitos imaturos entram na corrente sanguínea, proliferam e diferenciam-se nos tecidos. Quando maduros adquirem uma forma globosa, grande e com citoplasma repleto de grânulos metacromáticos, que com o corante de azul toluidina adquirem uma coloração púrpura (Junqueira & Carneiro, 2008). Quando ocorre desgranulação celular, são secretados mediadores inflamatórios, enzimas e citocinas (histamina, serotonina, prostaglandinas e leucotrienos) responsáveis pela resposta neural, inflamatória e imunológica (Tizard, 2017).

Os mastocitomas cutâneos estão descritos em várias raças caninas, porém há raças com maior incidência como o boxer e o boston terrier (Welle et al., 2008). Em relação aos mastocitomas intestinais, parece existir uma maior predisposição em raças miniaturas, especialmente as maltesas (Takahashi et al., 2000; Ozaki et al., 2002). Relativamente à idade, nos mastocitomas cutâneos existe uma maior incidência em animais entre os 6 e os 10 anos e a maioria dos estudos não apresenta uma prevalência sexual (Welle et al., 2008).

Muitos dos sinais clínicos e síndromes paraneoplásicas devem-se à liberação de aminas vasoativas, histamina e heparina produzidas pelos mastócitos. Estes sinais incluem anorexia, febre, edema periférico, vômito, hematemese, diarreia, melena e dor abdominal, como resultado da ulceração gastrointestinal (Grano et al., 2012; Takahashi et al., 2000).

O diagnóstico de mastocitoma cutâneo e subcutâneo envolve a realização de uma citologia através de uma punção com agulha fina (PAF), um método fiável e fácil de executar, no entanto, o diagnóstico só é definitivo com biópsia e histopatologia (Kiupel & Camus, 2019; Welle et al., 2008; Willmann et al., 2021). Com um resultado compatível com mastocitoma, deve fazer-se o estadiamento tumoral, para determinar a extensão da doença e assim o prognóstico (Welle et al., 2008).

Todos os mastocitomas cutâneos são estadiados de acordo com o sistema de estadiamento tumoral proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Este divide os mastocitomas cutâneos em

quatro estadios de acordo com a sua localização, envolvimento de gânglios linfáticos e órgãos e disseminação do tumor, bem como a existência de sinais sistêmicos de doença (London & Thamm, 2020).

A avaliação histopatológica da lesão primária é fundamental para o diagnóstico, bem como para a determinação do grau do mastocitoma (Blackwood et al., 2012). O sistema de graduação mais comumente utilizado é o de Patnaik et al. (1984), que subdivide os mastocitomas cutâneos em três graus, consoante a avaliação das características celulares, tais como o número de grânulos citoplasmáticos, o grau de anisocariose, o número de figuras mitóticas e a invasão tumoral nos tecidos subjacentes (Willmann et al., 2021). Devido à subjetividade entre patologistas e ao comportamento biológico imprevisível dos mastocitomas cutâneos de grau dois, Kiupel et al. (2011) propuseram uma classificação de dois níveis, mastocitomas de baixo grau e mastocitomas de alto grau. Este sistema baseia-se na morfologia das células neoplásicas, avaliando o tamanho do núcleo, a organização da cromatina, o nucléolo, o número de figuras mitóticas e a presença de células multinucleadas (Kiupel et al., 2011).

Uma vez que estes sistemas de classificação foram estabelecidos principalmente para mastocitomas cutâneos, Willmann et al. (2021) propuseram uma nova classificação para os mastocitomas no geral, com critérios de graduação mais abrangentes. Assim sendo, dependendo dos órgãos afetados, os mastocitomas nos cães podem ser divididos em mastocitomas cutâneos, subcutâneos, de mucosas, extracutâneos/extramucosos, sem envolvimento da pele ou leucemia de mastócitos. A classificação histopatológica para os mastocitomas da mucosa, onde se inserem os mastocitomas do trato intestinal, não foi estabelecida, contudo estes apresentam características histológicas de um mastocitoma cutâneo de alto grau, com alto índice de proliferação, pelo que se recomenda um tratamento mais agressivo com cirurgia e/ou radioterapia local e tratamento sistêmico com quimioterapia (Willmann et al., 2021).

De forma a ajudar na classificação dos mastocitomas, bem como no seu diagnóstico, foram realizados vários estudos de histoquímica e imuno-histoquímica (Welle et al., 2008). O ki-67 e as regiões organizadoras nucleares argirofílicas (AgNOR) são indicadores de fração de crescimento e de proliferação celular, respetivamente, ambos úteis na determinação do prognóstico desta neoplasia. Normalmente, quando aumentados, são indicativos de maiores taxas de recidiva e/ou metastização e, por isso, de um pior prognóstico (De Nardi et al., 2022; Willmann et al., 2021). O CD117 é uma proteína codificada pelo gene c-kit, sendo considerada um marcador imuno-histoquímico importante para a identificação de mastócitos (Da Costa et al., 2007; De Nardi et al., 2022; Preziosi et al., 2004).

Relativamente à abordagem terapêutica, esta vai depender do estado clínico do animal, do grau histológico do tumor e do seu estadio clínico (Willmann et al., 2021). A excisão cirúrgica é o tratamento de eleição para mastocitomas cutâneos (Blackwood et al., 2012) e o uso de radioterapia está descrito como tratamento adjuvante (Garrett, 2014). A quimioterapia está indicada quando não é possível a excisão cirúrgica, para o controlo de doença metastática e como tratamento adjuvante de mastocitomas de grau intermédio com prognóstico desfavorável (Welle et al., 2008). Os protocolos quimioterápicos mais utilizados para mastocitomas cutâneos, incluem vinblastina, lomustina e/ou

prednisona. Terapia com inibidores da tirosina quinase, como toceranib e masitinibe, são também opções terapêuticas médicas (Blackwood et al., 2012). A administração de glicocorticoides é comum, pela sua ação inibitória na proliferação celular e aumento da apoptose das células tumorais. Além disso, a sua ação anti-inflamatória é bem conhecida e pode contribuir para a redução do edema peritumoral (Kiupel, 2017).

Os mastocitomas intestinais são mais frequentemente descritos em gatos (Munday et al., 2017), existindo poucos casos descritos em cães (Al- Rukibat & Ismail, 2016; Grano et al., 2012; Iwata et al., 2000; Kobayashi et al., 2012; Ozaki et al., 2002; Souza et al., 2000; Patnaik & Marreta, 1980; Takahashi et al., 2000). Nos cães encontram-se descritos seis casos clínicos (Al- Rukibat & Ismail, 2016; Grano et al., 2012; Iwata et al., 2000; Kobayashi et al., 2012; Souza et al., 2000; Grano et al., 2012; Patnaik & Marreta, 1980) e um estudo retrospectivo, que inclui 10 casos clínicos (Takahashi et al., 2000). A falta de informação consistente e objetiva na literatura existente, contribuí para a não existência, até ao momento, de diretrizes de abordagem para esta neoplasia no cão. Assim, revela-se fundamental a descrição e divulgação destes casos à comunidade científica, a fim de estabelecer uma compreensão mais clara e consensual.

