



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Mastocitoma Canino: potenciais abordagens terapêuticas

Ana Carina Pereira da Silva

Coimbra, julho de 2019



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Mastocitoma Canino: potenciais abordagens terapêuticas

Coimbra, julho de 2019

Ana Carina Pereira da Silva

Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Prof.^a Dr.^a Ana Calado Lopes

Arguente: Prof.^a Dr.^a Felisbina Figueira

Orientador: Prof.^a Dr.^a Ana Catarina Figueira

Orientador Interno

Prof.^a Dr.^a Ana Catarina Figueira

Orientador Externo

Dr.^a Lurdes do Carmo

Clínica Veterinária Azeméis Vete, Lda.

“Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducentes ao
Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG.”

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais pelos sacrifícios que fizeram para que fosse possível realizar o meu sonho, por todas as palavras de apoio que me transmitiram força para lutar ao longo destes seis anos.

Agradeço à minha família sempre presente por acreditarem nas minhas capacidades desde o início desta longa caminhada.

Agradeço às minhas amigas, aquelas que estiveram sempre lá, nos melhores e piores momentos. Um bem-haja a todas aquelas longas noites de estudo, em que a paella e o chocolate eram o refúgio para as nossas angústias.

Agradeço à minha orientadora interna, Prof. Dra. Ana Catarina Figueira por ouvir as minhas dúvidas existenciais, pelo apoio e por toda a disponibilidade para que fosse possível a elaboração desta dissertação.

Agradeço a todos os Professores e Funcionários da EUVG que fizeram parte deste percurso, que me ajudam no dia-a-dia e contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço à minha orientadora externa, Dra. Lurdes do Carmo da Clínica Veterinária AzeméisVete, por ter acreditado nas minhas capacidades e me ter consentido o lugar como estagiária. Não esquecendo todo o corpo clínico da AzeméisVete, que me ajudou e integrou na equipa proporcionando um enriquecimento teórico e prático que vai ser útil no meu futuro como Médica Veterinária.

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte deste percurso, apoiando-me e felicitando-me pela minha força de lutar pelos meus objetivos.

Por fim, agradeço aos meus melhores amigos de quatro patas (Ninja, Napoleão, Tobias, Noah, Popei, Fani, Cooper, Tuxa, Silvestre, Faneco, Riscas, Princesa, Canela, Pica, Zorba e Zippy), que foram a minha maior motivação para lutar contra todas as adversidades que iam aparecendo pelo caminho.

Obrigada por tudo!

Índice geral

Índice de figuras	vii
Índice de tabelas.....	viii
Índice de abreviaturas, símbolos e siglas	ix
Resumo	2
1. Os Mastócitos e o Mastocitoma.....	4
2. Síndromes Paraneoplásicas.....	5
3. Diagnóstico.....	6
4. Metastização.....	7
5. Estadiamento Clínico	7
6. Grau Histológico.....	9
7. Prognóstico.....	10
7.1. Grau histológico	10
7.2. Localização.....	10
7.3. Raça e idade.....	11
7.4. Densidade intratumoral de microvasos	11
7.5. Expressão do recetor KIT e mutação do gene c-KIT	11
7.6. Marcadores de Proliferação Celular.....	11
7.6.1. Antígeno Nuclear de Proliferação Celular	12
7.6.2. Índice Mitótico.....	12
7.6.3. Proteína Ki-67.....	12
7.6.4. Proteínas AgNOR.....	12
7.7. Fatores de prognóstico mais recentes	13
7.7.1. Índice de colagénio intratumoral.....	13
7.7.2. Proteína de manutenção do minicromossoma 7.....	13
8. Abordagens terapêuticas para Mastocitoma cutâneo canino.....	14
8.1. Excisão cirúrgica	14
8.2. Radioterapia.....	15
8.2.1. Radioterapia combinada com fosfato de toceranib	15
8.3. Quimioterapia.....	15
8.3.1. Corticosteróides	16

8.3.2. Tratamentos Combinados.....	17
8.3.2.1. Protocolo de combinação de vinblastina com prednisona	17
8.3.2.2. Protocolo de combinação de vinblastina com clorambucil	18
8.3.2.3. Protocolo de combinação de lomustina com vinblastina e prednisona	18
8.3.2.4. Protocolo de combinação de lomustina com clorambucil	19
8.4. Inibidores de tirosina quinase	20
8.4.1. Mesilato de masitinib	20
8.4.2. Fosfato de toceranib	21
8.5. Outros tratamentos.....	23
8.5.1. Paclitaxel micelar solúvel em água	23
8.5.2. Eletroquimioterapia.....	23
8.5.3. Eletroquimioterapia combinada com eletrotransferência da interleucina-12.....	24
8.5.4. Terapia eletrogénica com interleucina-12.....	24
8.5.5. Terapia intratumoral com interleucina-2	24
8.5.6. Reovírus oncolítico	25
8.5.7. Janus quinase 2	25
9. Tratamento de acordo com grau e tipo de mastocitoma.....	25
9.1. Mastocitomas de grau I e alguns de grau II.....	25
9.2. Mastocitomas de grau II e grau III.....	26
9.3. Mastocitomas metastáticos ou recidivantes	26
10. Conclusão	28
11. Referências Bibliográficas	29

Índice de figuras

Figura 1 - Imagem citológica de MTCs cutâneos caninos.....	6
Figura 2 - Esquema dos critérios de seleção para a instituição do tratamento sistêmico adicional em cães com MTC cutâneo.....	16
Figura 3 - Esquema da abordagem ao MTC cutâneo e orientação da terapêutica a instituir.....	22
Figura 4 - Esquema resumo da abordagem terapêutica ao MTC cutâneo com metástases.....	27

Índice de tabelas

Tabela 1 - Sistema de estadiamento proposto pela Organização Mundial de Saúde para MTC.....	8
Tabela 2 - Classificação do grau histológico segundo <i>Patnaik</i>	9
Tabela 3 - Classificação do grau histológico segundo <i>Kiupel</i>	9
Tabela 4 - Protocolo de Quimioterapia para MTC canino segundo <i>Rassnik</i>	18
Tabela 5 - Síntese de protocolos de quimioterapia e respectivas toxicidades.....	20

Índice de abreviaturas, símbolos e siglas

AINE's - Anti-inflamatório não esteróide
ATP - Adenosina trifosfato
cm³ - centímetro cúbico
CCNV - 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosureia (lomustina)
Cel - Células
CID - Coagulação intravascular disseminada
COX-1 - Cicloxigenase-1
DNA - Ácido desoxirribonucleico
ECM - Matriz extracelular
EGT - Terapia eletrogénica
ETC - Eletroquimioterapia
EV - Endovenoso
FDA - *Food and Drugs Administration*
GAG's - Glicosaminoglicanos
IFN- γ - Interferão- γ
IL-2 - Interleucina-2
IL-12 - Interleucina-12
IM - Índice mitótico
IMVD - Densidade intratumoral de microvasos
IV - Intravenoso
JAK2 - Janus quinase 2
Kg - Quilograma
m² - Metro quadrado
MCM7 - Minicromossoma 7
mg - Miligrama(s)
MMPs - Metaloproteínas de matriz
MT - Mastócitos
MTC - Mastocitoma(s)
OMS - Organização Mundial de Saúde
PCAN – Antígeno nuclear de proliferação celular
PCR - Reação em cadeia da polimerase
PDGFR - Recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas
PO - Via oral "Per os"
RNA - Ácido ribonucleico
RTK's - Recetores de tirosina quinase
SID - Uma vez por dia
STAT5 - Ativador da transcrição 5
TKI's - Inibidores de tirosina quinase

VBL - Vinblastina

VEGFR - Recetor do factor de crescimento endotelial vascular

% - Percentagem

μ L - Microlitro

< - Menor

\geq - Maior ou igual

Mastocitoma canino: potenciais abordagens terapêuticas

Ana Silva ^a, Lurdes do Carmo ^b, Ana Catarina Figueira ^{a, c}

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário – Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (anac.dasilva@outlook.pt)

^b Clínica Veterinária AzeméisVete, Rua Ator Alfredo Ferreira da Silva, Lugar de Passos, 3720-318, Oliveira de Azeméis, Portugal (azemeisvete@gmail.com)

^c Hospital Veterinário Universitário de Coimbra, Avenida José R. Sousa Fernandes 197, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (acfigueira@gmail.com)

Resumo

O Mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas mais comuns em clínica de pequenos animais, representando cerca de 16 a 21% dos tumores cutâneos caninos.

O diagnóstico é feito maioritariamente por citologia e/ou histopatologia, com o objetivo de chegar ao diagnóstico definitivo e estadiamento clínico/grau histológico, sendo que, em animais com mastocitomas de alto grau serão necessários exames complementares.

Apesar de existirem várias opções de tratamento para o mastocitoma canino, as escolhas mais frequentemente implementadas são a cirurgia, a radioterapia e/ou a quimioterapia. Para além destas, ainda existem outras sugestões como a terapia com interleucinas, a eletroquimioterapia, a terapia com vírus, entre outras.

Este artigo de revisão permite facilitar a escolha da terapêutica a implementar de acordo com o grau histológico e o tipo de mastocitoma. Os mastocitomas de grau I e alguns de grau II que não apresentam evidências de metástases, a terapêutica de eleição é a excisão cirúrgica. Mastocitomas de grau II e grau III que apresentam elevada probabilidade de metastização, a cirurgia por si só raramente é curativa, e necessitam de terapia adjuvante com quimioterapia ou radioterapia. Nos mastocitomas que já apresentam metástases ou são recidivantes o tratamento será sempre paliativo, que pode passar desde a cirurgia e/ou incluir protocolos de combinação de quimioterapia.

Palavras-chave: Cão; Mastocitoma; Oncologia; Tratamento.

Abstract

Mastocytoma is one of the most common cutaneous neoplasms in small animal clinics, accounting for about 16 to 21% of canine cutaneous cancers.

The diagnosis is made mostly by cytology and/or histopathology, with the objective of reaching definitive diagnosis and clinical staging / histological grade, and in animals with high grade mastocytomas will require complementary tests.

Although there are several treatment options for canine mastocytoma, the most often implemented choices are surgery, radiotherapy and/or chemotherapy. In addition to these, there are other suggestions such as therapy with interleukins, electrochemotherapy, virus therapy, among others.

This review article allows facilitating the choice of the therapy to be implemented according to the histological grade and type of mastocytoma. Grade I mastocytomas and some grade II mastocytomas that show no evidence of metastasis, the treatment of choice is surgical excision. Grade II and III mastocytomas with a high probability of metastasis, surgery alone are rarely curative, and require adjuvant therapy with chemotherapy or radiation therapy. In mastocytomas that already have metastases or are recurrent the treatment will always be palliative, which may be passed from surgery and/or include combination chemotherapy protocols.

Keywords: Dog; Mastocytoma; Oncology; Treatment.

