

TUMORES DE CÉLULAS REDONDAS EM CÃES: ASPECTOS GERAIS E MARCADORES IMUNOISTOQUÍMICOS

Danilo Rezende e Silva¹, Mariana Batista Rodrigues Faleiro², Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura³

1 - Doutorando em ciência animal da Universidade Federal de Goiás (drs-patovet@hotmail.com) Goiânia - GO - Brasil

2 - Doutora em ciência animal pela Universidade Federal de Goiás

3 - Professora Doutora do Departamento de Patologia Animal da Escola de Veterinária e zootecnia da Universidade Federal de Goiás

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_233

RESUMO

A oncologia, nos últimos anos, vem se firmando como uma das áreas de grande importância na Medicina Veterinária devido ao aumento da casuística de câncer em cães, assim como do aumento da mortalidade por essa causa. Dentre os processos neoplásicos, os tumores de células redondas se destacam pela frequência e dificuldade de diferenciação entre os tipos que compõem a categoria. Ainda, é importante que se possa dispor de técnicas de diagnóstico eficientes para a diferenciação entre os tipos. Nesse cenário, a técnica de imunoistoquímica (IHQ) apresenta-se como poderosa e acurada ferramenta de avaliação tumoral. Porquanto, diante do grande número de casos de tumores de células redondas em cães e dos desafios quanto a classificação cito-histomorfológica desses tumores, principalmente quando indiferenciados, tem se por objetivo apresentar revisão de literatura no que tange aos aspectos gerais dos tumores de células redondas na espécie canina, especialmente os de envolvimento cutâneo, e os marcadores imunoistoquímicos utilizados na diferenciação dessas neoplasias.

PALAVRAS-CHAVE: Linfoma, Mastocitoma, Oncologia veterinária, Plasmocitoma

ROUND CELL TUMORS IN DOGS: GENERAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS

ABSTRACT

Oncology, in recent years, is behaving as one of the major areas of importance in veterinary medicine due to increased cancer sample in dogs as well as increase in mortality due to this cause. Among the neoplastic processes, round cells tumors stand out for being frequent and difficulty of differentiate them. Also, it's important to have more effective techniques to provide this differentiation. In this context, the immunohistochemistry (IHC) is presented as a powerful and accurate tool to tumor evaluation. Thus, in view of the large number of tumor cases of round cells tumors in dogs and challenges as the cyto-histomorphological classification of them, especially when undifferentiated, the aim here is to present literature review with respect to general aspects of round cells tumors in dogs, especially of cutaneous involvement, and review the immunohistochemical markers used to differentiate them.

KEYWORDS: Lymphoma, Mastocytoma, plasmacytoma, Veterinary oncology

INTRODUÇÃO

A oncologia, nos últimos anos, vem se firmando como uma das áreas de grande importância na Medicina Veterinária, o que se constata pelo crescente número de publicações científicas envolvendo neoplasias e pela grande quantidade de eventos que possuem como tema central a oncologia, na maioria das vezes com foco em animais de companhia, especialmente cães. O aumento da casuística de câncer nos caninos possui várias razões. Um primeiro aspecto é o aumento da longevidade canina. O uso de rações balanceadas, a prevenção de enfermidades infectocontagiosas, a melhora nos meios de diagnóstico e protocolos de tratamento específicos e eficazes refletem diretamente no aumento da longevidade animal e da casuística das neoplasias, já que essas comumente se desenvolvem em indivíduos adultos a idosos (MORRISON. 1998; SOUZA, 2005).

O histórico detalhado, acompanhado de exames clínicos e exames complementares, como citopatológico, radiográfico, hematológico, ultrassonográfico, histopatológico e imunoistoquímico, pode fundamentar o diagnóstico definitivo e o prognóstico, e proporcionar meios para o estabelecimento da melhor terapia indicada (MORRISON. 1998; DeNARDI et al., 2002).

As neoplasias em cães têm sido relatadas como uma das principais causas de morte nessa espécie animal (MOORE et al., 2001; PROSCHOWSKY et al., 2003; BONNETT et al., 2005; BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008). FIGHERA et al., (2008) realizaram estudo retrospectivo na região Sul do Brasil e, dos 4.844 casos avaliados, 378 (7,8%) referiam-se a cães que morreram ou foi realizada a eutanásia por alterações relacionadas a neoplasias. Dos 378 casos, dois tipos de tumor de células redondas se destacaram, sendo o linfoma a segunda neoplasia mais frequente e o mastocitoma a quinta.

Os tumores de células redondas são identificados macroscopicamente como massas comumente localizadas nos tecidos: cutâneo e subcutâneo. Entretanto, a maioria dessas neoplasias pode ser encontrada em outros locais. As neoplasias de células redondas são, em sua maioria, tumores mesenquimais e assim denominados devido à semelhança morfológica entre as células. Incluem-se nessa classificação mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas, linfomas e o tumor venéreo transmissível (TVT) (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). Os tumores melanocíticos ocasionalmente apresentam morfologia semelhante à célula redonda, porém atualmente não são incluídos nesse grupo. A denominação tumor de células redondas refere-se ao padrão citomorfológico, já que quanto a origem embrionária a maioria é classificada como mesenquimal. O intuito de agrupá-las em uma só categoria é facilitar o reconhecimento citológico dessas neoplasias. O padrão microscópico é composto de células individualizadas, de morfologia redonda a oval, dispostas em forma de manto, cordões ou trabéculas e com estroma escasso. A origem do TVT é ainda bastante discutível, porém é classificada como mesenquimal (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; WERNER, 2010).

O uso isolado da histopatologia visando o diagnóstico dessas neoplasias é tarefa desafiadora para patologistas, especialmente porque esses tumores possuem similaridade quanto à morfologia celular. Ainda, técnicas histoquímicas para a diferenciação dos mesmos podem não ser conclusivas, principalmente nos casos em que há maior grau de indiferenciação (FERNANDEZ et al., 2005). Além disso, o estudo anatomopatológico das neoplasias está relacionado à predição do prognóstico e eficácia no tratamento da doença (WERNER & WERNER, 2009). Porém, em cada espécie animal há uma variedade de informações referentes à biologia e ao microambiente tumoral, envolvendo aspectos celulares e moleculares

dos tumores, que sobrepujam a caracterização morfológica de malignidade, aumentando a acurácia do diagnóstico. Nesse cenário, a técnica de imunohistoquímica (IHQ) apresenta-se como poderosa e acurada ferramenta de avaliação tumoral, fundamentada na utilização de anticorpos para a identificação de antígenos específicos *in situ*, seja em tecidos frescos ou emblocados em parafina (RAMOS-VARA et al., 2008; RAMOS-VARA, 2011).

É oportuno lembrar que em medicina veterinária esse método ainda possui restrições quanto ao uso na rotina de diagnóstico devido ao custo (infraestrutura, equipamentos, apoio técnico e reagentes) e à escassez de anticorpos espécie-específicos em algumas situações. Contudo, essas limitações vêm sendo gradativamente superadas com a maior demanda na eficácia do diagnóstico, a exemplo do que ocorre com as neoplasias indiferenciadas, como é o caso de muitos tumores de células redondas, que necessitam de marcadores auxiliares na diferenciação e classificação neoplásica (SANDUSKY et al., 1987; FERNANDEZ et al., 2005; MACHADO et al., 2015).

Assim, diante do grande número de casos de tumores de células redondas em cães e dos desafios quanto a classificação cito-histomorfológica desses tumores, principalmente quando indiferenciados, este tem por objetivo apresentar revisão de literatura no que tange aos aspectos gerais dos tumores de células redondas na espécie canina, especialmente os de envolvimento cutâneo, e revisar os marcadores imunohistoquímicos utilizados na diferenciação dessas neoplasias.

Aspectos gerais dos tumores de células redondas em cães

A denominação neoplasias de células redondas fundamenta-se na semelhança morfológica entre as células que compõem esses tumores, que são classificados, quanto a origem embriológica, em neoplasias mesenquimais. Incluem-se nessa classificação mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas, linfomas e o tumor venéreo transmissível (TVT) (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). O diagnóstico baseado apenas nas alterações histomorfológicas é desafiador nesses casos, pois a precisa definição da neoplasia é decisiva ao prognóstico e tratamento. Nesse sentido, a IHQ se apresenta como técnica complementar que pode auxiliar na definição do diagnóstico quando a histomorfologia tumoral não é esclarecedora (FERNANDEZ et al., 2005).

A frequência desses tumores em cães é relativamente alta. SOUZA (2005) analisou 761 tumores cutâneos em cães e, do total de neoplasias epiteliais, mesenquimais e melanocíticas, o mastocitoma foi o mais frequente, diagnosticada em 158 (20,9%) casos. O autor ainda analisou separadamente a frequência dos tumores mesenquimais, e de um total de 344 casos, 158 (45,9%) eram mastocitomas, os mais frequentes, e o histiocitoma foi o quinto de maior ocorrência, com 20 (5,8%) casos. ARAUJO (2011), em um estudo entre 2009 e 2010, analisou 1907 tumores e, destes, 351 (18,41%) eram mastocitomas, considerados os mais frequentes. O autor ainda separou o grupo de células redondas, e o total dessa categoria foi de 449 casos, com mastocitoma (351) e histiocitoma (45) representando os tumores mais diagnosticados.

Mastocitoma

Os mastócitos são células com ampla funcionalidade, dentre as quais destaca-se a participação na imunidade inata e adquirida. Os mastócitos são oriundos de células pluripotentes da medula óssea, que expressam o antígeno CD34

e o processo de diferenciação é influenciado por fator de células tronco e IL-3 (KIRSHENBAUM, 2000; RECH & GRAÇA, 2006). Os mastócitos possuem 20-30µm de diâmetro, formato redondo a oval e núcleo esférico, de coloração basofílica. O citoplasma é levemente eosinofílico e contém grânulos metacromáticos com afinidade tintorial ao vermelho ou vinho devido a sua composição por mucopolissacarídeos ácidos (DIAS, 2007).

O mastocitoma, a neoplasia maligna de mastócitos, é frequente em cães e rara em bovinos, equinos e seres humanos (MISDORP, 2004). As formações são mais frequentes no tecido cutâneo de cães, mas podem ser encontradas no sistema gastrointestinal, fígado e baço (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). Esse tumor foi considerado como a neoplasia cutânea mais frequente por SOUZA (2005), e outros autores relataram que a frequência pode ser variável (VAIL, 1996). Somado a isso, cães das raças Boxer, Boston Terrier, Bulldogs, Bull Terrier, Dachshund e Bernese Mountain são relatados como os mais frequentemente acometidos por mastocitomas nos Estados Unidos e Alemanha (PRIESTER & MCKAY, 1980; KESSLER et al., 1997). No Brasil, COSTA-CASAGRANDE et al. (2008) realizaram estudo sobre mastocitoma canino no Estado de São Paulo e encontraram Boxer e cães sem raça definida (SRD) como as raças mais frequentes, 52,6% e 26,15%, respectivamente. Também relataram as seguintes raças Labrador, Pinscher, Dachshund, Pit Bull, Cocker Spaniel, Fila Brasileiro, Rottweiler. Na região Sul do Brasil, MEIRELLES et al. (2010) estudaram as neoplasias caninas cutâneas e, dessas, o mastocitoma foi mais frequente em cães sem raça definida (SRD), Boxer e Cocker Spaniel.