Com o presente caso de mastocitoma intestinal num cão, de apresentação atípica, pretende-se contribuir para o conhecimento desta neoplasia intestinal do cão, pouco descrita até à data. O presente trabalho foi submetido à Comissão de Ética da Escola Universitária Vasco da Gama, tendo o parecer favorável com o n.º 26/2022.

2. Apresentação do caso

2.1. Anamnese

Um canídeo fêmea com 11,9 kg, 8 anos, raça *bulldog* francês, esterilizada, deu entrada no Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC) em setembro de 2022, referenciada por outro Centro de Atendimento Médico-Veterinário (CAMV), com história de hematoquezia.

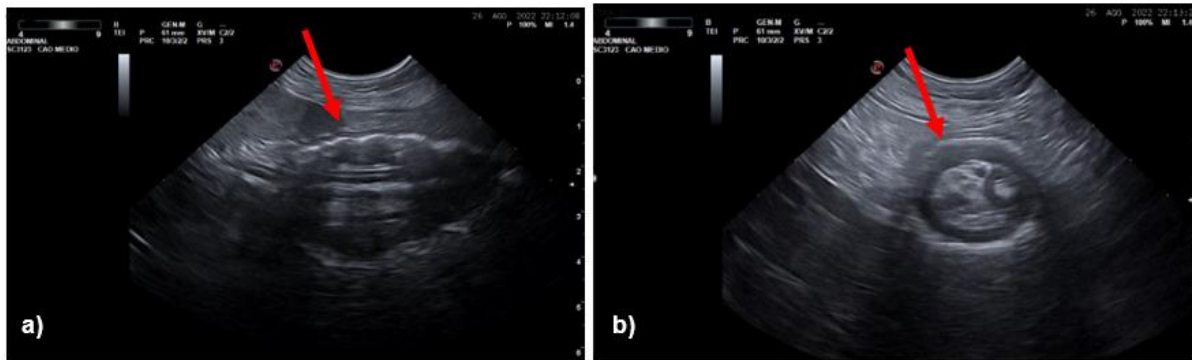
Na anamnese verificou-se que já tinha sido realizado um exame coprológico e ensaio imunoenzimático para deteção e medição semi-quantitativa de anticorpos anti-*Leishmania* no soro, cujos resultados foram negativos. O diagnóstico presuntivo era de colite, tendo sido medicada com metronidazol e firocoxib, no entanto, sem melhoria clínica. Posteriormente, teria sido medicada com sulfassalazina, não tendo sido verificadas melhorias dos sinais clínicos.

Nessa altura foi referenciada para o HVUC para ecografia abdominal.

2.2. Avaliação clínica do animal e ecografia abdominal

Na avaliação realizada no HVUC, o animal não apresentava alterações ao exame físico, exceto desconforto ao toque retal.

À ecografia abdominal observaram-se sinais de intussusceção ao nível do cólon transversal e descendente, sem sinais obstrutivos significativos a montante (Figuras 1 a) e b)); distalmente à zona de intussusceção, identificou-se uma estrutura anormal adjacente. Foi descrita como uma estrutura hipoecogénica com cerca de 2,5cm de diâmetro, localizada na região média do cólon descendente (Figura 2). O seu comprimento foi difícil de estimar, uma vez que na zona invaginada existiam artefactos de reverberação e sombra acústica que dificultavam a visualização da sua margem proximal. Este achado poderia ser compatível com alteração secundária à própria intussusceção (necrose ou alteração inflamatória da parede) ou uma massa primária pré-existente na parede da região ileocólica, sendo ela própria, nesse caso, uma possível causa da intussusceção. Foi recomendada a realização de biópsia colonoscópica da lesão.



Figuras 1 a) e b): Imagens obtidas pela ecografia abdominal onde se visualiza a intussuscepção ao nível do cólon descendente proximal (setas); corte longitudinal e transversal respetivamente (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

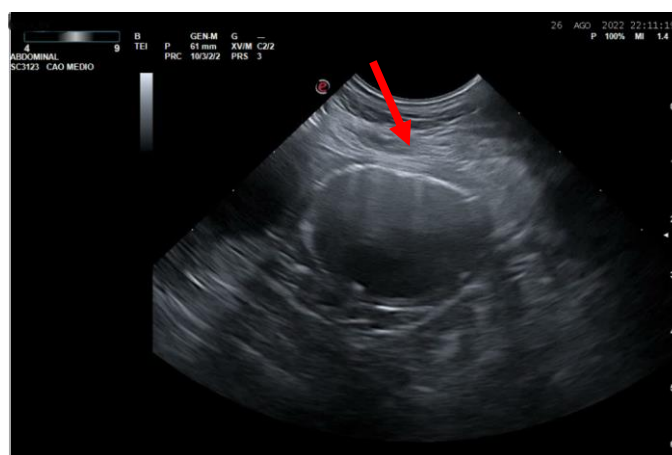


Figura 2: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se visualiza uma estrutura atípica hipoeecogénica (seta) distal ao segmento invaginado, na porção média do cólon descendente; corte transversal (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

2.3. Outros Exames Complementares de Diagnósticos

Foram realizados exames complementares de diagnóstico como hemograma, análises bioquímicas séricas e radiografia abdominal. As análises hematológicas não revelaram alterações dignas de registo. Na radiografia abdominal, ao nível do abdómen médio, observou-se uma estrutura oval com opacidade de tecido mole sobreposta com o cólon descendente, com comprimento aproximado de duas vértebras, margens regulares e parcialmente sobreposta com o pólo caudal do rim esquerdo (Figura 3).