1. Os Mastócitos e o Mastocitoma

Os mastócitos (MT) são células do tecido conjuntivo, grandes, ovóides, com núcleo esférico e central. Têm origem em células precursoras hematopoiéticas da medula óssea e circulam na corrente sanguínea na forma inativa, até se diferenciarem no tecido conjuntivo e mucosas (Lin & London, 2006; Palma et al., 2009). Esta diferenciação depende do fator de crescimento derivado dos fibroblastos e de interleucinas produzidas pelos linfócitos T (Lin & London, 2006). Encontram-se em todos os tecidos do organismo, principalmente na pele, trato respiratório, trato gastrointestinal, baço, fígado e gânglios linfáticos (Palma et al., 2009), participando em vários processos biológicos, como na cicatrização de feridas, na imunidade inata e na atividade antiparasitária (London & Thamm, 2013).

Os mastócitos maduros apresentam grânulos citoplasmáticos que contêm substâncias bioativas, como a histamina, heparina, leucotrienos, entre outros (Palma et al., 2009). Quando ocorre a desgranulação dos MT há liberação desses grânulos que desencadeiam uma resposta imunológica e inflamatória (Misdorp, 2004).

O Mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas mais comuns em clínica de pequenos animais, representando cerca de 16 a 21% dos tumores cutâneos caninos (Blackwood et al., 2012; Scarpa, Sabattini, & Bettini, 2014). O MTC cutâneo tem origem em mastócitos da derme e tecidos subcutâneos, podendo localizar-se em qualquer região anatômica, sendo as áreas mais afetadas os membros, tronco, região perineal e prepúcio (Blackwood et al., 2012; Misdorp, 2004).

O MTC cutâneo apresenta-se geralmente como lesões solitárias, embora também estejam descritos MTC múltiplos (Blackwood et al., 2012; Kiupel, 2017).

É uma neoplasia cutânea que afeta cães idosos (idade média nove anos), embora sejam relatados casos em todas as idades, sendo as raças com maior predisposição os *Pugs*, *Shar pei*, *Staffordshire bull terriers*, *Labradores retrievers*, *Boston terrier*, *Golden retrievers*, *Beagles*, *Weimeraners* e *Boxers* (Dobson, 2013; Miller et al., 2016).

Os sinais clínicos sugestivos de um comportamento agressivo dos MTCs são o crescimento rápido, inflamação e infiltração local, limites mal definidos, ulceração, gânglios linfáticos alterados e a presença de síndromes paraneoplásicas (Blackwood et al., 2012; Kiupel, 2017). Os MTCs que permanecem localizados sem sinais de crescimento, nem alterações significativas geralmente têm um comportamento benigno (Blackwood et al., 2012).

A etiologia desta neoplasia é ainda desconhecida, mas acredita-se que tenha um carácter multifatorial (J. M. Dobson & Scase, 2007; Shoop et al., 2015). Alguns estudos referem uma mutação no recetor KIT, que se encontra expresso na superfície dos MT, como tendo um papel fundamental na sua etiologia. Este recetor do tipo tirosina cinase é responsável pela regulação da sinalização intracelular de várias vias que controlam a sobrevivência, proliferação, migração, maturação, desgranulação, quimiotaxia e apoptose dos MT (Costa Casagrande et al., 2013; J. M. Dobson & Scase, 2007). O recetor KIT é codificado pelo gene c-KIT e este, quando mutado, juntamente com as diferentes expressões da proteína KIT, correlacionam-se com MTC agressivos e com um pior prognóstico (Costa Casagrande et al., 2013; London & Thamm, 2013).

2. Síndromes Paraneoplásicas

A desgranulação dos MT e a libertação de heparina, histamina e outras amins bioativas estão associadas ao aparecimento de uma série de sinais clínicos, quer locais quer sistémicos (Blackwood et al., 2012; Dobson & Scase, 2007; Cheryl A London, 2008). A manipulação do tumor durante o exame físico deve ser cuidadosa para evitar a desgranulação dos mastócitos e, consequentemente, o aparecimento de inflamação local com eritema, rubor e edema que levam à formação de uma pápula denominada como Sinal de *Darier* (Blackwood et al., 2012; London, 2008; Kiupel, 2017).

Um dos sinais clínicos frequentemente observados em pacientes com MTCs é melena, por ulceração gastrointestinal, associada aos elevados níveis de histamina que levam à estimulação dos recetores H₂ nas células parietais, com consequente produção excessiva de ácido gástrico e hiperomotilidade gástrica, levando ao desenvolvimento de úlceras (Blackwood et al., 2012; Cheryl A London, 2008). Os elevados níveis de histamina encontram-se relacionados com sinais clínicos como vómitos, anorexia, dor abdominal e peritonite. Em casos mais complicados, pode ocorrer a libertação massiva de histamina pelas células neoplásicas podendo levar a um quadro anafilático agudo e os animais desenvolverem coagulação intravascular disseminada (CID) (Blackwood et al., 2012; J. M. Dobson & Scase, 2007).

O atraso na cicatrização e a hemorragia local são outros sinais clínicos associados aos níveis elevados de heparina e outras amins bioativas, que quando se ligam aos recetores H₁ e H₂ podem levar à supressão do factor de crescimento dos fibroblastos (Blackwood et al., 2012; Dobson & Scase, 2007).

3. Diagnóstico

A citologia é uma das técnicas de eleição na recolha de material biológico para diagnóstico, por ser uma técnica fácil de executar e de baixo custo. No entanto, a biópsia é importante para determinar o grau histológico e, conseqüentemente, o prognóstico (Agnoli et al., 2018; Scarpa et al., 2014; Sledge et al., 2016).

Os MTCs são tumores de células redondas que apresentam grânulos citoplasmáticos basófilos muito característicos, evidenciados por diferentes corantes (Figura 1-A). Embora o melhor método de coloração seja o azul de toluidina, os corantes derivados de *Romanowsky* são métodos mais rápidos e fáceis de executar (Agnoli et al., 2018; Blackwood et al., 2012).

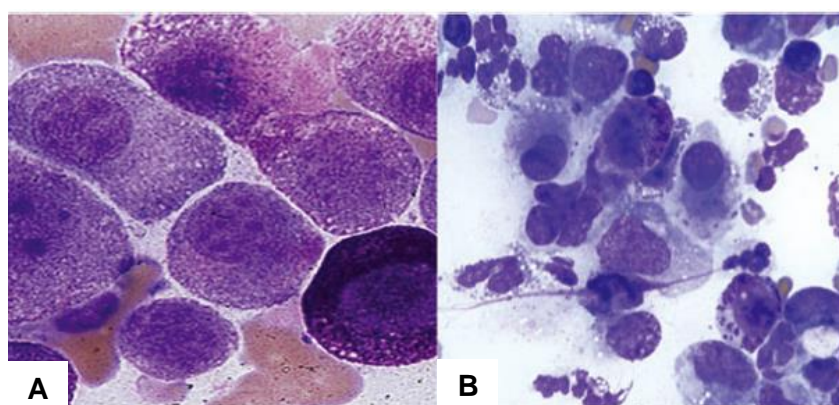


Figura 1 – Imagem citológica de MTCs cutâneos caninos. (A) Representa uma citologia típica de MTC com os grânulos intracitoplasmáticos com coloração metacromática. Coloração especial para identificar os grânulos (azul de toluidina, pinacyanol, coloração de Wright ou Wright-Giemsa). (B) MTC pouco diferenciado não apresentando os grânulos característicos (Blackwood et al., 2012).

Em mastocitomas pouco diferenciados, os grânulos apresentam menores concentrações de heparina e outros glicosaminoglicanos (GAGs) o que leva a uma ausência de coloração (Figura 1-B). Esta ausência de grânulos está muitas vezes associada a MTCs de alto grau (Agnoli et al., 2018; Blackwood et al., 2012).

Embora a baixa concentração de grânulos seja uma limitação na identificação dos MT, a presença massiva de grânulos pode também limitar a identificação de tumores de alto grau, por mascarar as características típicas dos MT, nomeadamente a existência de várias figuras mitóticas, células bi ou trinucleadas e anisocariose (Agnoli et al., 2018).

4. Metastização

O processo de metastização está presente em 25% dos MTCs. Sabe-se que existe uma associação entre a presença de metástases e a ausência de mutação do gene c- KIT (Blacklock et al., 2018).

Os locais com maior percentagem de metastização são os gânglios linfáticos, baço, fígado e, raramente, o pulmão. Assim, além da citologia da neoplasia primária para diagnóstico, a palpação e punção dos gânglios linfáticos regionais, do baço e do fígado desempenham um papel fundamental na determinação da extensão da doença, na determinação da terapêutica e do prognóstico (Agnoli et al., 2018; Kiupel et al., 2011; Warland et al., 2014).

5. Estadiamento Clínico

Após a confirmação do diagnóstico de MTC, o estadiamento clínico deve ser realizado para determinar a extensão e disseminação da doença, sendo uma peça fundamental na determinação do prognóstico (Blackwood et al., 2012; Kiupel, 2017).

Devido ao elevado potencial metastático de alguns MTCs cutâneos para os gânglios linfáticos, fígado e baço é recomendada a realização da citologia dos gânglios linfáticos, ecografia abdominal e análises sanguíneas (Blackwood et al., 2012; Garrett, 2014; Warland et al., 2012). A avaliação citológica dos gânglios linfáticos deve ser sempre realizada em todos os casos de MTCs cutâneos independentemente do grau (Sledge et al., 2016).

Nos animais que apresentem metástases dos gânglios linfáticos deve ser realizada uma avaliação mais completa, que inclua ecografia abdominal com punção aspirativa de baço e fígado e ainda radiografias torácicas (Blackwood et al., 2012; Warland et al., 2012). Sempre que o gânglio linfático apresente metástases ou suspeita de infiltração de MT que traduza possível doença metastásica é recomendado a sua remoção cirúrgica juntamente com o tumor (Kiupel, 2017).

Apesar da elevada expressão de MT nos pulmões, a presença de metástases neste órgão em MTCs é rara (Garrett, 2014; Warland et al., 2012).

É recomendado ainda a realização da reação em cadeia da polimerase (PCR) para a deteção de mutações no c-KIT, tanto no MTC cutâneo primário como nas metástases dos gânglios linfáticos, em pacientes em que se pretenda iniciar a terapêutica com inibidores de tirosina quinases (TKI's), uma vez que é um indicador de resposta à terapêutica (Kiupel, 2017).

O principal sistema de estadiamento do MTC canino aceite é o da Organização Mundial de Saúde (OMS) e que está representado na tabela 1:

Tabela 1 – Sistema de estadiamento proposto pela Organização Mundial de Saúde para MTC (Owen, 1980, citado por Dobson & Scase, 2007 e Kiupel, 2017).