Cães machos e fêmeas são igualmente afetados (LONDON & SEGUIN, 2003) e a média de idade dos animais acometidos é de oito anos (MELEO, 1997), média essa também descrita por COSTA-CASAGRANDE et al. (2008), podendo o intervalo etário variar de oito meses a 19 anos (MEIRELLES et al., 2010). As causas, os processos moleculares e genéticos envolvidos na formação do mastocitoma ainda não foram totalmente estabelecidos. Porém, há relatos sobre anormalidades do proto-oncogene c-kit (TURIN et al., 2006; WEBSTER et al., 2007; PIMENTA, 2012) e na proteína p53 (HAYASHI & INOUE, 2004; PIMENTA, 2012).

O mastocitoma cutâneo solitário é o mais comum (94,5%), enquanto a forma múltipla ocorre em 5,5% dos casos. São relatados como locais de desenvolvimento desses tumores os membros pélvicos e torácicos, a região abdominal, o tórax, a cabeça, o períneo, o escroto e o dorso. RECH (2003) descreve que de um total de 125 casos, 32,8% localizavam-se na região torácica, seguida pelos membros locomotores (28%) e a região perineal (16%). Já ROSSETO et al., (2009) descreveram os membros locomotores como a região de maior frequência (32,08%) de um total de 134 casos, sendo a região perineal a segunda mais frequente (14,17%).

A forma visceral do mastocitoma não é frequente em cães, mas há descrição em locais como cavidade oral, nasofaringe, laringe, estômago, intestinos, fígado, baço, rim, conjuntiva e canal espinhal. Dentre esses, a cavidade oral é a região extracutânea de maior acometimento. Raças como Maltês, Chihuahua, Yorkshire Terrier, Shih Tzu e Lulu da Pomerânia apresentam predisposição ao mastocitoma de envolvimento gastrointestinal (OZAKI et al., 2002; RECH 2003; RECH 2004; DOBSON & SCASE, 2007). À análise macroscópica o mastocitoma canino apresenta formas variadas, que vão desde pápula bem delimitada até grandes massas infiltrativas, ulceradas e hemorrágicas (Figura 1A). As formas em nódulos e placas de variada dimensão, de coloração branca ou avermelhada,

também são relatadas. Além dessas, há descrição de tumores pedunculados, placas eritematosas e alopecicas e áreas com edema (VAIL, 1996; COUTO, 2001; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; DIAS, 2007).

Histologicamente, as células do mastocitoma se dispõem em forma de manto, cordões ou pequenos grupamentos (Figura 1B) separados por uma quantidade variável de estroma fibrovascular (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; DIAS, 2007).

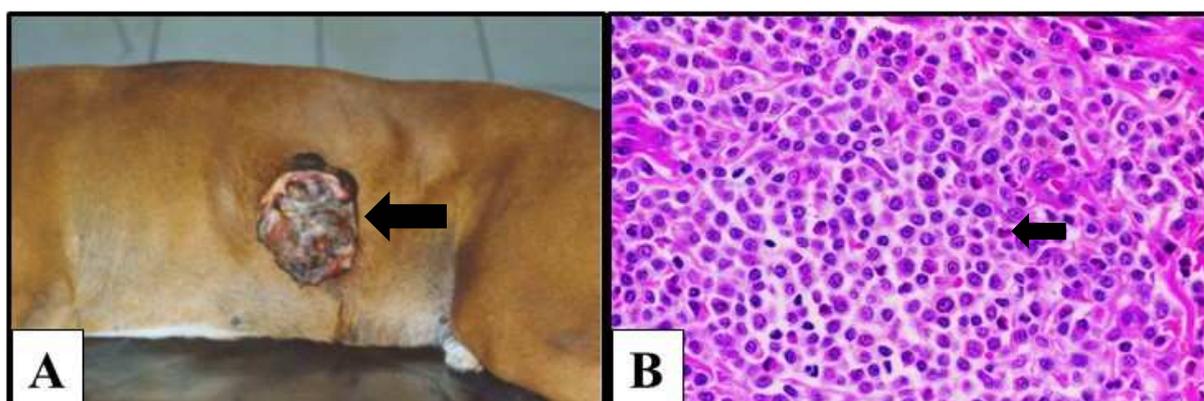


FIGURA 1 – Mastocitoma cutâneo canino. A) Massa alopecica, ulcerada e hemorrágica (seta) na região tóraco-abdominal lateral esquerda de um cão da raça Boxer. B) Fotomicrografia de mastocitoma moderadamente diferenciado, mostrando proliferação de mastócitos neoplásicos em forma de cordões, com citoplasma discretamente granular, moderado pleomorfismo celular, anisocariose, nucléolos evidentes e eosinófilos ocasionais (seta). HE, 400x.

Fonte: A) Adaptado de SOUZA (2005) e B) Adaptado de www.cal.vet.upenn.edu/projects/derm/index.html. Acesso em 23 de julho 2015.

Atualmente há dois sistemas de graduação histológica do mastocitoma canino, o de PATNAIK et al., (1984) e KIUPEL et al., (2011). O sistema descrito por PATNAIK et al., (1984) possui três categorias (I, II e III), de acordo com as características histomorfológicas da neoplasia (Quadro 1). Nesse sistema considera-se mastocitoma grau I os casos em que as células neoplásicas são bem diferenciadas, semelhantes ao mastócito maduro; o mastocitoma grau II é moderadamente diferenciado e o grau III indiferenciado, ou seja, os mastócitos neoplásicos não se assemelham à célula madura, dificultando a classificação histológica.

Já KIUPEL et al., (2011) dividiram o mastocitoma em dois grupos, também de acordo com as características microscópicas, em tumores de baixo e alto grau. No mastocitoma considerado de alto grau são observadas cariomegalia, sete mitoses por campo de aumento, no mínimo três células multinucleadas e três células com núcleos bizarros. Outras alterações microscópicas incluem infiltrado inflamatório eosinofílico, collagenose, linfangiectasia, necrose, edema e hemorragia.

Quanto a apresentação clínica do mastocitoma canino, este pode assemelhar-se a outras neoplasias que também ocorrem na forma de pápulas, nódulos, placas e massas, a exemplo do que ocorre com o linfoma. Os mastocitomas indiferenciados devem ser diferenciados dos demais tumores de células redondas, como histiocitoma, plasmocitoma, linfoma e TVT (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; HAYASHI & INOUE, 2004; MISDORP, 2004; RECH & GRAÇA, 2006). Muitas vezes, a diferenciação é possível apenas com

a utilização de técnicas imunoistoquímicas, empregando-se marcadores específicos para mastocitoma e demais neoplasias de células redondas (SANDUSKY et al., 1987; FERNANDEZ et al., 2005).

QUADRO 1 – Sistema de graduação, segundo PATNAIK et al., (1984), para classificação do mastocitoma canino.

Grau	Achados histopatológicos
Grau I	Presença de mastócitos bem diferenciados na derme superficial ou profunda, com células redondas a ovais, uniformes, tendo citoplasma abundante e bem delimitado, acentuada quantidade de grânulos citoplasmáticos, bordas citoplasmáticas distinguíveis e núcleo redondo. Há pouca variação quanto à morfologia celular e figuras de mitose são raras.
Grau II	Presença de mastócitos com diferenciação moderada, invasão da derme profunda e subcutâneo, células redondas a ovais a moderadamente pleomórficas, com raras células binucleadas, citoplasma distinto a indistinto, discreta presença de grânulos citoplasmáticos, núcleo redondo, com um ou mais nucléolos visíveis, aumento da relação núcleo/citoplasma. Discreta a moderada quantidade de figuras de mitose. As células neoplásicas estão organizadas em grupos ou cordões separados por estroma, podendo haver edema e necrose.
Grau III	Mastócitos indiferenciados que se estendem na derme e subcutâneo, células pleomórficas, anisocariose, anisocitose, células multinucleadas e gigantes em quantidade discreta a moderada, citoplasma indistinto, grânulos citoplasmáticos ausentes ou em quantidade discreta, núcleo redondo com um ou mais nucléolos proeminentes, grande número de figuras mitóticas, por vezes atípicas.

Fonte: Adaptado de PATNAIK et al., (1984).

Desordens histiocíticas

Histiócitos são células consideradas um subgrupo de leucócitos, encontradas nos tecidos e suas funções estão relacionadas ao funcionamento do sistema imunológico. Os histiócitos são originados de precursores de células tronco CD34⁺ da medula óssea, as quais se diferenciam, sob estímulo de citocinas, em células do sistema monocítico-fagocitário ou na linhagem de células dendríticas (FULMER & MAULDIN, 2007). As desordens histiocíticas em cães incluem histiocitoma cutâneo, sarcoma histiocítico localizado e sarcoma histiocítico disseminado, classificados como neoplasias. Os termos histiocitose cutânea e histiocitose sistêmica são consideradas alterações reativas dos histiócitos (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; MOORE et al., 2006).

O histiocitoma cutâneo é definido como proliferação reativa das células de Langerhans da epiderme, as quais são apresentadoras de antígenos e estão localizadas entre os queratinócitos ou ceratinócitos. A função dessas células envolve o reconhecimento de antígenos e processamento e apresentação aos linfócitos T nos linfonodos regionais. Marcadores imunofenotípicos das células de Langerhans incluem MHC-I, MHC-II, CD1a, CD1c, CD11b, CD11c, CD18, CD44, CD45, CD45R, CD49d, ICAM-1 e E-caderina. Certa limitação ao uso de alguns desses marcadores deve-se ao fato da necessidade de amostras congeladas e/ou frescas. Para tecidos

incluídos em parafina são mais utilizados CD45, CD45R, CD18 e E-caderina (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

ARAUJO (2011), ao analisar um total de 449 tumores de células redondas em cães, encontrou que o histiocitoma foi a segunda neoplasia mais frequente, com 45 casos. ANDRADE et al., (2012) o relataram como a terceira neoplasia cutânea mais frequente em cães, com 10 casos em um total de 136 amostras avaliadas. O histiocitoma também foi relatado como a quarta neoplasia mais frequente dos tumores mesenquimais cutâneos caninos (SOUZA, 2005). Trata-se de uma neoplasia benigna, frequentemente apresentada sob a forma de nódulo único, mas há relatos da forma múltipla. A maior parte dos histiocitomas (70%) ocorre em cães jovens, com idade inferior a quatro anos, porém podem ocasionalmente acometer cães adultos e idosos. Não há predileção quanto à raça e gênero (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

O histiocitoma cutâneo canino possui crescimento rápido e macroscopicamente forma nódulos ou placas eritematosas, em forma de cúpula, conhecidos pelo termo “tumor em botão”. Os nódulos em sua maioria são únicos, pequenos (aproximadamente 3cm), delimitados, firmes, alopecicos (Figura 2A), por vezes ulcerados e possuem também umbilicação central. Os sítios anatômicos mais frequentes desse tumor são cabeça e pavilhão auricular, podendo também se desenvolver no pescoço e nos membros locomotores. Ao analisar a superfície de corte desses tumores a consistência é macia, coloração branca a levemente amarelada e também podem ser constatados focos de necrose. As nodulações são geralmente únicas, mas alguns cães apresentam múltiplos tumores que se desenvolvem sincronicamente ou sequencialmente (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006).