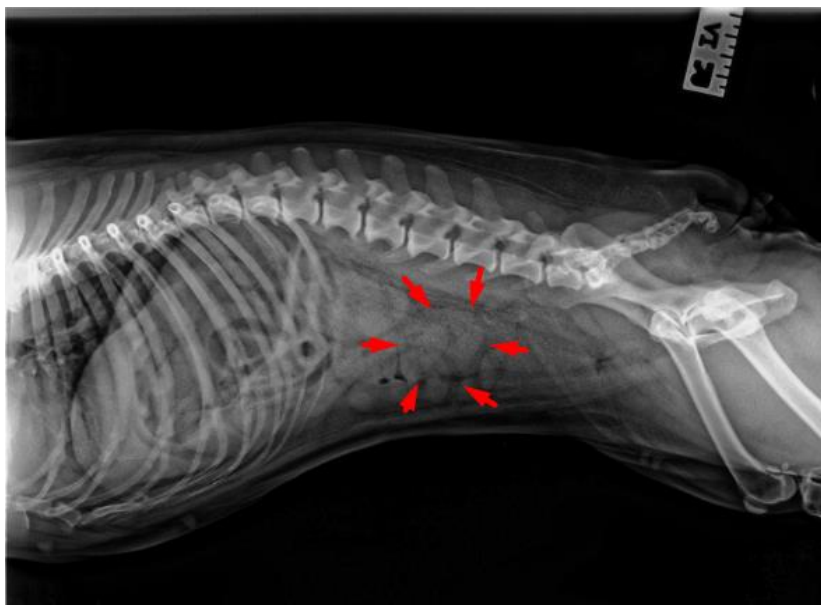


Figura 3: Radiografia abdominal com visualização, ao nível do abdômen médio, de uma estrutura oval (setas) com opacidade de tecido mole sobreposta com o cólon descendente, com comprimento aproximado de duas vértebras, margens regulares e parcialmente sobreposta com o pólo caudal do rim esquerdo; projeção latero-lateral (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Recomendou-se a realização de endoscopia gastrointestinal completa, bem como de tomografia computadorizada (TC).

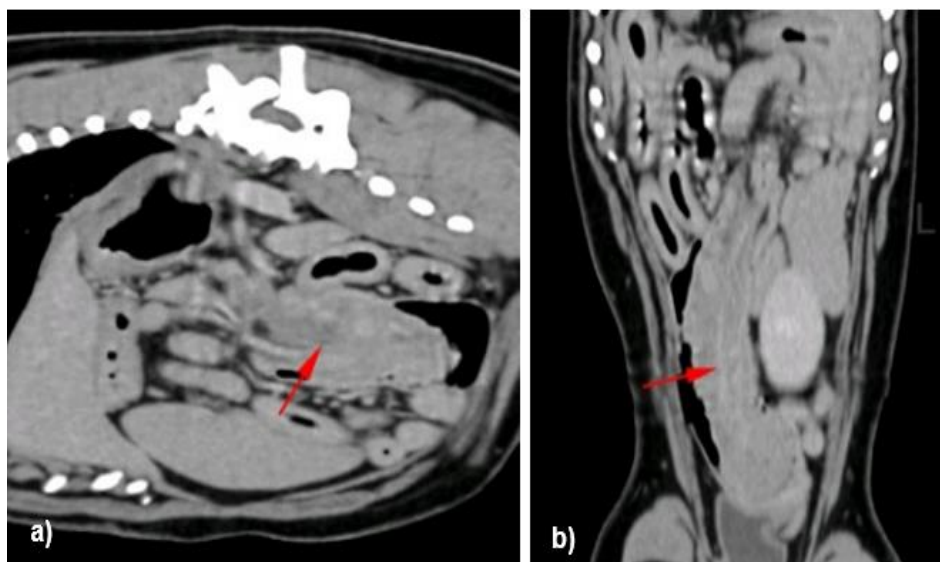
À gastroduodenoscopia visualizaram-se sinais de gastrite ligeira e estômago com conteúdo mucoso ligeiro. Na colonoscopia foi aparente uma massa de grandes dimensões com comprimento estimado de 10cm e consistência dura, que ocupava quase a totalidade do lúmen do cólon descendente e projetava-se no cólon transversal/ascendente. A porção mais proximal tinha aparência de intussusceção intestinal, o que impossibilitou a exploração dessa região (Figuras 4 a), b) e c)).



Figuras 4: a) e b) Imagens por endoscopia gastrointestinal completa onde se observou uma massa que ocupava quase a totalidade do lúmen do cólon descendente e projetava-se no cólon transversal/ascendente e **c)** região caudal à intussusceção, que impossibilitou a exploração dessa região (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Foram realizadas biópsias do estômago, intestino delgado e cólon, cujos resultados foram
respetivamente hiperplasia linfocítica gástrica ligeira, hiperplasia linfoplasmocitária moderada e colite
linfoplasmocitária ligeira. As amostras da massa do cólon eram compostas por um exsudado rico em
neutrófilos supurados, secundadas por linfócitos em focos hemorrágicos e não apresentavam nenhuma
estrutura histológica específica que permitisse identificar a lesão, tendo-se concluído que a mesma era
sugestiva de abscesso.

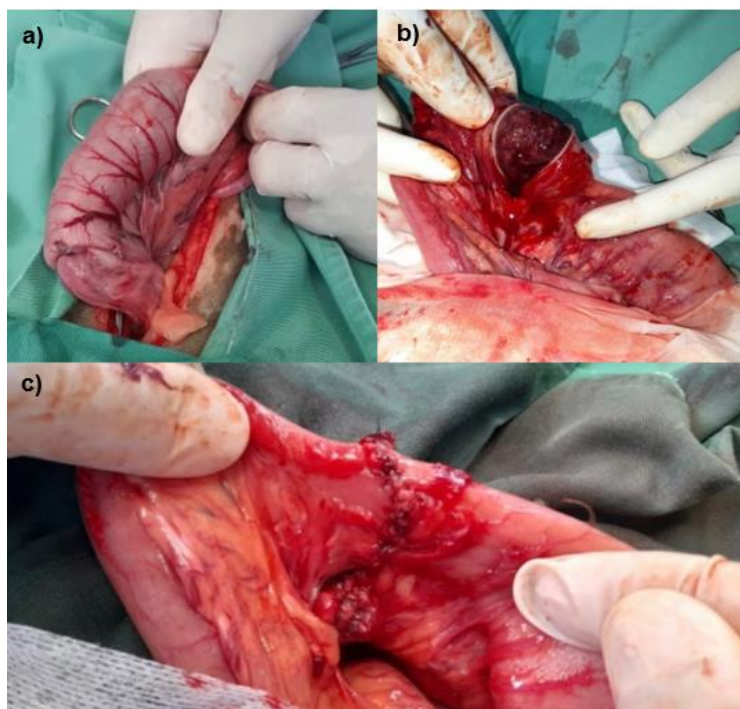
Foi ainda realizada a TC sem e com contraste iodado ao tórax e abdômen, tendo-se verificado
alterações intestinais compatíveis com intussuscepção íleo-ceco-cólica (Figuras 5 a) e b)), não
descartando uma lesão intestinal expansiva subjacente.