Estadio	Descrição
I	Tumor único confinado à derme, sem envolvimento do gânglio linfático regional a) Sem sinais sistêmicos b) Com sinais sistêmicos
II	Tumor único confinado à derme, com envolvimento do gânglio linfático regional a) Sem sinais sistêmicos b) Com sinais sistêmicos
III	Múltiplos tumores dérmicos; Tumores infiltrativos de grandes dimensões, com ou sem envolvimento do gânglio linfático regional a) Sem sinais sistêmicos b) Com sinais sistêmicos
IV	Qualquer tumor com metástases à distância ou recorrente com metástases

Apesar deste sistema ser aceite pela OMS, a atribuição de um pior prognóstico a animais que apresentem MTCs múltiplos (estadio III), comparativamente, por exemplo, a animais que apresentem apenas um tumor solitário com o mesmo grau não é consensual (Dobson & Scase, 2007). Vários estudos já reconhecem que a presença de vários MTCs não indica pior prognóstico quando comparado apenas com um MTC do mesmo grau (Dobson & Scase, 2007; Sledge et al., 2016).

Alguns estudos indicam ainda a punção de medula óssea para o estadiamento do MTC (Garrett, 2014).

6. Grau Histológico

Embora existam vários sistemas de classificação do grau histológico, os mais usados são os sistemas de *Patnaik* e o de *Kiupel*, sendo este último o mais recente (Camus et al., 2016). O Sistema de *Patnaik* encontra-se dividido em três graus histológicos e a classificação baseia-se na celularidade, morfologia celular, índice mitótico, extensão do envolvimento tecidual e reação do estroma (Tabela 2) (Patnaik et al., 1984). O Sistema de *Kiupel* classifica em apenas dois graus, grau baixo ou grau alto, de acordo com o número de figuras mitóticas, com a cariomegalia, o número e a forma dos núcleos (Tabela 3) (Kiupel et al., 2011).

Tabela 2 – Classificação do grau histológico segundo *Patnaik* (*Patnaik et al.*, 1984).

<i>Patnaik et al.</i> , 1984	
Grau I	Mastócitos bem diferenciados; dispostos em grupos
Grau II	Mastócitos ligeiramente pleomórficos; moderada invasão tecidual; raras células binucleadas; possíveis núcleos visíveis; raras mitoses; possível edema e necrose
Grau III	Mastócitos pleomórficos dispostos em tapetes; elevada invasão tecidual; células multinucleadas; mitoses frequentes; células com um ou mais nucléolos; edema, hemorragia e necrose frequentes

Tabela 3 – Classificação do grau histológico segundo *Kiupel* (*Kiupel et al.*, 2011).

<i>Kiupel et al.</i> , 2011	
Grau baixo	< 7 figuras de mitose; < 3 células multinucleadas; < 3 núcleos bizarros; presença de cariomegalia
Grau Alto	≥ 7 figuras de mitose; ≥3 células multinucleadas; ≥3 núcleos bizarros; presença de cariomegalia

7. Prognóstico

O MTC apresenta uma grande variabilidade no comportamento biológico e na resposta ao tratamento, o que dificulta a determinação do prognóstico. Nenhum fator por si só pode ser considerado determinante de prognóstico, no entanto, o grau histológico tem um papel de elevada importância, juntamente com os fatores abaixo referidos (Blackwood et al., 2012; Torres Neto, Maria Terra, dos Santos Costa Poggiani, Tinucci Costa, & Laufer Amorim, 2012).

Alguns indicadores de prognóstico estudados são: localização do tumor, raça e idade do animal, densidade intratumoral de microvasos, expressão insuficiente da proteína KIT e mutação do gene que a codifica e os marcadores de proliferação celular (Torres Neto et al., 2012).

Existem parâmetros de prognósticos que podem ser úteis para identificar MTCs cutâneos de baixo grau com comportamento biológico agressivo, importantes para a decisão terapêutica. Estes parâmetros são a presença de mutação no gene c-KIT, a expressão da proteína Ki-67 e valores de AgNOR (Kiupel, 2017).

7.1. Grau histológico

Segundo *Patnaik*, os MTCs classificados como grau I são neoplasias bem diferenciadas, com excelente prognóstico e a terapêutica envolve apenas a excisão cirúrgica da neoplasia e avaliação das respectivas margens. Os MTCs classificados como grau III são neoplasias pouco diferenciadas, muito agressivas e invasivas, sendo a terapêutica a excisão da neoplasia juntamente com terapia adjuvante (Patnaik et al., 1984; Scarpa et al., 2014)

De acordo com *Kiupel* os MTCs classificados de grau alto apresentam uma evolução clínica rápida quanto ao aparecimento de metástases ou de novas massas, e apresentam uma esperança média de vida muito curta (4 meses aproximadamente). Os MTCs classificados de grau baixo apresentam melhor prognóstico, com uma esperança média de vida de aproximadamente 2 anos (Kiupel et al., 2011). Devido a alguma discordância dos patologistas em relação ao Sistema de *Patnaik*, considera-se que o sistema de *Kiupel* é mais objetivo, sendo assim atualmente o mais usado (Kiupel et al., 2011; Torres Neto et al., 2012).

A determinação do prognóstico não depende apenas do grau histológico, devendo-se combinar com o estadiamento clínico, com marcadores de MTCs (exemplos: CD25, recetor IL-2, mutações c-kit, entre outros) e interpretar os resultados juntamente com os achados clínicos (Camus et al., 2016; Sledge et al., 2016).

7.2. Localização

Os MTCs cutâneos localizados na mucosa oral, junção mucocutânea perioral, face, região escrotal e prepucial apresentam um comportamento biológico mais agressivo, com pior prognóstico e com maior risco de metástases nos gânglios linfáticos regionais (Garrett, 2014).

Os MTCs subcutâneos são geralmente menos agressivos e com melhor prognóstico do que os cutâneos, que tendem a ter comportamento maligno (Kiupel, 2017).

7.3. Raça e idade

Os Boxers e Pugs apresentam MTCs biologicamente menos agressivos e múltiplos, enquanto os Shar pei tendem a desenvolver MTCs muito agressivos e normalmente em idades jovens (Kiupel, 2017). Embora esta neoplasia cutânea afete animais idosos, cães de qualquer idade podem ser afetados (Dobson, 2013; Miller et al., 2016).

7.4. Densidade intratumoral de microvasos

Acredita-se que a presença intratumoral de microvasos é uma condição necessária para o crescimento, disseminação e metastização de células tumorais. Assim, a angiogênese permite um aporte mais significativo de nutrientes e oxigênio às células neoplásicas, favorecendo todo o processo neoplásico (Preziosi et al, 2004).

A densidade intratumoral de microvasos (IMVD) é significativamente maior em tumores de alto grau, comparativamente a tumores de baixo grau, o que pode ser explicado pelo aumento da atividade angiogénica desses tumores (Torres Neto et al., 2012).

7.5. Expressão do recetor KIT e mutação do gene c-KIT

O recetor KIT é responsável pela regulação da sinalização intracelular de várias vias que controlam a sobrevivência, proliferação, migração, maturação, desgranulação, quimiotaxia e apoptose dos MT (Costa Casagrande et al., 2013; J. M. Dobson & Scase, 2007).

A presença de mutações no gene c-KIT e/ou a expressão aberrante do recetor KIT dos MT, leva a uma diminuição da taxa de sobrevivência, maior risco de metástases, de recidivas locais e maior índice de proliferação tumoral, resultando num mau prognóstico (Blackwood et al., 2012; Kiupel, 2017).

A presença da mutação no exão 11 do gene c-KIT é um forte indicador da terapêutica a implementar, uma vez que animais que a possuem respondem melhor à terapia com inibidores da tirosina quinase (Kiupel, 2017).

7.6. Marcadores de Proliferação Celular

Têm sido estudados marcadores de proliferação com o objetivo de obter um prognóstico mais fiável, nomeadamente, o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), o índice mitótico (IM), a proteína Ki-67 e as proteínas AgNOR, uma vez que os fatores descritos anteriormente não são, por si só, capazes de prever o comportamento biológico do MTC (Garrett, 2014).

7.6.1. Antígeno Nuclear de Proliferação Celular

O Antígeno Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) é uma proteína necessária para a síntese de DNA e é um marcador da fase do ciclo celular em que as células se encontram (Kiupel, 2017). Estudos referem ser um bom indicador de prognóstico para MTC quanto à taxa de sobrevivência e recidivas, uma vez que o PCNA apresenta valores elevados em tumores recorrentes e metastáticos (Webster et al., 2007).

7.6.2. Índice Mitótico

O Índice Mitótico (IM) consiste na determinação do número de mitoses presentes por cada 10 campos óticos numa ampliação de 400x. Se existirem mais de cinco mitoses por 10 campos é um indicador de baixa taxa de sobrevivência independentemente do grau do tumor (Blackwood et al., 2012; Garrett, 2014).

7.6.3. Proteína Ki-67

A proteína Ki-67 está presente durante as fases ativas do ciclo celular, pelo que os níveis desta proteína no núcleo da célula estão associados à proliferação celular (Vascellari et al., 2012; Webster et al., 2007). A elevada expressão desta proteína está significativamente associada ao aumento da mortalidade e da probabilidade de metastização e recidivas, independentemente do grau do tumor (Blackwood et al., 2012).

7.6.4. Proteínas AgNOR

As proteínas AgNOR são regiões organizadas nucleolares que apresentam um elevado valor prognóstico do comportamento biológico dos MTCs, uma vez que permitem estimar a velocidade de progressão do ciclo celular (Blackwood et al., 2012; Kiupel, 2017).

A fração de crescimento das neoplasias pode ser determinada a partir da contagem de AgNOR e Ki-67, delineando o índice de proliferação celular (Cohen et al., 2015).

Em MTCs cutâneos de baixo grau e com margens incompletamente extirpadas, o índice de proliferação celular é de elevada importância, possibilitando determinar o risco de recidivas. Quando o índice é superior a 54 existem maiores riscos de mortalidade e de metastização, quando ultrapassa esse valor e não está presente nenhuma mutação no exão 11, sugere uma resposta favorável à terapêutica combinada com prednisona e vinblastina, do que com os inibidores da tirosina quinase (Kiupel, 2017).

7.7. Fatores de prognóstico mais recentes

De forma a compreender melhor o comportamento biológico do MTC canino, têm sido desenvolvidos estudos sobre possíveis marcadores preditivos de prognóstico, nomeadamente a determinação do índice de colagénio intratumoral (Daniel et al., 2019) e a proteína de manutenção do minicromossoma 7 (Berlato et al., 2018).

7.7.1. Índice de colagénio intratumoral

A integridade da matriz extracelular (ECM) pode desempenhar uma função protetora contra a progressão tumoral. Por outro lado, a degradação desta ECM pode libertar fatores que estimulem a proliferação e migração celular, a angiogénese e a inibição da apoptose. Para além disto, a presença das metaloproteínas de matriz (MMPs) facilita a invasão e metastização, através da degradação do epitélio e membranas basais dos vasos sanguíneos (Daniel et al., 2019).