À avaliação microscópica os histiocitomas compreendem nódulos circunscritos, não encapsulados, com células infiltrando a derme superficial e profunda. As células tumorais possuem formato redondo a poligonal e são dispostas em manto ou cordões. Na região transicional epidermo-dermal as células arranjam-se em cordões paralelos soltos, separados por fino estroma. Em alguns casos são visualizadas células neoplásicas no interior dos estratos epidérmicos, mimetizando os chamados micro abscessos de Pautrier, característicos do linfoma cutâneo epiteliotrópico. As células apresentam núcleo redondo, oval ou reniforme, o nucléolo é pequeno e pouco perceptível. O citoplasma é abundante, de coloração pálida a eosinofílica e contendo ocasionais vacúolos (Figura 2B). Observam-se anisocitose e anisocariose em intensidade moderada. As figuras de mitose são frequentemente visualizadas, mas atipia nuclear e polimorfismo não são comuns. Focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na derme superficial podem estar presentes e acredita-se que esse achado esteja relacionado a resposta imune e regressão tumoral. Achados como úlceras e necrose podem estar presentes em lesões crônicas. A excisão cirúrgica, antes da regressão, é considerada o protocolo de eleição para o tratamento do histiocitoma, sendo o prognóstico comumente favorável (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006).

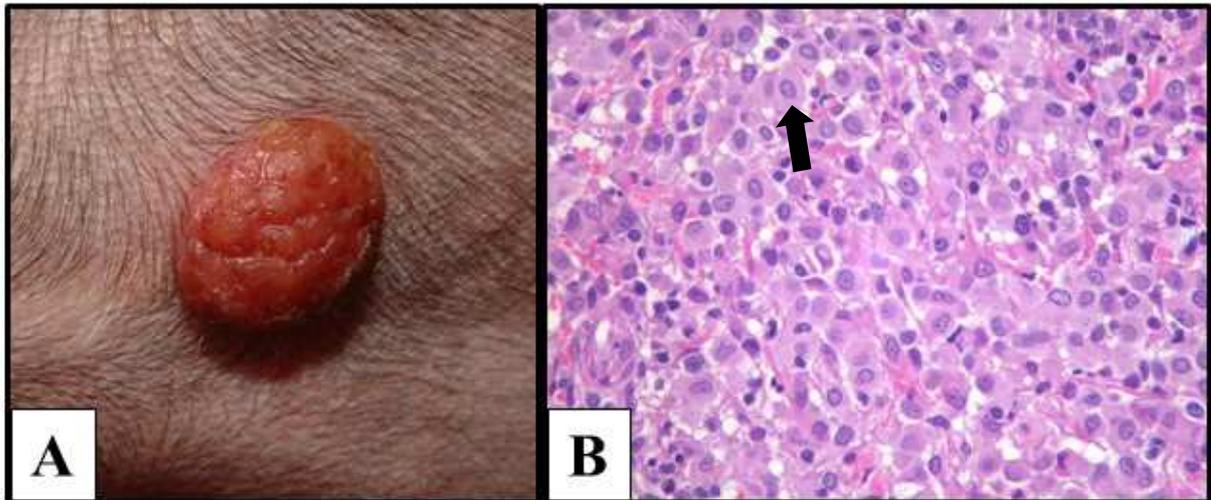


FIGURA 2 – Histiocitoma cutâneo canino. A) Nódulo alopecico, ulcerado e firme na pele de um cão. B) Fotomicrografia de histiocitoma, proliferação de histiócitos neoplásicos em forma de manto, separados por fino estroma. Citoplasma abundante e eosinofílico (seta), núcleos redondos a reniformes, moderado pleomorfismo celular e anisocariose. HE, 400x.
 Fonte: A) Adaptado de www.petcare.com.br; B) Adaptado de www.histovetblog.com. Acesso em 23 de julho 2015.

O termo sarcoma histiocítico refere-se à proliferação maligna de histiócitos, que ocorre de forma localizada ou disseminada. Trata-se de neoplasia localmente invasiva, podendo haver metástase em linfonodos regionais. O sítio anatômico de predileção dessa neoplasia é o tecido subcutâneo, porém há relatos no pulmão, baço, sistema nervoso central (SNC), cavidade nasal e medula óssea. A forma disseminada do sarcoma histiocítico afeta vários sistemas e se caracteriza pelo desenvolvimento de massas em órgãos como pulmão, baço e medula óssea. A origem das células do sarcoma histiocítico canino ainda é incerta, mas, em humanos, o sarcoma histiocítico é originado de macrófagos ou de células dendríticas apresentadoras de antígeno mieloides (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

De acordo com AFFOLTER & MOORE (2002), o sarcoma histiocítico acomete cães adultos a idosos, podendo a faixa etária variar de dois a 13 anos, sem predileção por gênero, sendo as raças Rottweiler, Bernese Moutain, Golden Retriever e Labrador Retriever as mais predispostas. As lesões cutâneas do sarcoma histiocítico apresentam-se como nódulos ou massas, únicos ou múltiplos, de coloração avermelhada. Os nódulos podem ser alopecicos ou ulcerados, atingem a derme ou subcutâneo principalmente dos membros locomotores, regiões periarticulares, como articulação do joelho e cotovelo. Compreende neoplasia infiltrativa, podendo as células tumorais invadir músculos, tendões e ligamentos da região (GROSS et al., 2006).

As alterações histológicas relatadas por AFFOLTER & MOORE (2002) correspondem às descritas por outros autores (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006), que se referem a essas neoplasias como massas infiltrativas, pouco delimitadas, compostas por proliferação de células neoplásicas pleomórficas. Essa proliferação histiocítica é composta por dois tipos celulares, sendo o primeiro constituído por células grandes, de formato arredondado, citoplasma abundante e anfófilico. A segunda forma celular refere-se à proliferação de células volumosas, fusiformes e com prolongamentos citoplasmáticos. As células

possuem acentuada anisocariose, núcleo grande, redondo a oval e com um ou mais nucléolos evidentes. Também são vistos núcleos mais alongados, com cromatina condensada. Figuras mitóticas e células gigantes multinucleadas são frequentes, assim como há fagocitose de células inflamatórias pelas células neoplásicas.

O diagnóstico definitivo é estabelecido a partir das avaliações: histológica e imunoistoquímica, já que clinicamente a neoplasia assemelha-se a outros tumores de células redondas e, no passado, casos de sarcoma histiocítico foram interpretados como linfoma histiocítico. O prognóstico é reservado, porém, quando diagnosticado precocemente e realizada a excisão cirúrgica quando ainda não há sinal de metástase aos linfonodos, o prognóstico pode ser favorável (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

Plasmocitoma

Tumores plasmocitários extra medulares compreendem proliferação neoplásica de plasmócitos sem envolvimento da medula óssea, sendo denominados plasmocitomas extra medulares ou plasmocitomas extra ósseos. Na década de 80, histiocitoma atípico e sarcoma de células reticulares foram sinônimos atribuídos ao atualmente denominado plasmocitoma. Já o termo mieloma refere-se à proliferação neoplásica de plasmócitos a partir da medula óssea (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). Em cães, a neoplasia de plasmócitos é incomum, representando aproximadamente 3% dos desenvolvimentos neoplásicos e, em gatos, é considerada rara, sendo observada em apenas 1% dos casos. A faixa etária de cães mais acometida por plasmocitoma é a de animais adultos a idosos, com aproximadamente 10 anos. GIBSON et al. (1997) relataram plasmocitoma maligno articular em um Labrador de 11 anos de idade e em um Rottweiler de oito anos.

OZKAN et al. (2014) descreveram plasmocitoma disseminado em um cão com cinco anos de idade. Não há predisposição racial, mas algumas raças foram relatadas em maior frequência, como Cocker Spaniel, Poodle, Airedale Terrier, Boxer e Scottish Terrier (GINN et al., 1993). Plasmocitomas extramedulares em cães costumam localizar-se na cabeça, pavilhão auricular e dígitos, mas tronco e membros locomotores foram relatados como os locais anatômicos mais acometidos pela neoplasia (CANGUL et al., 2002). Outros autores encontraram maior frequência de plasmocitoma em membros pélvicos e mucosa oral (PLATZ et al., 1999). O plasmocitoma ocorre isoladamente ou em múltiplas áreas do tecido cutâneo (GIBSON et al., 1997) e há relatos em articulações de cães de grande porte (OZKAN et al., 2014).

Macroscopicamente, plasmocitomas formam pápulas ou nódulos elevados e firmes, medindo, em média, 2cm de diâmetro, possuem coloração rósea ou vermelha, superfície lisa, limite circunscrito (Figura 3A) e alguns são pedunculados. Alopecia e ulceração são achados ocasionais e, à superfície de corte, o aumento apresenta consistência macia ou firme, coloração que varia do marrom ao vermelho em associação a focos hemorrágicos (GINN et al., 1993; JONES et al., 2000; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; MEDLEAU & HNILICA, 2003; GROSS et al., 2006). BAER et al., (1989) relatam que os tumores nos dígitos de 15 cães possuíam úlceras superficiais e hemorragias. Os autores descrevem também que do total de 46 casos de plasmocitoma, nenhum possuía cápsula, mas eram nódulos bem delimitados e de consistência macia.

Na visualização microscópica, o plasmocitoma constitui-se de proliferação bem delimitada de células redondas, com disposição em forma de manto, cordões, trabéculas ou ninhos. Essa proliferação é permeada por estroma composto de fibras

colágenas. As células neoplásicas podem variar quanto à morfologia desde plasmócitos pequenos, com núcleo redondo e excêntrico, até células grandes, com moderada quantidade de citoplasma anfiófilico ou eosinofílico, núcleo redondo a oval e nucléolo evidente. Um achado frequente nessas células é a presença de uma área perinuclear clara, visualmente perceptiva à microscopia óptica, correspondente ao complexo de Golgi (GINN et al., 1993; BAER et al., 1989; JONES et al., 2000; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; MEDLEAU & HNILICA, 2003; GROSS et al., 2006).