Figuras 5: a) e b) Imagens reconstruídas obtidas pela tomografia computadorizada, onde se observa a
intussuscepção íleo-ceco-cólica (setas) em plano sagital e dorsal modificados, respetivamente (imagens
gentilmente cedida pelo HVUC).

2.4. Diagnóstico definitivo e Tratamento

Considerando a natureza do quadro e o facto de nenhum dos exames de diagnóstico ter sido conclusivo, recomendou-se abordagem cirúrgica de celiotomia, enterectomia e anastomose ileocólica para remover a intussuscepção (Figura 6 a)) e desta forma evitar a obstrução intestinal. Após a enterectomia do íleo com remoção da massa (Figura 6 b)) e anastomose ileocólica (Figura 6 c)), a amostra foi analisada por histopatologia.



Figuras 6: a) Imagem intra cirúrgica com visualização da intussuscepção ileocólica; b) da enterotomia com remoção da massa e c) da anastomose ileocólica (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Macroscopicamente a peça de tumorectomia, com dimensão de 11cmx3,5cmx3cm, tinha a extremidade distal com aspeto congestivo, invaginação da parede intestinal, identificada em secção, e uma massa amarela fibrosa e difusa com 2cm da margem cirúrgica. Microscopicamente, ao nível da mucosa, submucosa e muscular observaram proliferação de células redondas em toalha. As células apresentavam pouco citoplasma, um núcleo grande com cromatina grumosa e entre elas identificaram eosinófilos. Visualizaram 10 mitoses por 10 campos de observação (objetiva 40X FN 22). O diagnóstico foi tumor maligno de células redondas. Para confirmação, realizou-se imunohistoquímica, com os marcadores CD3, PAX5 e CD117. Não foi observada imunomarcagem com os anticorpos CD3 nem PAX5, mas sim com os anticorpos CD117 (padrão 3). Desta forma, descartou-se o diagnóstico de linfoma e confirmou-se o diagnóstico de mastocitoma intestinal.

Três dias após a cirurgia foi realizada nova ecografia, onde se observou a região da anastomose com espasmo da parede a montante e a jusante, reatividade peritoneal e linfonodo mais próximo da região de enterectomia (provavelmente cólico direito) bastante hipocogênico, quase anecogênico, e com tamanho aumentado (Figura 7).

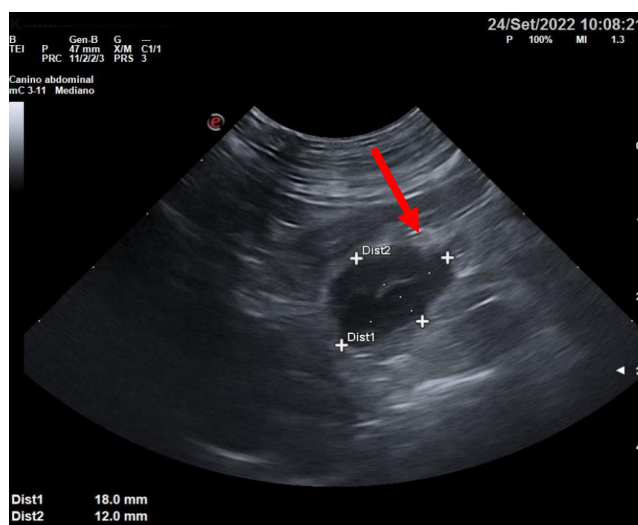
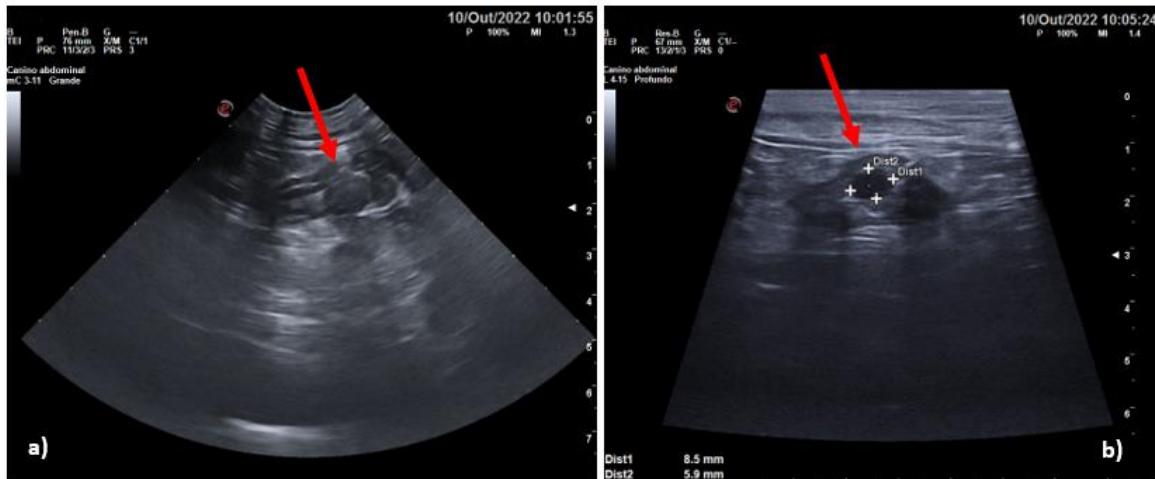


Figura 7: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa o linfonodo cólico de tamanho aumentado e bastante hipocogênico, quase anecogênico; corte transversal (seta) (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Passados 16 dias, foi feita nova ecografia de controle, onde se observaram três novos linfonodos reativos (Figuras 8 a) e b)) e uma estrutura oval hipocogênica com cerca de 12X6mm no plano longitudinal na região da anastomose, invadindo a camada muscular e submucosa da parede (Figura 9).