Estudos sugerem que o índice de colagénio da ECM apresenta um grande potencial de prevenção de doença metastásica. O grau histológico do MTC apresenta uma relação significativa com o índice de colagénio, ou seja, os MTCs cutâneos de alto grau apresentam menor quantidade de colagénio intratumoral, e os cães com o índice de colagénio intratumoral baixo apresentam menor taxa de sobrevivência quando comparados com cães que apresentam elevados índices de colagénio intratumoral (Daniel et al., 2019).

7.7.2. Proteína de manutenção do minicromossoma 7

Recentemente a proteína de manutenção do minicromossoma 7 (MCM7) foi referida como um novo marcador de proliferação celular em MTCs de grau II, com uma associação significativa com o prognóstico do MTC cutâneo em cães, independentemente do grau histológico (Berlato et al., 2018). Sabe-se que a combinação do valor de IM, do Ki-67 e do MCM7 apresentam melhor previsão do prognóstico e da taxa de sobrevivência para MTC cutâneo de grau II quando comparado com cada fator em individual (Berlato et al., 2018).

8. Abordagens terapêuticas para Mastocitoma cutâneo canino

O comportamento biológico do MTC cutâneo é muito variável, o que torna necessário um estudo integrado dos resultados obtidos nos exames complementares de diagnóstico, de forma a permitir a escolha da terapêutica mais adequada para cada paciente oncológico (Sledge et al., 2016).

O tratamento de escolha é a excisão cirúrgica para remoção do tumor com amplas margens, ou na tentativa citoreduzora do mesmo. Pode ser ainda combinada ou não com outros tipos de tratamento, como a radioterapia e quimioterapia (Dank, 2016; Fulcher et al., 2006). Ainda assim, estão descritos como possíveis terapêuticas a implementar nestes casos a imunoterapia, eletroquimioterapia, entre outros (Henry et al., 2007; Kodre et al., 2009).

8.1. Excisão cirúrgica

A excisão cirúrgica é o tratamento de eleição para MTCs cutâneos localizados e sem metastização (Blackwood et al., 2012; Carlsten et al., 2012; Dank, 2016). Em MTCs cutâneos de grau I e alguns de grau II, se for possível a excisão cirúrgica completa com margens limpas e não existir evidência de metástases, não será necessário instituir outra terapêutica, sendo a excisão cirúrgica curativa por si só (Dank, 2016).

Atualmente, as recomendações cirúrgicas são de excisão com margens de cerca de 2 cm em redor da massa e de pelo menos um plano fascial na margem mais profunda, nos MTCs cutâneos de grau I e alguns de grau II (Dank, 2016; Garrett, 2014). Se o tumor for de grau III, deve remover-se pelo menos 3 cm em redor da massa e um plano fascial mais profundo (Dank, 2016).

Com o objetivo de evitar a excessiva remoção de margens com tecido saudável, Pratschke et al sugeriu um sistema de determinação de margens proporcionais ao diâmetro do MTC a excisar, ou seja, remoção de margens laterais equivalentes ao maior diâmetro do tumor e de, pelo menos, um plano fascial bem definido na margem mais profunda (Pratschke et al., 2013). Este método apresentou resultados satisfatórios na excisão completa do tumor e é vantajoso em MTCs cutâneos localizados em regiões com pouco tecido disponível para excisão com margens amplas e também em MTCs múltiplos primários (Pratschke et al., 2013).

Nos casos em que a primeira cirurgia não permite a remoção completa das margens do tumor, será aconselhada uma nova excisão cirúrgica com uma abordagem mais ampla, associada ou não com outra terapêutica adjuvante (Dank, 2016).

Sempre que o gânglio linfático apresentar metástases ou evidências das mesmas, deve-se removê-lo juntamente com o tumor e muitas vezes associar radioterapia (Kiupel, 2017).

A manipulação do MTC cutâneo durante a cirurgia pode levar à desgranulação dos MT e, conseqüentemente, causar hiperhistaminémia, o que desencadeia o aumento espontâneo do tamanho do tumor, hemorragias locais e hipotensão, pelo que está recomendado a administração de bloqueadores dos recetores de histamina H₁ e/ou H₂ antes da cirurgia. Geralmente utiliza-se a famotidina como bloqueador H₂ (0,5 mg/Kg uma vez por dia) para prevenir e/ou tratar úlceras gástricas e/ou a

difenidramina como bloqueador H₁ (2 mg/kg três vezes ao dia) para prevenir reações alérgicas sistêmicas e evitar choques anafiláticos (Garrett, 2014).

8.2. Radioterapia

A terapia com radiação aplica-se a MTCs que foram extirpados de forma incompleta e/ou situações em que a segunda cirurgia não é possível, com o objetivo de manter o tumor localmente controlado (Blackwood et al., 2018; Dank, 2016; Garrett, 2014).

A radioterapia utilizada como terapia única deve ser evitada devido ao risco de desgranulação dos MT induzida pela radiação. Além disso, tumores de grandes dimensões apresentam radioresistência, pelo que a cirurgia citoredutora deve ser realizada previamente (Blackwood et al., 2018; Dank, 2016). Assim, a radioterapia com radiação fracionada, quando usada como terapia adjuvante, é mais eficaz no controle de MTCs que foram removidos de forma incompleta e/ou em controlar metástases locais ou regionais (Dank, 2016; Garrett, 2014).

8.2.1. Radioterapia combinada com fosfato de toceranib

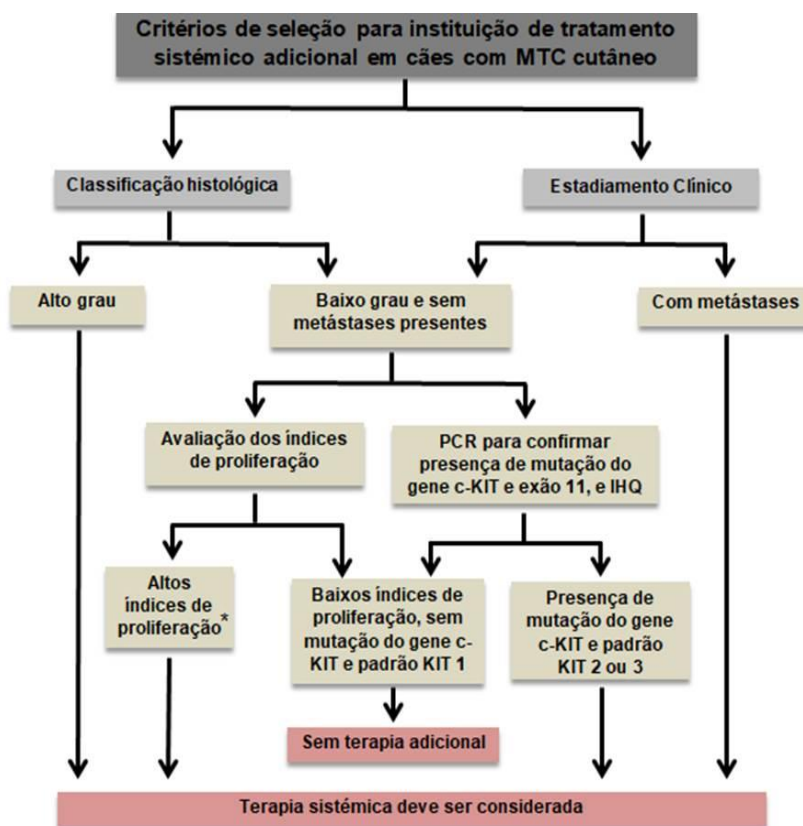
A radiação pode ser benéfica em MTCs de grandes dimensões em que a cirurgia não é possível, quando usada em doses semanais com grandes frações de radiação (24 Gray) e associada a fosfato de toceranib na dose de 2,75 mg/kg PO três vezes por semana (Carlsten et al., 2012).

8.3. Quimioterapia

A quimioterapia sistêmica pode ter aplicação em várias situações, nomeadamente como terapêutica adjuvante em cães com tumores metastizados ou com alto risco de metastizar, em pacientes em que a excisão cirúrgica é incompleta ou mesmo impossível devido à localização, tamanho ou extensão da lesão e em MTCs cutâneos de alto grau (Dank, 2016; Kiupel, 2017; Pratschke et al., 2013).

A quimioterapia pode ser instituída antes da excisão cirúrgica ou da radioterapia em MTCs de alto grau, uma vez que atrasa e/ou impede a sua disseminação, diminuindo as dimensões do MTC primário, aumentando assim a probabilidade de se alcançar a excisão cirúrgica completa (Dank, 2016; Kiupel, 2017).

A figura 2 aborda, de um modo esquemático, os critérios de seleção para a instituição de tratamento sistêmico adicional em cães com MTC cutâneo:



*Altos índices de proliferação – pontuação alta na combinação dos valores de AgNOR e Ki-67

Figura 2 – Esquema dos critérios de seleção para a instituição de tratamento sistêmico adicional em cães com MTC cutâneo (adaptado de Sledge et al., 2016).

8.3.1. Corticosteróides

Foram identificados recetores de glucocorticóides no citosol dos MT neoplásicos caninos. Estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que os corticosteróides induzem a inibição da proliferação de células tumorais e aumentam a sua apoptose. Além disso, o uso de corticosteróides em cães pode ser benéfico por causarem diminuição dos níveis peritumorais de inflamação e edema (Kiupel, 2017).

Protocolos de tratamento com apenas um agente, como a prednisona, geralmente são usados em MTCs de grandes dimensões antes da cirurgia para redução do tamanho do tumor, nas doses de 0,5 a 2,0 mg/kg de prednisona a cada 24 horas (Garrett, 2014; Stanclift & Gilson, 2008).

8.3.2. Tratamentos Combinados

Os protocolos com a combinação de vinblastina e prednisona são terapia de primeira linha, seguido de lomustina como terapia de segunda linha. A combinação de lomustina com vinblastina, também é utilizada principalmente em casos de MTCs sem mutação no gene KIT (Kiupel, 2017).

A combinação de agentes quimioterápicos num protocolo apresenta maior eficácia no tratamento do MTC, no entanto, devido à elevada toxicidade destes agentes, também apresentam desvantagens como mielossupressão, irritação perivascular e hepatotoxicidade (Kiupel, 2017).

8.3.2.1. Protocolo de combinação de vinblastina com prednisona

A vinblastina (VBL) é um agente quimioterápico conhecido pela sua atividade terapêutica em MTCs em cães. O seu mecanismo de ação consiste na diminuição da dinâmica e montagem dos microtúbulos, resultando na interrupção da divisão celular em metáfase, na indução de efeitos citolíticos em células em divisão, na indução da apoptose, na interferência com a vascularização do tumor e também na síntese de DNA, RNA e proteínas intracelulares. Pode ser usada como agente único, embora a taxa de resposta seja menor do que quando associada a outros agentes quimioterápicos (Rassnick et al., 2008).