Células binucleadas ou multinucleadas (Figura 3B) são frequentemente encontradas. Também pode ser observado citoplasma agranular, discretamente granular ou com grandes grânulos avermelhados (corpúsculos de Russel), assim como figuras de mitose em quantidade discreta a moderada. Essas características histomorfológicas podem sugerir neoplasia maligna, porém o comportamento biológico dos plasmocitomas é comumente benigno (GINN et al., 1993; JONES et al., 2000; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). O prognóstico do plasmocitoma cutâneo é favorável, já que metástases e recidivas são raras (GINN et al., 1993; BAER et al., 1989; JONES et al., 2000; MEDLEAU & HNILICA, 2003; GROSS et al., 2006).

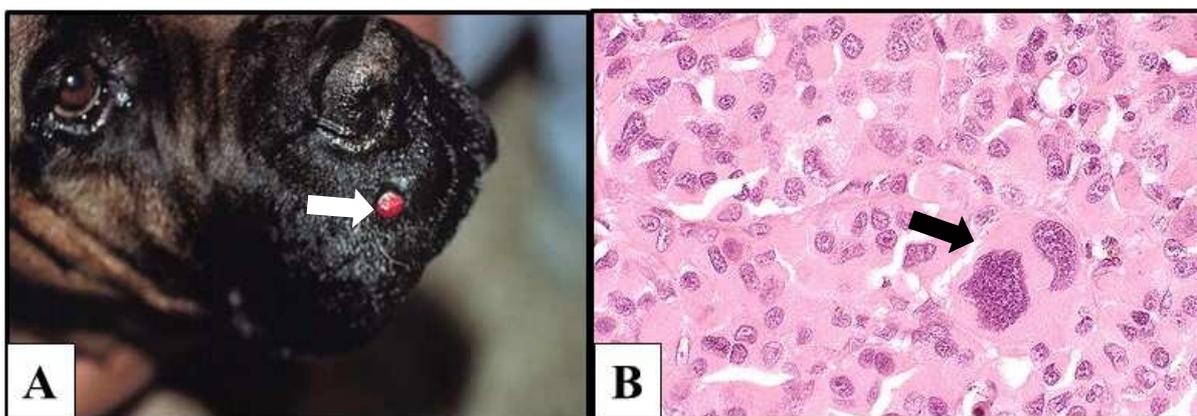


FIGURA 3 – Plasmocitoma cutâneo canino. A) Pequeno nódulo alopecico, avermelhado (seta), firme, circunscrito no lábio superior de um cão da raça Boxer. B) Fotomicrografia de plasmocitoma. Proliferação de plasmócitos neoplásicos, com citoplasma abundante e eosinofílico, núcleo redondo e excêntrico, moderado pleomorfismo celular e presença de célula gigante binucleada (seta). HE, 400x.

Fonte: A) Adaptado de www.cal.vet.upenn.edu/projects/derm/index.html; B) Adaptado de www.askjpc.org. Acesso em 23 de julho 2015.

Linfoma

O linfoma canino é considerado uma das neoplasias mais frequentes dessa espécie, correspondendo de 7-24% de todos os tumores em cães e a 83% das neoplasias de origem hematopoietica. Alguns autores descrevem linfossarcoma e linfoma maligno como termos sinônimos a linfoma, que compreende o vocábulo mais utilizado (TESKE et al., 1994; MILNER et al., 1996; VONDERHAAR & MORRISON, 1998). A etiologia dessa neoplasia em cães ainda é desconhecida (TESKE et al., 1994; SEQUEIRA et al., 1999), ressaltando-se que não foram encontradas partículas virais, diferentemente do que ocorre com alguns tipos de linfoma em felinos (VAIL & MACEWEN, 2001) e bovinos (BARROS; 2007), nos quais

o desenvolvimento pode estar associado ao vírus da leucemia felina (FeLV) e ao vírus da leucose bovina, respectivamente.

Linfomas acometem cães adultos a idosos, entre cinco e 11 anos de idade. Dentre as raças predispostas incluem-se Boxer, Scottish Terrier, Basset Hound, Airedale Terrier, Chow Chow, Pastor Alemão, Poodle, São Bernardo, Beagle, Golden Retriever e Bulldog (TESKE et al., 1994; VONDERHAAR & MORRISON, 1998; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). De acordo com a localização anatômica, o linfoma canino pode ser classificado em multicêntrico, digestivo, tímico, cutâneo e solitário (Quadro 2) (JACOBS et al., 2002). CARDOSO et al., (2003) relatam a forma multicêntrica como a mais comum e a tímica a segunda mais frequente. Já MORENO et al., (2007) descrevem a forma multicêntrica, de igual modo, como a mais frequente, seguida da cutânea, sendo a forma tímica considerada a menos frequente.

QUADRO 2 – Classificação dos linfomas caninos de acordo com a localização anatômica, segundo descrito por JACOBS et al., (2002)

Forma	Localização
Multicêntrica	Linfonodos periféricos e profundos, podendo envolver órgãos como fígado, baço, rins, pulmão, coração, trato digestivo e SNC.
Digestiva	Trato gastrointestinal e linfonodos regionais, podendo envolver o fígado.
Tímica	Localiza-se no timo e linfonodos regionais.
Cutânea	Envolve a pele sob a forma de massas solitárias ou múltiplas. Pode ou não haver envolvimento sistêmico.
Solitária	Acomete apenas um órgão.

Linfomas são ainda classificados de acordo com características histomorfológicas, para as quais foram estabelecidos sistemas de classificação primeiramente utilizados para classificar linfomas da espécie humana e, posteriormente, empregados para a mesma neoplasia nos cães. O sistema de classificação de RAPPAPORT (1966) é o mais antigo e considera o linfoma de grandes células com o termo histiocítico. Posteriormente, outros sistemas de classificação para os linfomas na espécie humana foram propostos, incluindo o de LUKES-COLLINS (1974), na América do Norte, e *Working Formulation* (WF) (NCI, 1982) e Kiel (LENNERT-KIEL et al., 1978) na Europa.

As classificações WF e Kiel são as mais utilizadas na medicina. Na WF, os linfomas são classificados de acordo com o padrão tecidual em folicular (casos em que há o envolvimento apenas dos folículos linfóides) ou difuso (casos em que os linfócitos neoplásicos estão dispersos por todo o órgão). A WF também permite classificar a neoplasia de acordo com o tipo celular em linfoma linfocítico, linfoma de pequenas células clivadas, linfoma de células mistas, linfoma de grandes células não clivadas e linfoma imunoblástico (NCI, 1982). Já a classificação de Kiel utiliza além das características morfológicas, análises imunofenotípicas, agrupando os linfomas quanto a origem nos linfócitos T ou B (LENNERT-KIEL et al., 1978).

A forma cutânea do linfoma canino, conforme objetivo desta revisão, é reconhecida sob duas versões, epiteliotrópica e não-epiteliotrópica, que podem ainda ser classificadas quanto a origem T ou B dos linfócitos. Os linfomas B não-epiteliotrópicos são frequentes em várias espécies e os do tipo T são menos comuns em cães, gatos, bovinos e equinos. Mucose fungoide, síndrome de Sézary e

reticulose pagetoide são caracterizadas como linfomas epiteliotrópicos. Essas três formas possuem similaridade histológica, com as células neoplásicas infiltrando a epiderme. Os principais sítios anatômicos do linfoma cutâneo canino são cabeça, abdômen, tórax, membros locomotores e dorso (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002).

Linfoma cutâneo epiteliotrópico

Linfoma cutâneo epiteliotrópico ou micose fungoide (Figura 4A) é incomum e caracterizado histologicamente pela infiltração de células neoplásicas na epiderme e estruturas anexas. Micose fungoide tem sido relatada em caninos, felinos, equinos, bovinos e coelhos. Esse tipo de linfoma acomete cães idosos, entre nove e 12 anos de idade, sem predileção quanto ao sexo ou raça, sendo caracterizado em quatro formas. A primeira refere-se a uma lesão em forma de erupção eritematosa, pruriginosa e descamativa, a qual é indistinguível de dermatoses inflamatórias ou alérgicas. A segunda caracteriza-se por pápulas, nódulos ou placas, que podem ser solitárias ou múltiplas. A terceira é descrita nas junções mucocutâneas, pode ser visualizada como ulcerações associadas à despigmentação, devendo ser diferenciada de dermatoses autoimunes. A quarta e última forma é caracterizada pelo aspecto ulcerativo da mucosa oral (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; MISDORP, 2004).

A síndrome de Sézary descrita em caninos e felinos possui maior grau de agressividade e caracteriza-se por eritroderma difuso, esfoliativo e pruriginoso, podendo formar placas ou nódulos. A diferenciação dessa síndrome para micose fungoide é realizada pela visualização de células de Sézary-Lutzner na corrente sanguínea. Nesse tipo de linfoma de células T podem ocorrer metástases para linfonodos (GINN et al., 1993; THRALL et al., 1984). A reticulose pagetoide ou doença de Woringer-Kolopp também foi descrita em cães. Essa forma de linfoma acomete as extremidades distais dos membros locomotores, onde se formam placas ou massas solitárias com presença de eritema e escamas (JOHNSON & PATTERSON, 1981).

Ao analisar microscopicamente os linfomas epiteliotrópicos observa-se proliferação de linfócitos neoplásicos na derme superficial e nas adjacências dos folículos pilosos. As células podem comprimir e infiltrar a epiderme. Quando tal condição ocorre, formam-se agregados intraepidérmicos denominados micro abscessos de Pautrier. Os linfócitos são grandes, o citoplasma abundante e o núcleo pode apresentar-se em forma de bastão, contorcido (“células de micose”) ou de aspecto cerebriforme (células de Sézary-Lutzner). A infiltração epidermal, formando microabscessos de Pautrier (Figura 4B) é considerada achado característico do linfoma epiteliotrópico, porém podem não ser encontrados caso a epiderme estiver ulcerada ou hipoplásica. A reticulose pagetoide possui as mesmas alterações histológicas descritas acima, somado a acantose e hiperqueratose (GINN et al., 1993; JONES et al., 2000; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006).

Como diagnósticos diferenciais do linfoma epiteliotrópico, do ponto de vista clínico, são incluídas as dermatopatias com eritroderma difuso e as neoplasias que formam pápulas, nódulos e placas. Na análise histológica deve-se diferenciar das dermatites de interface encontradas em dermatopatias autoimunes, e também diferenciar de outros tumores de células redondas, especialmente os de origem histiocítica e plasmocítica. O prognóstico do linfoma epiteliotrópico em cães é desfavorável e muitos possuem sobrevida de, no máximo, um ano após confirmado o diagnóstico (JONES et al., 2000; GROSS et al., 2006).