Figuras 8 a) e b): Imagens obtidas pela ecografia abdominal onde se visualizam linfonodos da cadeia cólica com sinais de reatividade, não se descartando a possibilidade de alteração metastática inicial (setas); corte transversal (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

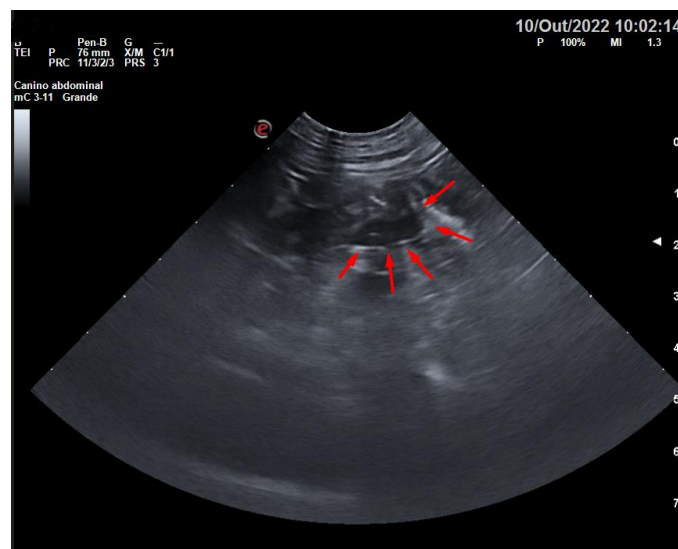


Figura 9: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa uma estrutura oval hipoeecogénica com cerca de 12X6mm no plano longitudinal na região da anastomose, invadindo a camada muscular e submucosa da parede (setas) (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Aproximadamente um mês após a cirurgia, foi realizada uma nova ecografia. De acordo com os tutores, a cadela andava bem, com o apetite normal, tendo-se verificando um aumento de peso, mas nos últimos dias as fezes estavam ligeiramente mais moles. Na ecografia abdominal observaram-se alguns linfonodos reativos e uma massa mural de aproximadamente 4cmx4,5cm adjacente à anastomose, com crescimento caudal e dorsal (Figura 10).

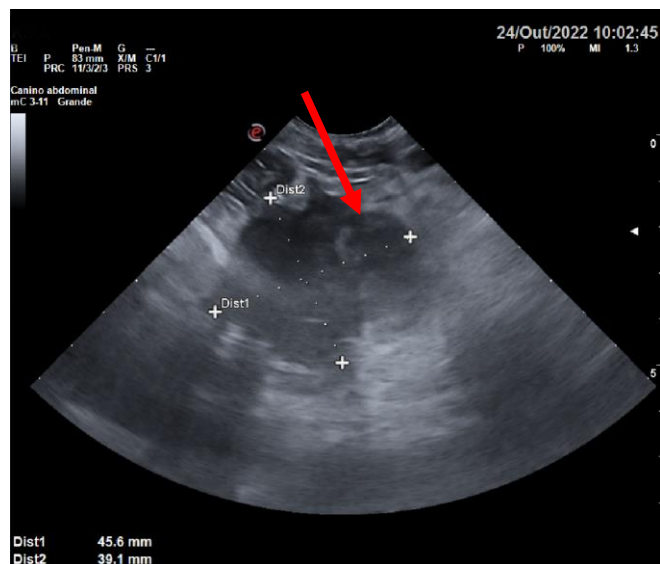


Figura 10: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa a massa mural adjacente à anastomose com crescimento caudal e dorsal (seta); corte transversal (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Passada uma semana, foram realizadas novas análises, sem alterações significativas, à exceção de uma ligeira linfopenia de $0,62 \times 10^3 \mu\text{L}$ (valores de referência: $0,83-4,91 \times 10^3 \mu\text{L}$). Também foi feita nova ecografia abdominal, onde se confirmou a presença da massa a invadir o intestino na zona de anastomose com tamanho aproximado de $5\text{cm} \times 4\text{cm}$ (Figura 11), com reatividade peritoneal, assim como uma pequena quantidade de fluido nessa região.

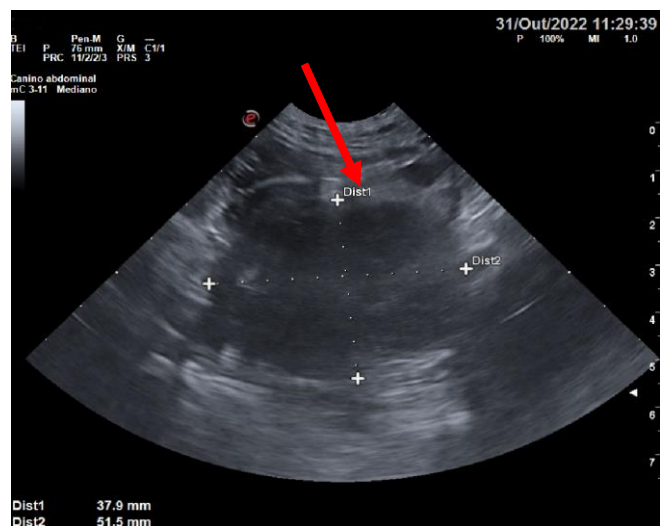


Figura 11: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se observa a massa intestinal (seta); corte transversal (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Passados 12 dias, por agravamento do quadro, o animal voltou ao hospital. Apresentava anorexia, desconforto e ascite. Realizou-se ecografia e confirmou-se que a massa tinha aumentado. Detetou-se o aparecimento de uma massa hepática com 3cmx4cm, com as mesmas características de ecogenicidade e ecotextura da massa original e do recrescimento observado na zona de anastomose (Figura 12).

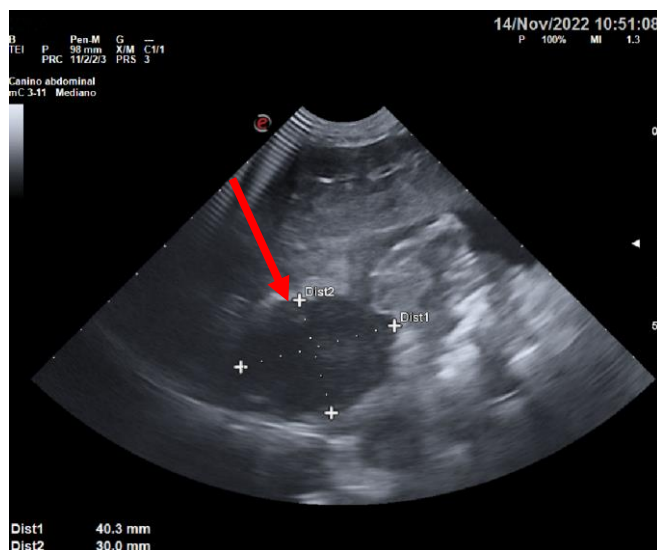


Figura 12: Imagem obtida pela ecografia abdominal onde se visualiza a massa no fígado (seta); corte transversal (imagem gentilmente cedida pelo HVUC).

Apesar de ter sido proposta nova cirurgia e/ou quimioterapia logo após o aparecimento da nova massa intestinal, os tutores apenas optaram pela quimioterapia nesta fase da progressão da doença.

Tratando-se de um mastocitoma intestinal e não havendo, até à data, *guidelines* para o seu tratamento, as terapias apresentadas foram baseadas na literatura sobre mastocitomas cutâneos de alto grau. Foram propostas duas opções de protocolo terapêutico: vinblastina e prednisona ou fosfato de toceranib, tendo os tutores decidido a administração de fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/Kg.