Estão disponíveis vários protocolos que combinam a VBL com outros agentes quimioterápicos, apresentando-se na tabela 4 um protocolo que associa a VBL com prednisona. Este protocolo é bem tolerado, com taxas de resposta de 30 a 64% e geralmente utiliza-se em cães com MTCs agressivos de alto grau (Rassnick et al., 2010; Rassnick et al., 2008). É um protocolo normalmente iniciado duas semanas após a excisão cirúrgica do MTC e consiste na administração de prednisona via oral (PO) numa dose de 2,0 mg/kg/dia PO e feito o desmame até ao fim das 12 semanas de tratamento, sendo a VBL administrada em bólus endovenoso (EV) na dose de 2,0 mg/m² semanalmente, durante quatro semanas e depois a cada 15 dias durante mais quatro tratamentos (Rassnick et al., 2008; Webster et al., 2008). Alguns autores descrevem que doses mais elevadas de VBL apresentam maior taxa de resposta, no entanto, também estão associadas a maiores efeitos adversos (Rassnick et al., 2008). Sempre que não existirem contra-indicações, a vinblastina pode ser aumentada na dose de 0,25 mg/m² até uma dose máxima de 3,2 mg/m² (Garrett, 2014).

Tabela 4 – Protocolo de quimioterapia para MTC canino segundo *Rassnik (Rassnik et al., 2008)*.

Semana	Fármaco	Dose/Via Administração	Frequência
1 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	2 mg/kg PO	SID
2 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1,5 mg/kg PO	SID
3 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1 mg/kg PO	SID
4 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1 mg/kg PO	SID
6 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1 mg/kg PO	SID
8 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1 mg/kg PO	SID
10 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	1 mg/kg PO	SID
12 ^a	Vinblastina	2 mg/m ² IV	—
	Prednisona	Descontinuar	—

É recomendável a realização de um hemograma completo 24 horas antes da instituição da terapêutica de quimioterapia sistêmica, sendo que se os valores da contagem dos neutrófilos forem inferiores a 2000 cel/ μ L e os valores das plaquetas inferiores a 50000 cel/ μ L será necessário adiar o tratamento por 3 a 7 dias. Ao fim deste tempo, repete-se o hemograma para verificar novamente os valores, e caso estejam normais, institui-se a terapêutica. Caso o paciente apresente sinais gastrointestinais secundários ao tratamento com quimioterapia também está aconselhado adiar a secção de quimioterapia. (Garrett, 2014).

8.3.2.2. Protocolo de combinação de vinblastina com clorambucil

Em MTCs que apresentam risco intermédio de recidivas e/ou metástases, a utilização de protocolos de tratamento que combinam a VBL com clorambucil apresentam melhores resultados, uma vez que permitem aumentar a taxa de sobrevivência e prevenir recidivas e/ou metástases. O protocolo consiste na administração de VBL na dose de 2 mg/m² a cada sete dias durante quatro administrações, com clorambucil na dose de 4 a 6 mg/m² a cada 48 horas. Este protocolo inclui ainda a administração de prednisona na dose de 40 mg/m²/dia durante os primeiros sete dias, depois 25 mg/m²/dia durante 30 dias e por fim 25 mg/m² a cada 48 horas durante 60 dias (Horta et al., 2017).

8.3.2.3. Protocolo de combinação de lomustina com vinblastina e prednisona

A 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosureia (CCNU), conhecida como lomustina, é um dos agentes usados como terapêutica de segunda linha, quando a VBL associada à prednisona não demonstra resultados (Dank, 2016; Kiupel, 2017).

É considerado um agente ativo no tratamento do MTC canino quando usado como agente único na dose de 60 a 90 mg/m² a cada duas a três semanas, mas apresenta alguns efeitos secundários como neutropenia severa e hepatotoxicidade (Garrett, 2014).

Um estudo que incluiu 17 cães, avaliou o protocolo de tratamento com administração alternada (a cada duas semanas) de lomustina na dose de 70 mg/m² com VLB na dose de 3,5 mg/m² e prednisona na dose de 2 mg/Kg/dia nos primeiros 14 dias. Este estudo demonstrou uma taxa de resposta completa de cerca de 29% dos cães e 35% de resposta parcial, embora 33% dos animais apresente neutropenia severa e 28% toxicidade hepática (Rassnick et al., 2010).

Devido à hepatotoxicidade da lomustina, é recomendável a realização de um hemograma completo 24 horas antes da instituição da terapêutica de quimioterapia sistêmica, juntamente com a monitorização das enzimas hepáticas (Garrett, 2014).

8.3.2.4. Protocolo de combinação de lomustina com clorambucil

Em MTCs com alto risco de recidivas e/ou metástases está indicada a utilização de protocolos que combinam a lomustina com clorambucil, uma vez que permitem aumentar a taxa de sobrevivência e prevenir as mesmas. Está recomendado a combinação de lomustina na dose de 60 a 90 mg/m² a cada 21 dias, durante 3 a 4 administrações com clorambucil na dose de 4 a 6 mg/m² a cada 48 horas. Este protocolo inclui ainda a administração de prednisona na dose de 40 mg/m²/dia durante os primeiros sete dias, depois 25 mg/m²/dia durante 30 dias e por fim 25 mg/m² a cada 48 horas durante 60 dias (Horta et al., 2017).

Na tabela 5 encontram-se resumidos os diferentes protocolos quimioterápicos e as suas respectivas toxicidades.

Tabela 5 – Síntese dos protocolos de quimioterapia e respectivas toxicidades (Blackwood et al., 2012).

Fármaco	Protocolo	Toxicidade
Vinblastina e prednisona	Vinblastina 2mg/m ² IV semanalmente (quatro tratamentos), depois quinzenalmente (quatro tratamentos) Prednisona 2mg/kg PO, uma vez por dia durante 1 semana, depois 1mg/kg por dia durante 2 semanas, por fim 1mg/kg os restantes dias	Mielossupressão e toxicidade GI leve
Lomustina	70mg/m ² PO, a cada 21 dias durante quatro ciclos	Mielossupressão severa, toxicidade GI e hepatotoxicidade
Vinblastina, lomustina e prednisona	Lomustina 70mg/m ² PO durante uma semana, depois a cada quatro semanas Vinblastina 3,5mg/m ² IV durante três semanas, depois a cada quatro semanas Prednisolona 2 mg/kg PO diariamente nas primeiras duas semanas depois 1mg/kg por dia até a semana 24	Mielossupressão, neutropénia severa e hepatotoxicidade

8.4. Inibidores de tirosina quinase

Os recetores de tirosina quinase (RTKs) são um grupo relevante de recetores de superfície celular envolvidos no crescimento celular, proliferação e diferenciação celular, bem como na angiogénese e no processo de metastização. (Dank, 2016; Grant et al., 2016). Sabe-se que estes recetores apresentam mutações e/ou são expressos de forma aberrante em cerca de 25 a 30% dos MTCs cutâneos caninos de grau II e III (London et al., 2009). Os inibidores de tirosina quinase (TKIs) são pequenas moléculas capazes de bloquear a atividade destes recetores por inibição competitiva da ligação de adenosina trifosfato (ATP) (Dank, 2016).

O mesilato de masitinib e o fosfato de toracenib são dois TKIs aprovados pela Agência Europeia de Medicamentos e apresentam benefícios no tratamento de MTCs de grau II e III não extirpáveis, MTCs de alto grau e com elevado índice de metastização (Dank, 2016; Garrett, 2014; Smrkovski et al, 2013).

8.4.1. Mesilato de masitinib

O mesilato de masitinib é um dos inibidores de tirosina quinase que inibe principalmente a atividade dos recetores KIT, embora também tenha ação nos recetores do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) (Garrett, 2014; Smrkovski et al., 2013). A dose recomendada é de 12,5

mg/kg PO SID e a sua eficácia varia entre os 25 a 61% no tratamento de MTCs (Smrkovski et al, 2013).

Os principais efeitos secundários são hepatotoxicidade, proteinúria, neutropenia, anemia, hipoalbuminemia e efeitos gastrointestinais, pelo que cães submetidos a esta terapia devem fazer monitorização inicialmente a cada duas semanas e depois mensalmente, com hemograma completo, análises bioquímicas e análises à urina (Garrett, 2014; Smrkovski et al., 2013).

8.4.2. Fosfato de toceranib

O fosfato de toceranib é o primeiro inibidor de tirosina quinase aprovado pela *Food and Drugs Administration* (FDA) para uso veterinário, com ação anti-tumoral e anti-angiogénica em várias neoplasias, inclusive no MTC cutâneo canino (Bernabe et al., 2013; Garrett, 2014). O seu mecanismo de ação resulta do bloqueio competitivo do local de ligação de adenosina trifosfato (ATP) de vários recetores tirosina quinase (recetor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR)), recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e KIT, afetando a fosforilação e sinalização a jusante (Bernabe et al., 2013; Robat et al., 2011).

A dose recomendada de fosfato de toceranib é de 2,75 a 3,25 mg/kg PO a cada 48 horas (London et al., 2011).

Os principais efeitos secundários são a nível intestinal e renal, podendo causar anorexia, letargia, claudicação e em alguns casos neutropenia (Bernabe et al., 2013; Grant, North, & Lanore, 2016). Nos casos que apresentem este tipo de alterações, é indicado descontinuar a administração deste fármaco até o retorno à normalidade (Garrett, 2014).

Estudos recentes demonstram a eficácia da combinação de fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/kg PO em dias alternados com VBL a 1,6 mg/m² a cada duas semanas (Robat et al., 2011). Outro estudo, combina o fosfato de toceranib na dose de 2,5 mg/kg PO três vezes por semana, durante 16 semanas, com VBL na dose de 1,6 mg/m² IV a cada duas semanas, durante o total de oito administrações. Este protocolo inclui ainda a prednisona na dose de 1mg/kg PO diariamente, durante as 16 semanas. Este protocolo demonstrou uma boa eficácia e permitiu concluir que apesar das baixas doses a eficácia manteve-se, pelo que, deduziu-se a existência de um sinergismo entre os fármacos utilizados (Olsen et al., 2018).

Um outro estudo mais recente combina o fosfato de toceranib, na dose de 2,75 mg/kg PO às segundas, quartas e sextas-feiras, com lomustina na dose de 50 mg/m² PO a cada três semanas, tendo uma taxa de resposta global de 46%, embora apresente neutropenia em 82,9% dos animais submetidos a esta terapêutica. Esta pode ser uma opção de tratamento para cães com MTC não extirpáveis ou metastizados (Burton et al., 2015).

A combinação de fosfato de toceranib com prednisona e radioterapia hipofracionada é também apresentada como uma opção de tratamento para MTCs cutâneos em que a excisão cirúrgica não é possível e/ou presente metastização. Apesar desta combinação apresentar uma taxa de resposta completa de 58,8% e resposta parcial de 17,6%, foram observado efeitos de hepatotoxicidade

em 80% dos cães, o que levou em alguns casos à diminuição da dose de fosfato de toceranib e/ou à interrupção da terapêutica (Carlsten et al., 2012).