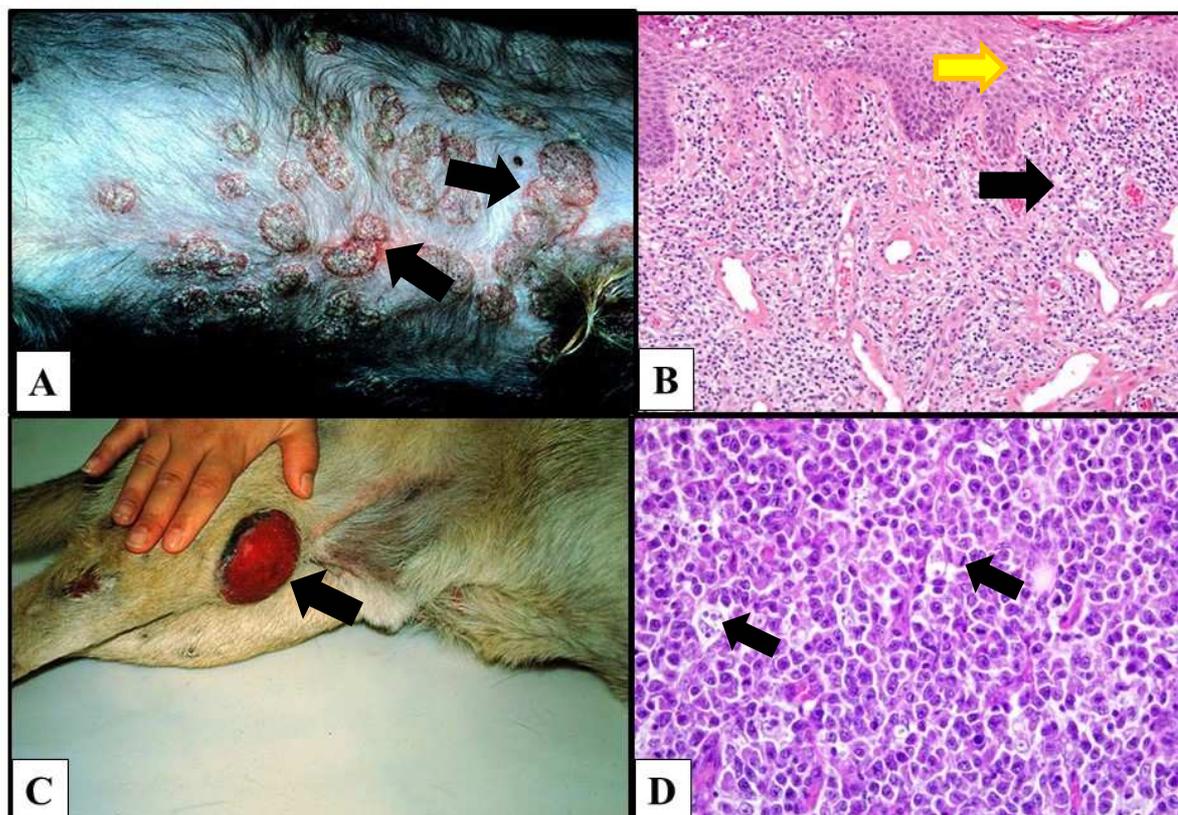


FIGURA 4 – Linfoma cutâneo canino. A) Linfoma epiteliotrópico – Micose fungoide, erupções multifocais a coalescentes (setas), eritematosas, descamativas, pruriginosas na região abdominal ventral de cão. B) Fotomicrografia de linfoma epiteliotrópico, micose fungoide – infiltração de linfócitos neoplásicos na derme superficial (seta preta), núcleos redondos a ovais, moderado pleomorfismo. Há também linfócitos neoplásicos juntoaos extratos da epiderme, característico de microabscessos de Pautrier (seta amarela). HE, 200x. C) Linfoma não-epiteliotrópico - Nódulo alopecico, avermelhado, firme (seta), circunscrito no membro pélvico direito de um cão. D) Fotomicrografia de linfoma não-epiteliotrópico, proliferação de linfócitos neoplásicos em forma de manto, separados por um fino estroma. Citoplasma escasso e basofílico, núcleos redondos a ovais, anisocariose, anisocitose, nucléolos evidentes, moderado número de mitoses (setas pretas). HE, 400x. C) Fonte: A e C) Adaptado de www.cal.vet.upenn.edu/projects/derm/index.html; B) Adaptado de www.plaza.umin.ac.jp; D) www.askjpc.org; Acesso em 23 de julho 2015

Linfoma cutâneo não-epiteliotrópico

Essa neoplasia linfoide do tecido cutâneo é pouco frequente nos animais e afeta cães, gatos, equinos, bovinos e suínos. Em cães, as raças predispostas são Beagle, Pastor Alemão, Golden Retriever, Cocker Spaniel, Bulldogue, Briard e Scottish Terrier (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). Macroscopicamente o linfoma não-epiteliotrópico se caracteriza por nódulos ou massas, os quais alopecicos e ulcerados, únicos ou múltiplos, de coloração avermelhada (Figura 4C) e localização dérmica ou subcutânea. Microscopicamente essa neoplasia consiste em

uma proliferação em manto de células arredondadas, com núcleo redondo e citoplasma escasso (Figura 4D). A proliferação celular é mais frequente na derme profunda, porém pode infiltrar a derme superficial e não há invasão das camadas da epiderme. Os tipos celulares encontrados são linfócitos pequenos (linfoma de pequenas células), grandes linfócitos blásticos (linfoma de grandes células) ou a associação das duas formas, assim considerada linfoma misto. Apoptose e figuras de mitose são variáveis em quantidade e quanto o maior grau de diferenciação das células neoplásicas, menor a quantidade de mitoses (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006).

A diferenciação clínica do linfoma não-epiteliotrópico com outras neoplasias cutâneas que ocorrem sob a forma de nódulos ou massas é algo desafiador. Faz-se necessária a realização de exame histopatológico para o diagnóstico e, no caso de tumores indiferenciados, a IHQ representa ferramenta útil ao diferencial entre os demais tumores de células redondas. O prognóstico de cães com linfoma cutâneo não-epiteliotrópico é desfavorável (GINN et al., 1993; JONES et al., 2000; MISDORP, 2004).

Tumor venéreo transmissível (TVT)

O TVT, também conhecido como tumor de Sticker, linfossarcoma infeccioso, granuloma venéreo, condiloma canino e tumor de células reticulares, é considerado um tumor de células redondas, com localização primária na genitália de cães e de histogênese ainda discutível (DALECK et al., 2009; STOCKMANN et al., 2011). Uma classificação do TVT foi proposta considerando as características citomorfológicas e agrupa a neoplasia de acordo com o tipo celular em linfocitoide, plasmocitoide e misto (FLORÉZ et al., 2012).

O sítio anatômico mais comum do TVT é na genitália externa de cães susceptíveis, por meio da transplantação de células neoplásicas após o coito. Além desse local, há relatos de TVT extragenital envolvendo glândula mamária, cavidade oral, globo ocular, focinho, tecido subcutâneo e membros locomotores (PARK et al., 2006; AMARAL et al., 2012). Cães de ambos os sexos, de todas as idades e raças são predispostos a essa neoplasia, porém relata-se maior ocorrência em cães sexualmente ativos (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). Já BRANDÃO et al., (2002) descrevem maior ocorrência de TVT em cadelas e AMARAL et al., (2004) relatam o macho como mais predisponente.

Os animais sob maior risco de desenvolver TVT são aqueles que convivem em áreas onde há grande concentração de cães errantes. SOUSA et al., (2000) e BRANDÃO et al., (2002) descrevem que o TVT é mais comum em cães sem raça definida (SRD), fato esse devido à maior quantidade desses animais e a desvalorização dos mesmos, favorecendo aglomerações nos centros urbanos.

Na análise macroscópica do TVT cutâneo são visualizados nódulos ou massas, que podem ser únicos ou múltiplos, verrucosos (Figura 5A) ou pedunculados, firmes ou friáveis, e o diâmetro variável entre 1- 20cm. Na inspeção da superfície da neoformação são vistas áreas de ulceração, aspecto liso ou granular e hemorrágicas. À histopatologia a neoplasia é composta de proliferação de células com formato redondo ou oval (Figura 5B), dispostas em forma de manto ou cordões. O núcleo das células é grande, redondo e central, a cromatina condensada e os nucléolos evidentes. O citoplasma é de quantidade moderada, discretamente basofílico e, por vezes, vacuolizado. Há acentuada quantidade de figuras de mitose e nos tumores em fase de regressão são visualizados com maior frequência

inflamação, necrose e fibrose (GINN et al., 1993; GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2006).

Clinicamente e histologicamente o TVT também deve ser diferenciado de outras neoplasias cutâneas que formam nódulos, massas, especialmente dos demais tumores de células redondas, pela similaridade citomorfológica. O prognóstico é favorável, na maioria dos casos os animais se recuperam com tratamento quimioterápico, porém há relatos de recidivas (GINN et al., 1993; MACEWEN, 2001; SUSANECK, 2004; GROSS et al., 2006). O diagnóstico do TVT pode ser firmado por citologia e histopatologia, que são técnicas comumente utilizadas devido a facilidade de execução, baixo custo e risco mínimo. As formações de TVT possuem alta densidade celular, devido a isso, a citopatologia tem sido o método de escolha na rotina clínica (SÁNCHEZ-SERVÍN et al., 2009; TROMPIERI-SILVEIRA et al., 2009). Além disso, a citologia é menos invasiva, de fácil execução e há maior preservação da morfologia celular quando comparada com a histologia (AMARAL, 2005).

As técnicas citológicas incluem a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) e citologia de impressão ou *imprint* (DAS & DAS, 2000). A CAAF é a técnica para se obter células de uma lesão por meio de aspiração com agulha de diâmetro entre 22 e 25 G ou menor. Já a citologia por impressão é o método em que são obtidas células superficiais por meio da compressão de uma lâmina histológica contra a superfície do tecido lesionado, sendo esta mais utilizada nos casos de TVT de localização genital em virtude de este apresentar superfície ulcerada e alto grau de descamação celular (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002; AMARAL, 2005).

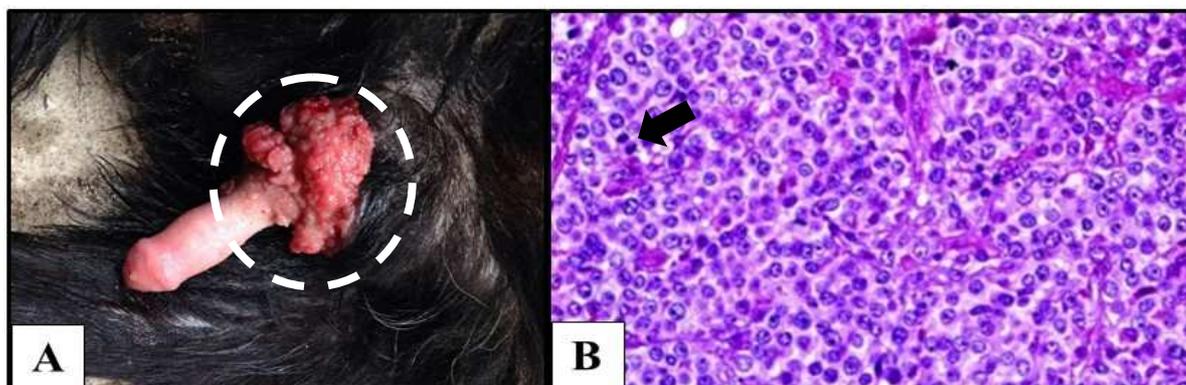


FIGURA 5 – Tumor venéreo transmissível canino. A) Crescimento proliferativo, aspecto verrucoso (área tracejada), friável, avermelhado na mucosa peniana de um cão. B) Fotomicrografia de TVT canino, proliferação de células neoplásicas, separadas por um fino estroma. Núcleos redondos a ovais, centrais, cromatina condensada, nucléolo evidente, citoplasma quantidade moderada, basofílico, moderada quantidade de mitoses (seta). HE, 400x.