No entanto, considerando o mau prognóstico e agravamento do estado geral do animal, os tutores optaram pela eutanásia, quatro semanas e 24 dias após a cirurgia.

3. Discussão

Os mastocitomas são das neoplasias mais comumente diagnosticadas nos cães, sendo o órgão mais afetado a pele, seguido dos órgãos hematopoiéticos como gânglios linfáticos, baço, fígado e medula óssea e, por fim, mucosas (da cavidade oral e do trato digestivo). Dentro dos mastocitomas das mucosas, a maioria dos casos afeta a cavidade oral e consideram-se raros os do trato digestivo (Willmann et al., 2021).

A nível intestinal o tumor mais frequentemente descrito, em cão, é o linfoma (Al- Rukibat & Ismail, 2016; Ozaki et al., 2002), seguido do adenocarcinoma (Munday et al., 2017). Os mastocitomas intestinais em cães estão ainda pouco descritos, existindo poucas publicações a documentá-los (Al- Rukibat & Ismail, 2016; Grano et al., 2012; Iwata et al., 2000; Ozaki et al., 2002; Souza et al., 2000; Takahashi et al., 2000).

No intestino, os mastócitos são subdivididos em mastócitos do tecido conjuntivo e em mastócitos da mucosa. Os primeiros caracterizam-se pela presença de heparina, quimase e triptase, enquanto os segundos contêm triptase e sulfato de condroitina. Embora a triptase esteja presente nos dois e deva ser útil para a identificação de mastocitomas intestinais, nem sempre é detetada (Munday et al., 2017).

Os sinais clínicos associados a mastocitomas intestinais são bastante inespecíficos e incluem letargia, anorexia, vômito, hematemese, diarreia, hematoquezia e melena, bem como a existência de lesões cutâneas, em animais com mastocitomas cutâneos concomitantemente ou pré-existentes (Al- Rukibat & Ismail, 2016; Grano et al., 2012; Ozaki et al., 2002; Souza et al., 2000; Takahashi et al., 2000). O animal em estudo apresentava desconforto ao toque retal e história de hematoquezia, pelo que na lista de diagnósticos diferenciais foram incluídos ulceração gastrointestinal, doença inflamatória intestinal e neoplasias (linfoma intestinal, adenocarcinoma, tumor estromal gastrointestinal, mastocitose, mastocitoma intestinal, etc), (Boysen, 2014).

Em animais com suspeita de um processo neoplásico deve ser realizada uma avaliação hematológica completa, bioquímicas séricas e urianálise, de modo a descartar qualquer envolvimento sistémico da doença (Blackwood et al., 2012).

Na avaliação hematológica, em mastocitomas viscerais é frequente detetar eosinofilia, anemia por ulceração gastrointestinal, basofilia e mastocitemia (Grano et al., 2012; Takahashi et al., 2000). Também está descrita linfopenia relacionada com resposta ao stress ou possível toma prolongada de prednisolona, neutrofilia associada a processos infecciosos e inflamatórios graves, resultantes da ulceração gastroduodenal (O'keefe et al., 1987) e anomalias de coagulação também podem estar presentes (O'keefe et al., 1987; Takahashi et al., 2000). No que diz respeito às bioquímicas séricas não existem alterações consistentes descritas em animais com mastocitomas intestinais, contudo alguns casos apresentam aumento da fosfatase alcalina, provavelmente secundária a uma peritonite por rotura da parede intestinal e posterior extravasamento do conteúdo (Takahashi et al., 2000). No animal em estudo, as análises não apresentavam alterações dignas de registo à exceção das da última consulta, quando já apresentava ascite, em que foi detetada uma ligeira neutrofilia e linfopenia, possivelmente

por inflamação ou leucograma de stress, altura em que apresentava também um ligeiro aumento da fosfatase alcalina e ureia ligeiramente diminuída.

À semelhança dos mastocitomas cutâneos, para além do exame físico completo e análises sanguíneas, na determinação do diagnóstico e estadiamento da doença, deve ser realizada citologia dos linfonodos regionais (mesmo os de tamanho normal), ecografia abdominal e radiografia torácica (mesmo sabendo que os mastocitomas raramente metastizam para o pulmão) (Willmann et al., 2021). No estadiamento do animal em estudo, não se detetaram metástases abdominais, nem pulmonares pelos meios de diagnóstico imagiológicos realizados. Independentemente da aparência ecográfica do baço e fígado, devem ser realizadas punções aspirativas com agulha fina (PAAF) destes órgãos, devido à sensibilidade baixa e valor preditivo positivo baixo para detetação de metástases de mastocitoma nestes órgãos (Willmann et al., 2021). Relativamente à citologia, se forem observados eosinófilos próximos de células grandes redondas com grânulos citoplasmáticos, existe uma forte suspeita de mastocitoma (Garrett, 2014). No caso em estudo, não se realizaram PAAF dos linfonodos regionais nem órgãos, limitando a determinação da extensão da doença.

Em casos onde se observem alterações hematológicas e/ou envolvimento visceral, a investigação citológica da medula óssea está recomendada, pois havendo comprometimento, está associado um pior prognóstico e menor tempo de sobrevida (Willmann et al., 2021).

A avaliação histopatologia e imuno-histoquímica da lesão primária é determinante no diagnóstico definitivo (Willmann et al., 2021). Histopatologicamente, Patnaik et al. (1980) não verificaram diferenças entre mastocitomas cutâneos e mastocitomas intestinais, contrariamente a Ozaki et al. (2002) que identificaram diferenças na quantidade grânulos metacromáticos, sendo que nos mastocitomas intestinais foram quase inexistentes. Ozaki et al. (2002) descreveu ainda características semelhantes entre as células neoplásicas dos linfomas intestinais e as dos mastocitomas intestinais. De facto, a lesão intestinal do caso em estudo, numa primeira avaliação, foi classificada como um tumor maligno de células redondas compatível com linfoma de alto grau. Até à data, não foi estabelecida nenhuma classificação histopatológica para mastocitomas da mucosa, onde se inclui o mastocitoma intestinal (Willmann et al., 2021). No entanto, em relatos de mastocitomas intestinais, estes foram classificados como mastocitomas de grau intermédio ou de alto grau, com base na classificação para os mastocitomas cutâneos. Esta característica mostra uma prevalência de malignidade alta, com taxas de metastização elevadas e consequente mau prognóstico (Ozaki et al., 2002; Takahashi et al., 2000).