A combinação de fosfato de toceranib com anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) para o tratamento adjuvante de MTCs tem vindo a ser estudado, não só pelas propriedades anti-inflamatórias, como também pelas propriedades antineoplásicas (Chon et al., 2011; Vascellari et al., 2012). Em muitos tumores existe uma sobre-expressão da cicloxigenase-2 (COX-2) e esta proteína já foi identificada por imuno-histoquímica no citoplasma de células neoplásicas em MTCs. Assim, pensa-se que a COX-2 pode desempenhar um papel na oncogénese dos MTCs e que o uso de inibidores de COX-2 pode ser benéfico na prevenção e/ou tratamento de MTCs cutâneos (Vascellari et al., 2012). Um protocolo que combina a administração de fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/kg a cada 48 horas com piroxicam a 0,3 mg/kg/dia, demonstrou uma taxa de resposta global de 48% e os animais não demonstraram efeitos gastrointestinais relevantes. É importante assegurar a função renal dos pacientes em que se vai instituir este protocolo, pois o piroxicam pode agravar as lesões renais (Chon et al., 2011).

O esquema da figura 3 sumariza a abordagem ao MTC cutâneo, bem como a orientação quanto à terapêutica a instituir:

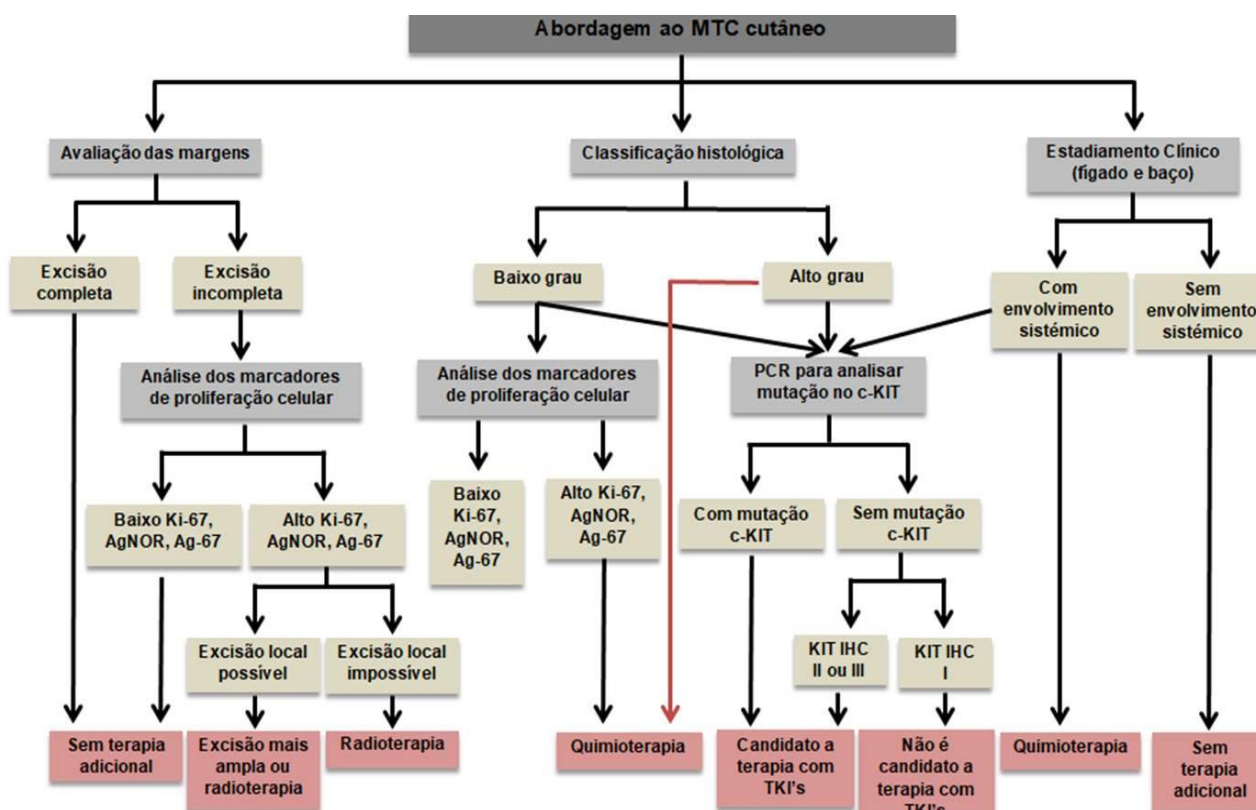


Figura 3 – Esquema da abordagem ao MTC cutâneo e orientação da terapêutica a instituir (adaptado de Kiupel, 2017).

8.5. Outros tratamentos

8.5.1. Paclitaxel micelar solúvel em água

Um estudo recente mostrou que o uso de paclitaxel micelar solúvel em água para tratamento de MTCs de grau II ou III em cães é mais seguro e eficaz (taxa de resposta biológica de 30%) do que a lomustina (taxa de resposta biológica de 11%) (Vail et al., 2012). Este produto apresenta a vantagem de o seu mecanismo de ação ser independente da expressão aberrante do c-kit, embora a sua margem de segurança seja baixa e apresente algumas reações adversas graves, tais como, hepatopatas, emese, anorexia, letargia, neutropénia, entre outros (Vail et al., 2012).

8.5.2. Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia (ECT) é uma forma de tratamento local de tumores, que consiste na combinação de pulsos elétricos com a administração de agentes quimioterápicos, tais como a cisplatina ou a bleomicina. Estes agentes apresentam pouca permeabilidade na membrana celular, por isso, este método baseia-se na aplicação local de pulsos elétricos curtos e intensos de modo a criar eletropermeabilização transitória da membrana a estes agentes, permitindo a sua passagem do espaço extracelular para o citoplasma (Kodre et al., 2009; Lowe et al., 2016). Os pulsos elétricos devem ser aplicados o mais rápido possível após a inoculação do agente, a fim de obter o efeito vasoconstritor que contribui para a máxima retenção do agente inoculado nos tecidos alvo. O sinal de boa retenção nos tecidos é verificado visualmente pela coloração branca dos mesmos (Kodre et al., 2009).

O efeito vasoconstritor da eletroporação pode ser benéfico no tratamento do MTC, uma vez que pode impedir a libertação de mediadores inflamatórios na corrente sanguínea devido à desgranulação dos MT durante a manipulação do tumor, embora existam poucos estudos que demonstrem a eficácia e segurança da ECT em MTCs nos animais de companhia (Kodre et al., 2009).

Outros estudos demonstraram que o uso de ECT em pulsos bifásicos combinada apenas com bleomicina localmente, no tratamento adjuvante em MTCs caninos extirpados incompletamente, apresentou uma taxa de resposta global de 85% (Spugnini et al., 2006).

A combinação da ECT com cisplatina como único tratamento em MTCs, demonstrou boa eficácia, semelhante à da excisão cirúrgica, apesar desta última continuar a ser o tratamento de eleição em MTC cutâneo (Kodre et al., 2009). Esta combinação terapêutica também demonstrou eficácia no tratamento de MTCs extirpados incompletamente ou mesmo em locais de difícil excisão cirúrgica (Spugnini et al., 2011).

Assim, concluiu-se que a ECT pode ser usada como único tratamento ou como tratamento adjuvante antes da cirúrgica com o objetivo de melhorar o controlo local (Kodre et al., 2009; Lowe et al., 2016). A aplicação de pulsos elétricos antes da cirurgia permite uma redução transitória do fluxo sanguíneo com duração até 24 horas, evitando a passagem de substâncias vasoativas produzidas

pela desgranulação dos MTs e também permitindo a retenção dos agentes quimioterápicos inoculados no local (Kodre et al., 2009).

8.5.3. Eletroquimioterapia combinada com eletrotransferência da interleucina-12

A eletroquimioterapia por si só apresenta benefícios na regressão do tumor, mas quando associada com a eletrotransferência da interleucina-12 (IL-12) permite prevenir recidivas e metástases à distância em MTC canino (Cemazar et al., 2016).

A sua eficácia é maior em tumores pequenos (menores que 2cm³), com uma resposta completa a longo prazo de 72%, embora em tumores de grandes dimensões (maiores que 10cm³) também seja eficiente (Cemazar et al., 2016).

8.5.4. Terapia eletrogénica com interleucina-12

A terapia eletrogénica (EGT) intratumoral com IL-12 é mais uma opção na abordagem ao tratamento local de MTC. O fundamento da técnica é semelhante à ECT, com o uso de IL-12 que apresenta uma série de atividades biológicas, como a ativação natural de “killer cells”, indução do interferão- γ (IFN- γ), inibição da angiogénese e estimulação da produção de óxido nítrico, com especial importância na imunoterapia de tumores (Pavlin et al., 2011).

Estudos demonstram que a EGT com IL-12 induz uma redução significativa do tamanho do tumor (Regan et al., 2015), variando de 13 a 83% do volume inicial do tumor (Pavlin et al., 2011).

Contudo, são necessários mais estudos para confirmação da eficácia e segurança deste método no tratamento de MCT (Pavlin et al., 2011).

8.5.5. Terapia intratumoral com interleucina-2

A interleucina-2 (IL-2) é uma citocina que apresenta efeitos antitumorais quando administrada via sistémica em humanos, embora apresente elevados efeitos adversos. Foram desenvolvidos estudos em medicina veterinária para aplicação de IL-2 intratumoral, peritumoral ou ainda intravesical em MTCs cuja excisão cirúrgica não seja possível, com o objetivo de induzir a regressão do tumor. Estes estudos demonstraram maior eficácia terapêutica e menores efeitos adversos da IL-2 comparativamente à sua administração sistémica (Ziekman et al., 2013).

O mecanismo da terapêutica com IL-2 envolve o extravasamento de fluidos e eritrócitos no local da inoculação, provocando edema local e, conseqüentemente, impede a circulação de fluidos causando a supressão de oxigénio e nutrientes para as células tumorais, resultando na morte celular (Ziekman et al., 2013).

8.5.6. Reovírus oncolítico

O reovírus é um pequeno vírus icosaédrico sem envelope e com 10 segmentos de RNA de cadeia dupla, que tem sido muito estudado em oncologia humana na última década. Devido às semelhanças entre tumores humanos e caninos, levantou-se a hipótese que os efeitos citotóxicos do reovírus também fossem estudados nos cães (Hwang et al., 2013).

Um estudo demonstrou a suscetibilidade dos MTCs ao reovírus, especialmente o MTC canino. Apesar dos tumores que foram sujeitos apenas a uma inoculação intratumoral do vírus terem sofrido uma significativa regressão, mais estudos serão necessários para esclarecer o mecanismo pelo qual o reovírus apresenta efeitos citotóxicos no MTC canino (Hwang et al., 2013).