Fonte: A) www.globalvets.wordpress.com; B) www.4vets.com.br. Acesso em 23 de julho 2015

Microscopicamente o TVT é composto por células redondas, arranjadas de forma compacta e dispostas em cordões, separadas por um discreto estroma fibrovascular (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). O núcleo é grande, único, redondo a oval, hipercromático, centralizado, com cromatina granular e nucléolo evidente. O citoplasma é moderado, discretamente eosinofílico, com bordas indistintas e presença de vacúolos, que são múltiplos, pequenos, claros e de localização periférica (LIAO et al., 2003; PARK et al., 2006). Porém, ROGERS

(1997) relata que determinadas células do TVT podem não apresentar vacúolos intracitoplasmáticos.

Na década de 90, pesquisadores iniciaram a tipificação do TVT em virtude da hipótese de que os diferentes tipos poderiam apresentar comportamentos biológicos distintos quando submetidos ao tratamento quimioterápico. FLOREZ et al., (2012) propuseram, recentemente, baseadas nas características citomorfológicas, a classificação do TVT em três tipos plasmocitoide, linfocitoide (Figura 6) e misto. Essa classificação objetivou a padronização do estadiamento do TVT e melhor compreensão das formas desse tumor. Os autores descrevem que o tipo linfocitoide apresenta-se com mais de 60% das células de morfologia redonda, citoplasma discretamente granular, poucos vacúolos claros, núcleo redondo e centralizado, cromatina grosseira e um ou mais nucléolos evidentes. A forma plasmocitoide possui mais de 60% das células em formato ovoide, núcleo de localização excêntrica, citoplasma abundante e com múltiplos vacúolos claros. No tipo misto o padrão celular é uma combinação entre os tipos linfocitoide e plasmocitoide, e nenhum tipo celular excede o total de 59%.

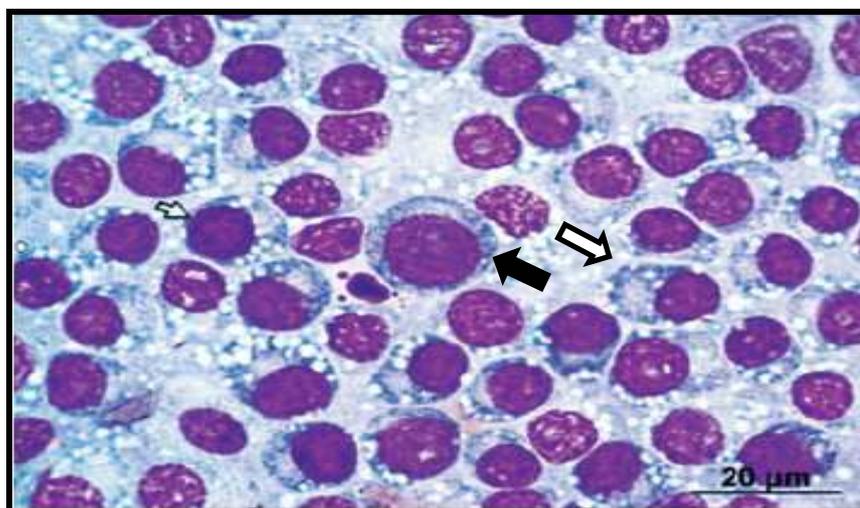


FIGURA 6 – Fotomicrografia dos aspectos citomorfológicos, por meio da CAAF, do TVT canino. Evidenciam-se células de morfologia linfocitoide (seta preta) e plasmocitoide (seta branca), em um mesmo campo. Giemsa, 400x.

Fonte: Adaptado de FLOREZ et al., (2012)

Marcadores imunoistoquímico sem neoplasias de células redondas

O diagnóstico histomorfológico em medicina veterinária é baseado principalmente em técnicas de colorações histológicas de rotina, como é o caso da Hematoxilina e Eosina (HE) e, menos frequentemente, em outras técnicas histoquímicas. Entretanto, a demanda dos segmentos especializados da medicina veterinária, como a oncologia, contribui para o desenvolvimento de técnicas avançadas de auxílio ao diagnóstico preciso, especialmente de neoplasias, nas quais a predição prognóstica e o tratamento costumam ser únicos e diretamente relacionados aos achados laboratoriais. A exemplo do que ocorre na medicina, a IHQ vem se consagrando como uma das mais importantes técnicas de caracterização do câncer (RAMOS-VARA et al., 2008), embora o alto custo ainda compreenda entrave a sua ampla utilização na rotina diagnóstica dos laboratórios de patologia veterinária.

O método imunistoquímico deve ser utilizado em conjunto aos métodos histoquímicos de rotina para o diagnóstico de neoplasias, sendo muito útil ao diagnóstico dos tumores de células redondas, especialmente os de pouca diferenciação. Uma das limitações da IHQ em veterinária é o fato da pouca disponibilidade no mercado de anticorpos produzidos para uso específico em tecidos animais, ao contrário do que ocorre com os anticorpos para uso em tecido humano, os quais possuem ampla disponibilidade, mas há necessidade de validação para a utilização em tecidos animais (HAINES & CHELACK, 1991).

Outros fatores limitantes da técnica incluem o alto custo do procedimento, assim patologistas veterinários muitas vezes optam por utilizar um ou dois anticorpos para determinar o diagnóstico, limitando a confiabilidade dos resultados caso utilizem anticorpos inespecíficos. O emprego de um painel de anticorpos restrito pode ser vantajoso no diagnóstico de tumores bem diferenciados, porém no caso de neoplasias de alto grau de indiferenciação, um painel com reduzido número de anticorpos pode ser desafiador ao diagnóstico definitivo (FERNANDEZ et al., 2005). Os tumores de células redondas possuem semelhanças morfológicas à análise microscópica, dificultando a precisa diferenciação entre os mesmos. Triptase, quimase e serotonina são enzimas encontradas no citoplasma de mastócitos, das quais triptase e quimase são específicas dessas células (KUBE et al., 1998). Já a serotonina é uma amina pré-formada e estocada sob a forma de grânulos no citoplasma de mastócitos, porém encontrada também em outros tecidos (WELLE, 1997).

Triptases dos mastócitos são enzimas do grupo das peptidases e clivam peptídeos e substratos proteicos. É armazenada no citoplasma dessas células, dentro de vacúolos secretórios. Quando há degranulação dos mastócitos, é responsável pela resposta imunoalérgica, sendo liberada juntamente com histamina, heparina e proteoglicanos. As quimases são expressas seletivamente pelos mastócitos, fazendo parte do grande grupo de peptidases semelhantes a quimotripsina. A catepsina G também é incluída nesse grupo. Em cães e humanos, a quimase dos mastócitos é produto do gene CMA1 (CAUGHEY, 2007).

KIPEL et al., (2004), em um estudo de 98 mastocitomas cutâneos em cães, por meio da IHQ, encontraram 15 casos (15,3%) com marcação difusa e acentuada para triptase nos mastócitos. Ainda, 59 (60,2%) apresentaram imunomarcação moderada e 24 (24,5%) discreta imunomarcação de triptase citoplasmática. A enzima triptase também foi avaliada no mastocitoma gastrointestinal de cães por OZAKI et al., (2002), que relatam que dos 39 casos diagnosticados histologicamente como mastocitoma, 62% foram positivos para a imunomarcação de triptase.

Em um estudo de diagnóstico diferencial dos tumores de células redondas cutâneos caninos, realizado por FERNANDEZ et al., (2005), os autores realizaram IHQ para triptase e quimase em cada tipo de mastocitoma. Desses, 7/7 (100%) mastocitomas grau I, 6/7 (85,7%) grau II e 3/7 (42,9%) grau III foram positivos para ambos os anticorpos. Os pesquisadores ponderam que quanto maior o grau de diferenciação do mastocitoma, maior a expressão de triptase e quimase. Assim, tumores pouco diferenciados apresentarão pouca imunomarcação para essas enzimas. Outro marcador atualmente estudado e utilizado para a marcação de mastócitos neoplásicos é o c-kit (PIMENTA, 2012). A proteína KIT pode ser identificada em células hematopoiéticas como os mastócitos. Essa proteína é codificada pelo proto-oncogene c-kit (CD117), sendo que sua fosforilação promove a ativação de receptores tirosina quinase em mastócitos, favorecendo a maturação,

proliferação e ativação de receptores do fator de crescimento de células precursoras ou SCF (*Stem Cell Factor*). Ações constantes nos receptores de KIT ou SCF podem provocar mutações do domínio justamembrânico do gene *c-kit*, favorecendo o desenvolvimento de células tumorais (LONDON et al., 1999; LONGLEY & METCALFE, 2000).

REGUERA et al., (2000) relacionam a expressão do receptor de KIT com o grau histológico do mastocitoma. Nos tumores grau I (bem diferenciados) a expressão de KIT foi fraca e, nos menos diferenciados (grau III), foi encontrada alta expressão dessa proteína. Contrapondo a isso, ARAUJO et al., (2012) diagnosticaram histologicamente 107 mastocitomas cutâneo sem cães e descreveram que 34 dos 35 classificados como grau I, 27 dos 29 como grau II e 17 dos 41 como grau III, foram positivos para *c-KIT*. Quanto maior a malignidade, ou seja, quanto mais indiferenciado é o mastocitoma, menor a imunexpressão de *c-KIT*.

KIUPEL et al., (2004) elaboraram uma hipótese sobre a imunomarcagem de KIT em que a localização desse marcador na célula neoplásica relaciona-se à gradação histológica. Propuseram que mastócitos neoplásicos bem diferenciados possuem imunomarcagem de KIT limitada à membrana plasmática e quanto menos diferenciadas essas células, a marcação tende a ser somente citoplasmática. Essa hipótese foi testada por MARINKOVIC et al., (2015), que analisaram sete casos de mastocitoma cutâneo canino. Desses, quatro amostras classificadas como mastocitoma de alto grau e mostraram imunomarcagem de *c-KIT* tanto na membrana quanto no citoplasma dos mastócitos. As três demais amostras classificadas como mastocitoma de baixo grau apresentaram imunomarcagem de CD117 apenas na membrana celular. Os autores discutiram que tais resultados se relacionam com a hipótese de KIUPEL et al., (2004), porém para os casos de mastocitomas pouco diferenciados a marcação ocorreu na membrana e no citoplasma, contradizendo tal hipótese. Além disso, ponderaram que tal hipótese pode ser útil na predição do comportamento biológico do mastocitoma, e não na identificação e classificação tumoral.