Uma vez que mastocitomas pouco diferenciados podem ser difíceis de diferenciar de outros tumores de células redondas (Grano et al., 2012), torna-se importante a imuno-marcação para a determinação do diagnóstico definitivo. O CD117 é uma proteína codificada pelo gene c-kit, sendo considerada um marcador imuno-histoquímico importante para a identificação de mastócitos (Da Costa et al., 2007; De Nardi et al., 2022; Preziosi et al., 2004). Através da imunomarcação com CD117, conseguiu-se chegar a um diagnóstico definitivo. Na imunohistoquímica do presente caso clínico não se observou imunomarcação para os anticorpos CD3 nem anticorpos PAX5, mas sim para o anticorpo CD117. Desta forma confirmou-se o diagnóstico de mastocitoma intestinal.

A determinação do padrão de expressão da proteína do c-KIT em mastocitomas cutâneos caninos, revela-se importante na determinação do prognóstico, sendo que o padrão citoplasmático difuso (padrão KIT 3) está associado a um pior prognóstico (De Nardi et al., 2022). No caso em estudo, a marcação com o anticorpo CD117 foi de padrão 3. Além disso, a detecção de mutações no c-Kit através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) revela-se interessante, pois a sua existência é um forte indicador de resposta terapêutica aos inibidores de tirosina quinases (TKI's) (Kiupel, 2017).

A pesquisa dos indicadores de proliferação celular (nomeadamente de Ki-67) poderiam auxiliar na determinação do prognóstico. Blackwood et al. (2012) consideram que o grau histológico é o sinal de prognóstico mais importante e que a proteína ki-67 está significativamente associada ao prognóstico e é independente do grau histológico. O índice mitótico, a proteína AgNOR e o antigénio proliferativo celular nuclear são outros marcadores de proliferação, em que quanto maior a sua expressão, pior é o prognóstico (Blackwood et al., 2012).

O tratamento de eleição vai sempre depender de vários fatores, como o estado geral do animal, o grau histológico do tumor e seu estadió clínico, sendo também importante avaliar a necessidade de implementação de terapia de suporte. Animais com mastocitomas cutâneos primários volumosos, com metástases e/ou sinais sistémicos podem beneficiar da administração de antagonistas dos recetores H1 e H2. Existe uma elevada probabilidade de libertação massiva de histamina após a desgranulação dos mastócitos e com o uso destes fármacos consegue-se minimizar esses efeitos secundários (Welle et al., 2008). Os canídeos também podem beneficiar do uso de glucocorticoides para diminuição do edema e inflamação peritumoral (Kiupel, 2017).

A excisão cirúrgica é o tratamento de escolha para mastocitomas cutâneos de baixo grau e grau intermédio (Blackwood et al., 2012). Nos de grau intermédio, uma pequena parte dos animais apresenta recidivas locais ou à distância, sendo que alguns autores defendem o uso de quimioterápicos como tratamento adjuvante à cirurgia (Blackwood et al., 2012). Nos de alto grau, para além da cirurgia, devido à sua elevada taxa de recidiva e extrema agressividade, é recomendado o uso de uma terapêutica multimodal (Blackwood et al., 2012; Welle et al., 2008).

Nos mastocitomas cutâneos, os quimioterápicos de primeira linha terapêutica são vinblastina e prednisona e como segunda linha a lomustina (Blackwood et al., 2012). Quanto aos mastocitomas intestinais, não existem informações consistentes sobre a eficácia do uso de agentes quimioterápicos. Numa descrição de 10 casos de cães com mastocitomas viscerais, em que usaram combinações quimioterápicas com sulfato de vinblastina e/ou ciclofosfamida juntamente com prednisolona, as respostas foram reduzidas ou inexistentes (Takahashi et al., 2000). Um outro caso de um cão com mastocitoma intestinal, com metastização esplénica e mutação c-kit, que foi tratado com imatinib, difenidramina e omeprazol, verificaram uma melhoria evidente dos sinais e uma diminuição do tamanho das massas, contudo ao fim de 44 dias o animal piorou clinicamente, com aumento do volume das massas, tendo acabado por falecer (Kobayashi et al., 2012).

No caso em estudo, o animal foi abordado em termos terapêuticos como se tratasse de mastocitoma cutâneo de alto grau, tendo sido proposto um tratamento multimodal.

Inicialmente foi removida a massa primária por enterectomia e posteriormente instituída terapêutica adjuvante com toceranib. A evolução rápida nos achados às ecografias de controle realizadas (linfonodos reativos de tamanhos diversos, massa mural adjacente à anastomose da parede intestinal e posterior aparecimento de uma massa no fígado) levaram à determinação presuntiva de uma recidiva local, de metastização ganglionar e envolvimento do fígado, tendo-se optado pela eutanásia. De forma a confirmar esta suspeita, poder-se-iam ter realizado PAAF da nova massa na zona de anastomose, bem como dos linfonodos alterados.

A maioria dos casos de mastocitoma intestinal descritos na bibliografia culminaram em eutanásia ou os animais morreram durante o processo (Al-Rukibat & Ismail, 2016; Grano et al., 2012; Patnaik & Marreta, 1980; Takahashi et al., 2000). A rápida progressão dos sinais clínicos, dificuldade no diagnóstico e elevada malignidade, contribuem para um curto tempo de sobrevivência dos animais (Munday et al., 2017). Takahashi et al. (2000) no seu estudo estimaram que a marcação de uma primeira consulta ocorre dois dias (mediana) após o aparecimento dos primeiros sinais clínicos e são necessários 24 dias (mediana) para a conclusão de um diagnóstico final. O tempo de sobrevivência revelou ser 16 dias (mediana) após o diagnóstico (Takahashi et al., 2000). A evolução do caso clínico aqui apresentado foi também bastante rápida, sendo que um mês e 24 dias após a cirurgia, com agravamento dos sinais clínicos e do estado geral do animal, culminou com a sua eutanásia. No entanto, o tempo de sobrevivência foi superado quando comparado com a mediana de outros estudos, tendo atingindo sete semanas e dois dias após o diagnóstico. No entanto, a realização de necrópsia teria sido importante para determinar a extensão da doença, bem como a sua evolução.

4. Conclusão

Atualmente existem poucos relatos de mastocitomas intestinais em cães, que podem dever-se à sua rara ocorrência ou ao facto de não serem reportados e descritos.

Fatores como apresentação clínica inespecífica, diagnóstico tardio, alta malignidade, progressão rápida e alta mortalidade, são características comuns aos animais afetados. A falta de conhecimento deste tipo de neoplasia pode contribuir para a sua não inclusão na lista de diagnósticos diferenciais de tumores do trato gastrointestinal em cães.

Com a descrição deste caso pretende-se contribuir para o conhecimento desta neoplasia no cão e salientar a necessidade do relato e exposição à comunidade científica de todos os casos de mastocitomas intestinais, a fim de melhorar as estratégias de diagnóstico precoce, tratamento e consequentemente prognóstico.