8.5.7. Janus quinase 2

A janus quinase 2 (JAK2) é um recetor tirosina quinase que atua a jusante dos recetores de citocinas, incluindo o ativador da transcrição 5 (STAT5), o fosfoinosítideo 3 (PI3K) e quinases reguladoras de sinais extracelulares (ERK). A JAK2 e o STAT5 são mediadores cruciais de crescimento e sobrevivência das células neoplásicas, pelo que são considerados importantes potenciais alvos terapêuticos em neoplasias mielóides (Keller et al., 2017).

Fármacos dirigidos à JAK2 ou a inibidores do STAT5 têm sido estudados como potenciais terapêuticas em MTCs caninos, uma vez que inibem a proliferação e desencadeiam a apoptose dos MT neoplásicos, sendo ainda necessários mais estudos para comprovar esta potencial utilidade (Keller et al., 2017).

9. Tratamento de acordo com grau e tipo de mastocitoma

Uma vez que a lista de opções terapêuticas para MTC cutâneo é muito vasta, de forma a facilitar a escolha terapêutica, descreve-se a abordagem terapêutica de acordo com o grau de classificação e a presença de metástases (Welle et al., 2008).

9.1. Mastocitomas de grau I e alguns de grau II

Em MTCs bem diferenciados de grau I e alguns de grau II sem evidências de metastização, a terapêutica a implementar consiste na excisão completa do tumor com margens de cerca de 2 cm em redor da massa e de apenas um plano fascial na margem mais profunda, não sendo necessário instituir nenhuma terapia adjuvante (Dank, 2016; Garrett, 2014; Welle et al., 2008).

Caso o tumor não tenha sido extirpado com margens livres de células tumorais, a terapia com radiação deve ser aplicada no pós-cirúrgico com o objetivo de controlar localmente o tumor (Dank, 2016; Garrett, 2014).

Se o gânglio linfático regional já apresentar metástases ou evidências das mesmas, a terapêutica a implementar deve ser a excisão do tumor primário, juntamente com o gânglio linfático (Kiupel, 2017; Welle et al., 2008).

Independentemente da terapêutica instituída, cães com MTC de baixo grau ou de grau II, devem ser reavaliados regularmente para determinar a existência de recidivas e/ou metástases (London & Thamm, 2013).

9.2. Mastocitomas de grau II e grau III

Em MTCs de alto grau e com elevada probabilidade de metastização, a cirurgia por si só raramente é curativa, e necessita de ser adjuvada com quimioterapia ou radioterapia (Barker et al., 2016; Olsen et al., 2018; Welle et al., 2008). Por vezes, a quimioterapia é instituída antes da excisão cirúrgica com o objetivo de diminuir as dimensões do MTC primário, aumentando assim a probabilidade de se alcançar a excisão completa (Dank, 2016; Kiupel, 2017). Nestes casos, as recomendações cirúrgicas relativamente ao tamanho das margens são de pelo menos 3 cm em redor da massa e de um plano fascial mais profundo. Nos casos em que a primeira cirurgia não permite a remoção completa das margens do tumor, será aconselhada uma nova excisão cirúrgica para remoção mais ampla das margens, associada com outra terapêutica adjuvante (Dank, 2016).

Para MTCs agressivos e de alto grau, a quimioterapia adjuvante tem o objetivo de prevenir e/ou atrasar o processo de metastização, reduzir o risco de recidivas locais e a progressão da doença (Barker et al., 2016). Um exemplo é o protocolo que combina a VBL com prednisona após duas semanas da excisão cirúrgica (Rassnick et al., 2010; Rassnick et al., 2008; Welle et al., 2008).

9.3. Mastocitomas metastáticos ou recidivantes

Cerca de 5 a 23% dos animais apresentam recidivas após a terapêutica inicial. Nestes casos, será necessário fazer uma reavaliação do tumor e um novo estadiamento. Além desses, cerca de 44% dos animais que foram tratados e apresentaram-se como sendo livres da doença, podem desenvolver novos MTCs (Welle et al., 2008).

Os animais que apresentam metástases em diversos órgãos, o tratamento será sempre paliativo, que pode passar desde a cirurgia e/ou incluir protocolos de combinação entre VLB e prednisona, lomustina com VBL e prednisona, fosfato de toceranib com lomustina, entre outros (Burton et al., 2015; Rassnick et al., 2010; Welle et al., 2008).

O esquema da figura 4 permite resumir a abordagem terapêutica ao MTC cutâneo com metástases, de acordo com o grau e tipo de mastocitoma:

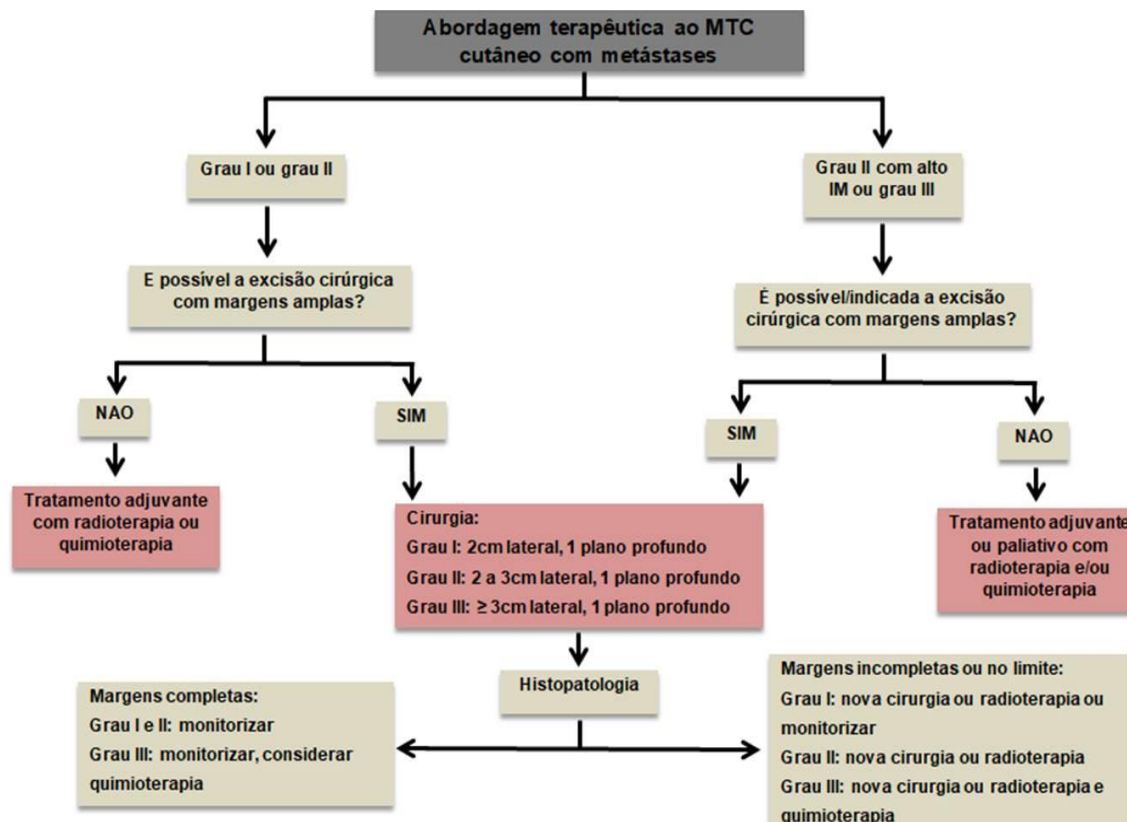


Figura 4 – Esquema resumo da abordagem terapêutica ao MTC cutâneo com metástases (adaptado de Blackwood et al., 2012).

10. Conclusão

Devido à imprevisibilidade do comportamento biológico e progressão do MTC, a terapêutica a implementar é um desafio. No entanto, grandes avanços têm sido feitos com a pesquisa de novos fatores de prognóstico que permitem auxiliar a escolha da terapêutica a instituir.

Apesar de existirem várias opções de tratamento, cada uma tem as suas vantagens e desvantagens, incluindo custos e toxicidade associadas, pelo que a recomendação da terapêutica deve ser instituída individualmente para cada paciente oncológico.

Para além da grande importância do prognóstico, sabe-se que o diagnóstico e o estadiamento são fundamentais para eficácia da terapêutica e consequentemente para a taxa de sobrevivência.

Actualmente, para além das opções mais frequentes de tratamento, como a cirurgia, a radio-terapia e/ou a quimioterapia, existem novas abordagens terapêuticas. Alguns estudos já testaram o uso de interleucinas e vírus no tratamento do MTC, sendo uma área que está em constante atualização.

Num futuro próximo, novas técnicas surgirão para melhorar quer o diagnóstico, quer o estadiamento e prognóstico, com o objetivo de aperfeiçoar a eficácia do tratamento, aumentando a taxa de sobrevivência nestes pacientes oncológicos.

11. Referências Bibliográficas

- Agnoli, C., Barbiero, L., Sabattini, S., Bettini, G., Marconato, L., Rigillo, A., ... Militerno, G. (2018). Comparison between May-Grünwald-Giemsa and rapid cytological stains in fine-needle aspirates of canine mast cell tumour: Diagnostic and prognostic implications. *Veterinary and Comparative Oncology*, *16*(4), 511–517. <https://doi.org/10.1111/vco.12409>
- Barker, D. A., Foale, R. D., Holmes, M. A., & Demetriou, J. L. (2016). Survey of UK-based veterinary surgeons' opinions on the use of surgery and chemotherapy in the treatment of canine high-grade mast cell tumour, splenic haemangiosarcoma and appendicular osteosarcoma. *Veterinary Record*, *179*(22), 572. <https://doi.org/10.1136/vr.103479>
- Berlato, D., Murphy, S., Laberke, S., & Rasotto, R. (2018). Comparison of minichromosome maintenance protein 7, Ki67 and mitotic index in the prognosis of intermediate Patnaik grade cutaneous mast cell tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, *16*(4), 535–543. <https://doi.org/10.1111/vco.12412>
- Bernabe, L., London, C. A., Kisseberth, W. C., Pennell, M., Nguyen, S., Portela, R., & Yancey, M. F. (2013). Evaluation of the adverse event profile and pharmacodynamics of toceranib phosphate administered to dogs with solid tumors at doses below the maximum tolerated dose. *BMC Veterinary Research*, *9*(1), 190. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-190>
- Blacklock, K. B., Birand, Z., Biasoli, D., Fineberg, E., Murphy, S., Flack, D., ... Starkey, M. (2018). Identification of molecular genetic contributors to canine cutaneous mast cell tumour metastasis by global gene expression analysis. *PLoS ONE*, *13*(12), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208026>
- Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J. P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., ... Argyle, D. J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, *10*(3), 1–29. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x>
- Blackwood, L., Tanis, J. B., Harper, A., Amores-Fuster, I., Killick, D. R., & Finotello, R. (2018). Acute radiotherapy toxicity in 57 dogs with gross and microscopic mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *16*(4), 431–440. <https://doi.org/10.1111/vco.12398>
- Burton, J. H., Venable, R. O., Vail, D. M., Williams, L. E., Clifford, C. A., Axiak-Bechtel, S. M., ... Thamm, D. H. (2015). Pulse-administered toceranib phosphate plus lomustine for treatment of unresectable mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *29*(4), 1098–1104. <https://doi.org/10.1111/jvim.13573>
- Camus, M. S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskell, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R., & Krimer, P. M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary Pathology*, *53*(6), 1117–1123. <https://doi.org/10.1177/0300985816638721>
- Carlsten, K. S., London, C. A., Haney, S., Burnett, R., Avery, A. C., & Thamm, D. H. (2012). Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *26*(1), 135–141. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00851.x>