O histiocitoma cutâneo tem sua origem nas células de Langerhans, que expressam antígenos leucocitários característicos de diferenciação dendrítica, incluindo CD1a, CD1b, CD1c e CD11c. Porém, em tecidos parafinizados utiliza-se o CD18, acompanhado de reação negativa para CD3 e CD79a, para identificar o histiocitoma. Outro marcador expresso por histiócitos neoplásicos é o MHC de classe II (MOORE et al., 1996; MOORE, 2014). FERNANDEZ et al., (2005) estudaram tumores de células redondas caninos utilizando um painel de anticorpos que incluía tripatse, quimase, serotonina, MHC-II, CD18, CD3 e CD79a. Dos 19 casos classificados histologicamente como histiocitoma, 7 (36,8%) foram positivos tanto para CD18 quanto MHC-II, confirmando o diagnóstico de histiocitoma. Um caso (5,7%) foi positivo para CD79a, podendo ser reclassificado como linfoma de células B ou plasmocitoma, e em 11 (57,9%) não foi visualizada imunomarcagem de nenhum marcador utilizado, sendo diagnosticados como tumores de células redondas indeterminados.

Um estudo de 71 histiocitomas cutâneos caninos foi realizado por PAZDZIOR-CZAPULA et al., (2015), utilizando também um painel de anticorpos (MHC-II, CD18, CD79, CD3 e E-caderina) para diagnóstico de histiocitoma. Do total de 71 casos, 65 foram positivos para CD18 e MHC-II, que foram concomitantemente negativos para CD79 e CD3, comprovando assim o diagnóstico de histiocitoma cutâneo nessas amostras. Dois casos histologicamente definidos como histiocitoma

apresentaram apenas imunomarcção de CD3, caracterizando o diagnóstico de linfoma de células T. Dois outros casos foram positivos para CD79, com diagnóstico de linfoma de células B ou plasmocitoma, e em dois casos não houve imunomarcção para nenhum anticorpo estudado, sendo assim definidos como tumores de células redondas indeterminados.

A E-caderina, proteína da família das caderinas dependentes de cálcio, possui domínio transmembrânico e participa da adesão intercelular e, com isso, relaciona-se à integridade tecidual. Essa proteína pode ser imunoexpressa em células epiteliais, como os queratinócitos da epiderme, e também em células de Langerhans, tímócitos imaturos, alguns linfócitos, mastócitos e eritrócitos nucleados. A interação intercelular das células de Langerhans é via junções de aderência, as quais contêm caderinas. Essas proteínas têm sido utilizadas como marcadores de diagnóstico e prognóstico em neoplasias (ARMENAU et al., 1995; BAINES et al., 2008; CHETTY & SERRA, 2008; PIRES et al., 2009).

No trabalho de PAZDZIOR-CZAPULA et al., (2015) os autores utilizaram a E-caderina como marcador neoplásico nos tumores de células redondas, pois a imunomarcção de E-caderina pode indicar que as células histiocíticas possuem origem nas células de Langerhans. O estudo feito por ARAUJO et al., (2012) objetivou determinar essa origem. Assim, relatam que dos 31 casos diagnosticados histologicamente como histiocitoma, oito (25,81%) foram confirmados pela imunomarcção de CD45 e E-caderina. Os autores descrevem que 17 casos não definidos histologicamente como histiocitomas foram positivos para esses dois marcadores, confirmando a origem histiocítica e o diagnóstico de histiocitoma nos referidos casos. Porém, o uso da E-caderina como determinante na diferenciação do histiocitoma dos demais tumores ainda não foi totalmente comprovado (MOORE, 2014).

Em um estudo sobre o uso da E-caderina como marcador no diagnóstico diferencial dos tumores de células redondas em cães, os autores analisaram 116 tumores, sendo 13 histiocitomas, 72 plasmocitomas, 12 linfomas, 14 mastocitomas e cinco sarcomas histiocíticos. Na análise da E-caderina, a maioria dos casos, 95 de 116, foi positiva. Dos 13 histiocitomas, todos apresentaram imunomarcção positiva, dos 72 plasmocitomas, 54 também foram positivos, dos 14 mastocitomas, 13 apresentaram imunomarcção para E-caderina e dos 12 linfomas, 10 foram positivos para tal marcador. Concluíram que a E-caderina não pode ser considerada para diferenciar histiocitoma de outras neoplasias de células redondas, mas pode ser relacionada ao comportamento biológico do tumor e à sobrevida do animal afetado (RAMOS-VARA & MILLER, 2011).

BAINES et al., (2008) estudaram a imunomarcção de E-caderina em 37 tumores cutâneos caninos, os quais foram classificados como histiocitoma. Na avaliação por meio da IHQ, todos os histiócitos neoplásicos apresentaram imunomarcção positiva e difusa para E-caderina. Os autores também relacionam que esse resultado apenas pode prever o prognóstico do animal afetado, pois quanto menor a expressão de E-caderina, maior o número de células individualizadas e maior probabilidade de ocorrer metástase.

O sarcoma histiocítico é considerado também uma desordem histiocítica. A imunofenotipagem das células neoplásicas do sarcoma histiocítico apresenta imunomarcção de CD45, CD18, CD1, CD11c, CD90, MHC-II, ICAM-I (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002). AFFOLTER & MOORE (2002) realizaram IHQ em amostras congeladas de 39 casos e também em oito amostras parafinizadas. Nas amostras congeladas, todos os casos foram positivos para CD45,

CD11a e CD18, provando ser esse tumor de origem leucocitária. Simultaneamente, os autores encontraram 31 casos de tecidos congelados positivos para CD1, CD11c, MHC-II e ICAM-I, resultado que indica origem nas células dendríticas apresentadoras de antígeno mieloides. A gênese dessas células em duas linhagens distintas também foi descrita nesse estudo. Quando avaliaram as amostras emblocadas em parafina, oito foram positivas para CD18, duas para CD45RA e todas as oito negativas para CD3 e CD79a.

CONSTANTINO-CASAS et al., (2011) relatam que em 40 casos classificados histologicamente como sarcoma histiocítico canino, todos foram positivos para MHC-II e CD18, e negativos para CD3 e CD79a. PAZDZIOR CZAPULA et al., (2015) utilizaram um painel de marcadores (MHC-II, CD18, CD79a e CD3) em 14 casos de sarcoma histiocítico. Desse total, apenas quatro casos foram positivos para MHC-II e CD18, e negativos para CD3 e CD79, confirmando a origem histiocítica desses quatro tumores. Os autores relatam que um tumor histologicamente diagnosticado como sarcoma histiocítico foi positivo para CD79a e negativo para os demais anticorpos, sendo, portanto, reclassificado como plasmocitoma ou linfoma de células B. Descreveram também que um tumor foi positivo unicamente para CD3, redefinindo tal neoplasia como linfoma de células T. Relatam que em oito casos de sarcoma histiocítico não foi constatada imunomarcagem para nenhum dos marcadores avaliados, sendo então determinados como tumor de células redondas indeterminado. Os autores discutem que a razão por essa alta discrepância entre diagnóstico histológico e imunoistoquímico ocorre em virtude da acentuada variação morfológica que esse grupo de neoplasias possui. Ressaltam ainda que o sarcoma histiocítico pode mimetizar tanto tumor de células fusiformes, como tumores de células redondas.

Nos casos de linfoma é possível utilizar marcadores que diferenciam células T e B. Os de células T expressam CD3, os de células B CD79a, e ambos expressam MHC-II (MOORE et al., 1998; SCHRENZEL et al., 1998). A imunomarcagem do anticorpo anti-CD3 é visualizada na membrana celular, sendo considerado um marcador sensível e específico de linfócitos T. O anticorpo anti-CD79a também demonstra imunomarcagem na superfície da membrana celular e identifica as células da linhagem B nos vários estágios de maturação, portanto, compreende marcador amplo e específico para essas células (ALVES et al., 1999; BACCHI & BACCHI, 1999).

MOURA et al., (2001) analisaram 98 casos de linfoma canino, a maioria (60,2%) com imunomarcagem positiva para CD3, sendo assim classificados como linfoma de células T, em contrapartida aos 32,6% diagnosticados como linfoma de células B. Os autores ainda relatam a ocorrência de sete casos com imunomarcagem mista, para CD3 e CD79a. De modo semelhante, FERNANDEZ et al., (2005) estudaram tumores de células redondas em cães utilizando um painel de anticorpos (tripatse, quimase, serotonina, MHC-II, CD18, CD3 e CD79a). Analisaram 13 casos histologicamente diagnosticados como linfoma, sendo 10 (76,9%) positivos para CD3 e negativos para os demais anticorpos, e três positivos para CD79a, negativos também para os outros marcadores, podendo tratar-se de linfomas de células B ou plasmocitoma.

A frequência elevada de linfomas CD3 positivos também foi confirmada por meio de um painel de imunomarcadores adotado por ARAUJO et al., (2012). Os autores utilizaram CD3, CD79a, CD45, CD117, E-caderina, vimentina e citoqueratina. Na análise de 21 neoformações diagnosticadas à histopatologia como linfoma, 13 foram confirmadas pela IHQ. Desses 13, 12 (92,3%) foram CD3 positivos

e um (7,69%) CD79a positivo. E, mais recentemente, um estudo desenvolvido por MACHADO et al., (2015) também demonstrou maior frequência de linfomas de células T. Os autores examinaram cinco amostras com diagnóstico de linfoma confirmado à histopatologia e seis em que não foi possível determinar o tipo de tumor de células redondas ao exame histopatológico. À análise IHQ os casos confirmados como linfoma mostraram imunomarcção para CD3, todos os indeterminados também exibiam positividade para esse anticorpo, e os 11 totais não apresentaram imunomarcção para anti-CD79a.

Plasmócitos neoplásicos expressam CD79a e imunoglobulinas, mas podem ou não expressar MHC-II (MOORE et al., 1998; SCHRENZEL et al., 1998). Segundo a OMS, o plasmocitoma extramedular é um tumor localizado, composto por plasmócitos neoplásicos, no qual a imunomarcção de imunoglobulinas, a partir de anticorpos monoclonais, pode auxiliar na definição da neoplasia quando os achados histológicos são insuficientes (CHETTY & SERRA, 2008). BAER et al., (1989) analisaram 49 casos de plasmocitoma cutâneo em cães e obtiveram imunomarcção de IgG em todas as amostras estudadas. Em 13 (26,5%) a imunomarcção foi acentuada, em 23 (47%) moderada e em 13 (26,5%) discreta. Porém, os autores ponderam que o uso isolado de anticorpos pode dificultar o diagnóstico diferencial entre plasmocitoma e os demais tumores de células redondas.