Referências Bibliográficas

- Al-Rukibat, R., & Ismail, Z. (2016). Intestinal mast cell tumour in a dog: Case report and review of current literature. *RESEARCH OPINIONS IN ANIMAL & VETERINARY SCIENCES*, 135–137.
- Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J. P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K., & Argyle, D. J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3). <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x>
- Boysen, S. (2014). Gastrointestinal hemorrhage. In D. Silverstein & K. Hopper (Eds.), *Small Animal Critical Care Medicine* (3rd ed., pp. 630–634). Elsevier.
- Carneiro, J., & Junqueira, L. (2008). *Histologia Básica - Texto & Atlas* (J. Carneiro & L. Junqueira, Eds.; 13th ed, pp 95-96). Guanabara koogan.
- Da Costa, R. M. G., Matos, E., Rema, A., Lopes, C., Pires, M. A., & Gärtner, F. (2007). CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: Correlations with pathological variables and proliferation markers. *BMC Veterinary Research*, 3. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-3-19>
- De Nardi, A. B., Dos Horta, R. S., Fonseca-Alves, C. E., De Paiva, F. N., Linhares, L. C. M., Firmo, B. F., Sueiro, F. A. R., De Oliveira, K. D., Lourenço, S. V., De Strefezzi, R. F., Brunner, C. H. M., Rangel, M. M. M., Jark, P. C., Castro, J. L. C., Ubukata, R., Batschinski, K., Sobral, R. A., Da Cruz, N. O., Nishiya, A. T., ... Dagli, M. L. Z. (2022). Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/cells11040618>
- Garrett, L. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 49. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s41005>
- Grano, F. G., Silva, J. E. S., Melo, G. D., Schweigert, A., Ciarlini, P. C., & Machado, G. F. (2012). Visceral Mast Cell Tumor and Mastocytomia in a Dog. In *Braz J Vet Pathol* (Vol. 5, Issue 3). www.bjvp.org.br
- Iwata, N., Ochiai, K., Kadosawa, T., Takiguchi, M., & Umemura, T. (2000). Canine extracutaneous mast-cell tumours consisting of connective tissue mast cells. *Journal of Comparative Pathology*, 123(4), 306–310. <https://doi.org/10.1053/jcpa.2000.0420>
- Kiupel, M. (2017). Mast Cell Tumors. In D. J. Meuten (Ed.), *Tumors in Domestic Animals* (5th ed., pp. 176–202). Wiley Blackwell.

482 Kiupel, M., & Camus, M. (2019). Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. In
 483 *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 49, Issue 5, pp. 819–836). W.B.
 484 Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.002>

485 Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S. D., Gamble,
 486 D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M. H., Hendrick, M. J., Howerth, E. W., Janovitz, E. B., Langohr, I., Lenz,
 487 S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., ... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier
 488 histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological
 489 behavior. *Veterinary Pathology*, 48(1), 147–155. <https://doi.org/10.1177/0300985810386469>

490 Kobayashi, M., Sugisaki, O., Ishii, N., Yamada, O., Ito, K., Kuroki, S., Sasaki, Y., Ono, K., Washizu, T.,
 491 & Bonkobara, M. (2012). Canine intestinal mast cell tumor with c-kit exon 8 mutation responsive to
 492 imatinib therapy. *Veterinary Journal*, 193(1), 264–267. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.10.027>

493 London, C. A., & Thamm, D. H. (2020). Mast Cell Tumors. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak
 494 (Eds.), *Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 382–403). Elsevier.

495 Munday, J., Löhr, C., & Kiupel, M. (2017). Tumors of the Alimentary Tract. In D. Meuten (Ed.), *Tumors*
 496 *in Domestic Animals* (5th ed., pp. 499–515). Wiley Blackwell.

497 O'keefe, D. A., Couto, G., Burke-Schwartz, C., & Jacobs, R. M. (1987). *Systemic Mastocytosis in 16*
 498 *Dogs*.

499 Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2002). Mast Cell Tumors of the Gastrointestinal
 500 Tract in 39 Dogs. In *iVet Pathol* (Vol. 39).

501 Patnaik, A. K., & Marretta, S. M. (1980). Intestinal mast cell tumour in a dog. In *J. small Anim. Pract*
 502 (Vol. 21).

503 Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic
 504 Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary Pathology*, 21(5), 469–474.
 505 <https://doi.org/10.1177/030098588402100503>

506 Preziosi, R., Morini, M., & Sarli, G. (2004). Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous
 507 mast cell tumors of the dog. In *J Vet Diagn Invest* (Vol. 16).

508 Souza, M., Torres, L., Rocha, N., Takahira, R., Mamprim, M., Burini, C., Bandarra, Ê., & Figueiredo, L.
 509 (2000). Peritoneal Effusion in a Dog Secondary to Visceral Mast Cell Tumor A Case Report. *Acta*
 510 *Cytologica*.

511 Takahashi, T., Kadosawa, T., Nagase, M., Matsunaga, S., Mochizuki, M., Nishimura, R., & Sasaki, N.
 512 (2000). Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982–1997). *JAVMA*, 216.

513 Tizard, I. R. (2017). Mast cell and Eosinophil- Mediated. In R. Tizard (Ed)., *Veterinary immunology* (10th
514 ed., pp. 964-975. Elsevier.

515 Valent, P., Akin, C., Hartmann, K., Nilsson, G., Reiter, A., Hermine, O., Sotlar, K., Sperr, W. R.,
516 Escribano, L., George, T. I., Kluin-Nelemans, H. C., Ustun, C., Triggiani, M., Brockow, K., Gotlib, J.,
517 Orfao, A., Kovanen, P. T., Hadzijusufovic, E., Sadovnik, I., ... Galli, S. J. (2020). Mast cells as a unique
518 hematopoietic lineage and cell system: From Paul Ehrlich's visions to precision medicine concepts. In
519 *Theranostics* (Vol. 10, Issue 23, pp. 10743–10768). Ivyspring International Publisher.
520 <https://doi.org/10.7150/thno.46719>

521 Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J., & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: A review of
522 the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, 19(6), 321–339.
523 <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x>

524 Willmann, M., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Marconato, L., Dacasto, M., Hadzijusufovic, E., Hermine, O.,
525 Sadovnik, I., Gamperl, S., Schneeweiss-Gleixner, M., Gleixner, K. V., Böhm, T., Peter, B., Eisenwort,
526 G., Moriggl, R., Li, Z., Jawhar, M., Sotlar, K., Jensen-Jarolim, E., Sexl, V., ... Valent, P. (2021). Proposed
527 Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. In
528 *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.755258>