- Cemazar, M., Ambrozic Avgustin, J., Pavlin, D., Sersa, G., Poli, A., Krhac Levacic, A., ... Tozon, N. (2016). Efficacy and safety of electrochemotherapy combined with peritumoral IL-12 gene electrotransfer of canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *15*(2), 641–654. <https://doi.org/10.1111/vco.12208>
- Chon, E., McCartan, L., Kubicek, L. N., & Vail, D. M. (2011). Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): A phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, *10*(3), 184–193. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00265.x>
- Cohen, R., Olmsted, G., Kirpensteijn, J., Kiupel, M., Post, G., Brocks, B., ... Farrelly, J. (2015). Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Veterinary and Comparative Oncology*, *15*(1), 36–45. <https://doi.org/10.1111/vco.12140>
- Costa Casagrande, T. A., de Oliveira Barros, L. M., Fukumasu, H., Cogliati, B., Chaible, L. M., Dagli, M. L. Z., & Matera, J. M. (2013). The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *13*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/vco.12010>
- Daniel, J., Barra, C. N., Pulz, L. H., Kleeb, S. R., Xavier, J. G., Catão-Dias, J. L., ... Strefezzi, R. F. (2019). Intratumoral collagen index predicts mortality and survival in canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Dermatology*, 1–7. <https://doi.org/10.1111/vde.12726>
- Dank, G. (2016). Review of the treatment of canine cutaneous mast cell tumors. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, *71*(2), 3–9.
- Dobson, J. M. (2013). Breed-Predispositions to Cancer in Pedigree Dogs. *ISRN Veterinary Science*, *2013*(August), 1–23. <https://doi.org/10.1155/2013/941275>
- Dobson, J. M., & Scase, T. J. (2007). Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, *48*(8), 424–431. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00366.x>
- Garrett, L. D. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 49–58. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.2147/VMRR.S41005>
- Grant, J., North, S., & Lanore, D. (2016). Clinical response of masitinib mesylate in the treatment of canine macroscopic mast cell tumours. *Journal of Small Animal Practice*, *57*(6), 283–290. <https://doi.org/10.1111/jsap.12480>
- Horta, R. S., Lavalle, G. E., Costa, M. P., Moura, L. L., Marcinowska, A., & Araújo, R. B. (2017). Outcome of adjuvant chemotherapy with lomustine, vinblastine and chlorambucil on management of canine mast cell tumour of high to intermediate risk. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, *69*(6), 1426–1436. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9172>
- Hwang, C. C., Umeki, S., Kubo, M., Hayashi, T., Shimoda, H., Mochizuki, M., ... Mizuno, T. (2013). Oncolytic Reovirus in Canine Mast Cell Tumor. *PLoS ONE*, *8*(9), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073555>

- Keller, A., Wingelhofer, B., Peter, B., Bauer, K., Berger, D., Gamperl, S., ... Hadzijusufovic, E. (2017). The JAK2/STAT5 signaling pathway as a potential therapeutic target in canine mastocytoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), 55–68. <https://doi.org/10.1111/vco.12311>
- Kiupel, M. (2017) Mast Cels Tumors. In: Meuten D. J., Tumors in Domestic Animals, 5nd Ed. Raleigh, USA: Wiley Blackwell, pp. 184-203
- Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., ... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary Pathology*, 48(1), 147–155. <https://doi.org/10.1177/0300985810386469>
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cör, A., & Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo*, 23(1), 55–62. [https://doi.org/10.1016/S0020-7292\(03\)90112-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7292(03)90112-3)
- Lin, T. Y., & London, C. A. (2006). A functional comparison of canine and murine bone marrow derived cultured mast cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114(3–4), 320–334. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.09.001>
- London, C. A. (2008). Management of Canine Mast Cell Tumors. *Proceeding of the SEVC Southern European Veterinary Conference*, 1–10.
- London, C. A., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., Boucher, J. F., Mauldin, G. N., Couto, G. C., ... Michels, G. M. (2009). Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. *Clinical Cancer Research*, 15(11), 3856–3865. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-1860>
- London, C., Phillips, B., McNeill, C., LaDue, T., Vaughan, A., Clifford, C., ... Alvarez, F. (2011). Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia ®) in solid tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), 194–205. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00275.x>
- London, C. & Thamm, D. (2013) Mast Cell Tumors. In: Withrow J., Vail D., Page L. et al Withrow and MacEwen's, 5nd Ed. Small Animal Clinical Oncology. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, pp. 349-369
- Lowe, R., Gavazza, A., Impellizeri, J. A., Soden, D. M., & Lubas, G. (2016). The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(3), 775–784. <https://doi.org/10.1111/vco.12217>
- Miller, R. L., Van Lelyveld, S., Warland, J., Dobson, J. M., & Foale, R. D. (2016). A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(4), 361–370. <https://doi.org/10.1111/vco.12116>
- Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Veterinary Quarterly*, 26(4), 156–69. <https://doi.org/10.1080/01652176.1998.9694977>
- Olsen, J. A., Thomson, M., O'Connell, K., & Wyatt, K. (2018). Combination vinblastine, prednisolone and toceranib phosphate for treatment of grade II and III mast cell tumours in dogs. *Veterinary Medicine and Science*, 4(3), 237–251. <https://doi.org/10.1002/vms3.106>

- Palma, H., Martins, D., Bass, P., Amaral, A., Teixeira, L., & Lopes, S. (2009). Mastocitoma cutâneo canino - Revisão, 7(Cmv), 523–528.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary Pathology*, 21(5), 469–474. <https://doi.org/10.1177/030098588402100503>
- Pavlin, D., Cemazar, M., Cör, A., Sersa, G., Pogacnik, A., & Tozon, N. (2011). Electrogenic therapy with interleukin-12 in canine mast cell tumors. *Radiology and Oncology*, 45(1), 30–39. <https://doi.org/10.2478/v10019-010-0041-9>
- Pratschke, K. M., Atherton, M. J., Sillito, J. A., & Lamm, C. G. (2013). Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008–2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(10), 1436–1441. <https://doi.org/10.2460/javma.243.10.1436>
- Preziosi, R., Sarli, G., & Paltrinieri, M. (2004). Prognostic value of intramural vessel density in cutaneous mast cell tumour of the dog. *Journal of Comparative Pathology*, 130(2–3), 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2003.10.003>
- Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Flory, A. B., Balkman, C. E., Kiselow, M. A., Intile, J. L., & Autio, K. (2008). Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(6), 1390–1396. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0195.x>
- Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Russell, D. S., Flory, A. B., Kiselow, M. A., Intile, J. L., ... Barnard, S. M. (2010). A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(2), 138–152. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00217.x>
- Regan, D., Guth, A., Coy, J., & Dow, S. (2015). Cancer immunotherapy in veterinary medicine: Current options and new developments. *Veterinary Journal*, 207(October 2017), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.008>
- Robat, C., London, C., Bunting, L., McCartan, L., Stingle, N., Selting, K., ... Vail, D. M. (2011). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia®) in dogs: A phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), 174–183. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00261.x>
- Scarpa, F., Sabattini, S., & Bettini, G. (2014). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(3), 245–251. <https://doi.org/10.1111/vco.12090>
- Shoop, S. J., Marlow, S., Church, D. B., English, K., McGreevy, P. D., Stell, A. J., ... Brodbelt, D. C. (2015). Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Canine Genetics and Epidemiology*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2052-6687-2-1>
- Sledge, D. G., Webster, J., & Kiupel, M. (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Veterinary Journal*, 215, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.06.003>
- Smrkovski, O. A., Essick, L., Rohrbach, B. W., & Legendre, A. M. (2013). Masitinib mesylate for

- metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 13(3), 314–321. <https://doi.org/10.1111/vco.12053>
- Spugnini, E. P., Vincenzi, B., Baldi, F., Citro, G., & Baldi, A. (2006). Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Research*, 26(6 B), 4585–4589.
- Spugnini, E. P., Vincenzi, B., Citro, G., Dotsinsky, I., Mudrov, T., & Baldi, A. (2011). Evaluation of Cisplatin as an Electrochemotherapy Agent for the Treatment of Incompletely Excised Mast Cell Tumors in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), 407–411. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0678.x>
- Stanclift, R. M., & Gilson, S. D. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(1), 53–62. <https://doi.org/10.2460/javma.232.1.53>
- Torres Neto, R., Maria Terra, E., dos Santos Costa Poggiani, S., Tinucci Costa, M., & Laufer Amorim, R. (2012). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Biologic Behavior and Its Correlation with Prognostic Indicators. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 02(04), 255–261. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2012.24041>
- Vail, D. M., von Euler, H., Rusk, A. W., Barber, L., Clifford, C., Elmslie, R., ... Khanna, C. (2012). A Randomized Trial Investigating the Efficacy and Safety of Water Soluble Micellar Paclitaxel (Paccal Vet) for Treatment of Nonresectable Grade 2 or 3 Mast Cell Tumors in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(3), 598–607. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00897.x>
- Vascellari, M., Carminato, A., Mutinelli, F., Buracco, P., Dacasto, M., Giantin, M., ... Vercelli, A. (2012). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology*, 50(1), 110–121. <https://doi.org/10.1177/0300985812447829>
- Warland, J., Amores-Fuster, I., Newbury, W., Brearley, M., & Dobson, J. (2012). The utility of staging in canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 12(4), 287–298. <https://doi.org/10.1111/vco.12012>
- Webster, J. D., Miller, R. A., Kaneene, J. B., Yuzbasiyan-Gurkan, V., & Kiupel, M. (2007). Cellular Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with c-KIT and Its Role in Prognostication. *Veterinary Pathology*, 44(3), 298–308. <https://doi.org/10.1354/vp.44-3-298>
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Thamm, D. H., Hamilton, E., & Kiupel, M. (2008). Evaluation of prognostic markers for Canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Veterinary Research*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-32>
- Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J., & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: A review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, 19(6), 321–339. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x>
- Ziekman, P. G. P. M., Den Otter, W., Tan, J. F. V., Teske, E., Kirpensteijn, J., Koten, J. W., & Jacobs, J. J. L. (2013). Intratumoural interleukin-2 therapy can induce regression of non-resectable mastocytoma in dogs. *Anticancer Research*, 33(1), 161–166.