O uso de painéis de marcadores, como feito por FERNANDEZ et al., (2005), auxiliam nessa diferenciação. Os autores diagnosticaram histologicamente 14 plasmocitomas e, após a análise imunoistoquímica de CD79a, nove casos foram positivos para esse marcador, não podendo diferenciar plasmocitoma de linfoma de células B. Ainda, dois casos foram positivos para CD3, reformulando o diagnóstico para linfoma de células T, outros dois positivos para os anticorpos CD18 e MHC-II, sendo, portanto, reclassificados como histiocitoma. Ainda, em um caso anteriormente diagnosticado como plasmocitoma, na IHQ obtiveram expressão de CD3, CD79a e CD18, sendo assim reclassificado como tumor de células redondas indeterminado. ARAUJO et al., (2012) também utilizaram painel de anticorpos em três plasmocitomas diagnosticados pela histopatologia, sendo dois confirmados pela imunoexpressão positiva para CD79.

No que se refere ao TVT, marcadores específicos para essa neoplasia de células redondas ainda não foram relatados. Persiste a discussão quanto a real origem das células neoplásicas do TVT. Além disso, do ponto de vista diagnóstico, o TVT não apresenta indiferenciação que limite o diagnóstico, especialmente ao exame citopatológico. Porém, relata-se o uso de um painel de anticorpos composto por vimentina, lisozima, *neuron-specific enolase* - NSE, CD45 e CD45RA associado à histopatologia em eventual necessidade de diferenciação entre outros tumores de células redondas (PEREIRA et al., 2000; GROSS et al., 2006). A lisozima é uma enzima de baixo peso molecular, considerada como marcador histiocítico e utilizada na identificação de histiocitose maligna e histiocitose sistêmica (MOORE, 1986).

A vimentina é uma proteína do citoesqueleto, da maioria das células de origem mesenquimal, compondo a família dos filamentos intermediários. Nas células musculares, o filamento intermediário é a desmina, nos astrócitos a proteína ácida fibrilar glial (GFAP) e nos neurônios a NSE (MOORE et al., 1989). MARCHAL et al., (1997) analisaram TVT em 14 cães utilizando um painel de imunomarcadores que incluía lisozima, vimentina, *neuron-specific enolase*, desmina, actina de musculo liso, citoqueratina e CD3. Todos as amostras foram positivas para lisozima, 10 para vimentina, 11 para NSE, um caso positivo para desmina e não foram visualizadas

expressões para actina de músculo liso. Os autores relatam a provável origem histiocítica do TVT pela positividade da lisozima, porém, maior a parte dos casos também foi positiva para NSE, mas os autores consideram essa reação uma habilidade obtida durante a transformação neoplásica e a descrevem como reação não-específica de origem neuronal.

Resultado semelhante, relatando o TVT com origem mesenquimal e provável origem histiocítica, foi encontrado por PARK et al., (2006). Os autores estudaram TVT disseminado em um cão, utilizaram painel de IHQ, e as células neoplásicas foram positivas para lisozima e vimentina, e negativas para os marcadores citoqueratina, desmina, NSE, S-100, CD3 e CD79a.

ARAUJO et al., (2012), ao analisarem 172 tumores de células redondas caninos com um painel de anticorpos composto por CD117, CD3, CD79a, CD45, CK, E-caderina e vimentina, encontraram um caso histologicamente característico de TVT, em que a imunomarcagem foi positiva para vimentina e negativa para os outros marcadores avaliados. Os autores ponderaram que a definição como TVT foi fundamentada na associação do resultado da IHQ com as alterações histopatológicas do caso em questão. Um estudo mais recente sobre as formas genitais e extragenitais do TVT canino foi realizado por MASCARENHAS et al., (2014), que avaliaram 10 TVT genitais e 13 extragenitais. Os autores relatam, diferentemente, que os 23 casos foram negativos para lisozima, porém mais de 90% desses foram positivos para vimentina. Utilizaram também CD18 e S-100, ambos com expressão negativa em todas as amostras analisadas.

Embora constitua desafio constante o diagnóstico definitivo de muitos casos de neoplasias de células redondas, o diagnóstico diferencial entre esses tumores deve sempre fundamentar-se nas alterações macroscópicas e microscópicas, com ênfase aos achados cito-histomorfológicos e imunofenotípicos, utilizando, sempre que possível, amplo painel de anticorpos visando a pertinente diferenciação celular.

CONCLUSÕES

O diagnóstico definitivo dos tumores de células redondas deve ser firmado com o auxílio de exames complementares como o citopatológico, histopatológico e imunoistoquímico. A histopatologia é uma ferramenta eficaz na definição histomorfológica da lesão envolvida, sendo fundamental na caracterização das neoplasias. Nos casos em que os tumores são indiferenciados ou possuem morfologia semelhante, faz-se necessário o uso de métodos auxiliares como a IHQ, que é amplamente utilizada na medicina e em medicina veterinária vem gradativamente ganhando espaço. Ressalte-se que a IHQ, a exemplo do que ocorre com os processos de origem neoplásica, também compreende método bastante sensível e específico no diagnóstico de doenças infecciosas. No caso dos tumores de células redondas, a precisa diferenciação é feita a partir de um painel de imunomarcadores, entretanto, o resultado dessa avaliação nunca deve ser analisado isoladamente aos achados clínicos e histopatológicos. O prognóstico da maioria desses tumores é de reservado a desfavorável, haja vista vários relatos de óbitos em cães em consequência de metástases dessas neoplasias.

REFERÊNCIAS

AFFOLTER, V. K.; MOORE, P. F. Localized and disseminated histiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 74-83, 2002.

ALVES, V. A. E.; BACCHI, C. E.; VASSALLO, J. **Manual de imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, p. 135-151.1999.

AMARAL, A. S.; GASPAR, L. F. J.; BASSANI-SILVA, S.; ROCHA, N. S. Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, v. 99, n. 551, p. 167-171, 2004.

AMARAL, A. S. **Tumor venéreo transmissível canino: critérios de malignidade e caracterização citomorfológica correlacionada à imunocitoquímica e lesões de DNA**. 2005, 203f (Tese) Botucatu - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2005.

AMARAL, A. V. C.; OLIVEIRA, R. F.; SILVA, A. P. S. M.; BAYLÃO, M. L.; LUZ, L. C.; SANT'ANA, F. J. F. Tumor Venéreo Transmissível Intra-Ocular em Cão: Relato de Caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 1, p. 79-85, 2012.

ANDRADE, R. L. F. S.; OLIVEIRA, D. M.; DANTAS, A. F. M.; SOUZA, A. P.; NETO, P. I. N.; RIET-CORREA, F. Tumores de cães e gatos diagnosticados no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1037-1040, 2012.

ARAUJO, M. R.; PREIS, I. S.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D.; ECCO, R. Histomorphological and immunohistochemical characterization of 172 cutaneous round cell tumors in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 772-780, 2012.

ARAUJO, M. R. **Estudo retrospectivo e prospectivo dos tumores cutâneos em cães e diferenciação dos tumores cutâneos de células redondas pela imuno-histoquímica**. 2011, 102f, Mestrado, (Dissertação). Belo Horizonte – Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG. 2011

ARMENAU, S.; BUHRING, H. J.; REUSS-BORST, M.; MULLER, C. A.; KLEIN, G. E-cadherin is functionally involved in the maturation of the erythroid lineage. **Journal of Cell Biology**, v. 131, p. 243-249, 1995.

BACCHI, C. E.; BACCHI, M. M. Immunohematopathology markers in paraffin sections. **Journal of Histotechnology**, v. 22, n. 3, p. 195-205, 1999.

BAER, K. E.; PATNAIK, A. K.; GILBERTSON, S. R.; HURVITZ, A. I. Cutaneous plasmacytomas in dogs: a morphologic and immunohistochemical study. **Veterinary Pathology**, v. 26, p. 216-221, 1989.

BAINES, S. J.; McINNES, E. F.; McCONNELL, I. E-cadherin expression in canine cutaneous histiocytomas. **The Veterinary Record**, v. 162, p. 509-513, 2008.

BARROS, C. S. L. Leucose bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. vol. 1, **Doenças de ruminantes e eqüinos**. Santa Maria: Pallotti, p. 159-168. 2007.

BENTUBO, H. D. L.; TOMAZ, M. A.; BONDAN, E. F.; LALLO, M. A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1021-1026, 2007.

BONNETT, B. N.; EGENVALL, A.; HEDHAMMAR, A.; OLSON, P. Mortality in over 350,000 insured swedish dogs from 1995-2000: breed, gender, age and cause-specific rates. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n. 3, p. 105-120, 2005.

BRANDÃO, C. V.; BORGES, A. G.; RANZONI, J. J. T.; RAHAL, S. C.; TEIXEIRA, C. R.; ROCHA, N. S. Tumor venéreo transmissível: estudo retrospectivo de 127 casos (1998-2000). **Revista Educação Continuada – CRMV/SP**, v. 5, n.1, p. 25-31, 2002.

CANGUL, I. T.; WIJNEN, M.; VAN GARDEREN, E.; VAN DEN INGH, T. S. Clinico-pathological aspects of canine cutaneous and mucocutaneous plasmacytomas. **Journal of Veterinary Medicine A**, v. 49, n. 6, p. 307-312, 2002.

CARDOSO, M. J. L.; MACHADO, L. H. A.; ROCHA, N. S.; MOUTINHO, F. Q.; CIAMPOLINI, P. Linfoma canino: revisão de cinquenta e quatro casos. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 3, p. 131-142, 2003.

CAUGHEY, G. H. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. **Immunology Review**, v. 217, p. 141-154, 2007.

CHETTY, R.; SERRA, S. Nuclear E-cadherin immunoexpression: from biology to potential implications in diagnostic pathology. **Advances in Anatomic Pathology**, v. 15, n. 4, p. 234-240, 2008.

CONSTANTINO-CASAS, F.; MAYHEW, D.; HOATHER, T. M.; DOBSON, J. M. The clinical presentation and histopathologic-immunohistochemical classification of histiocytic sarcomas in the Flat Coated Retriever. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 3, p. 764-771, 2011.

COSTA-CASAGRANDE, T. A.; ELIAS, D. S.; MELO, S. R.; MATERA, J. M. Estudo retrospectivo do mastocitoma canino no serviço de cirurgia de pequenos animais – hospital veterinário da faculdade de medicina veterinária e zootecnia da universidade de são paulo. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 3, p. 176-183, 2008.

COUTO, C. G. Neoplasias em cães e gatos. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2. ed. Vol. 1, Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, p.897-908. 2001.

DALECK, C. R.; NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 539-556, 2009.

DAS, U.; DAS, A. K. Review of canine transmissible venereal sarcoma. **Veterinary Research Communications**, v. 24, n. 8, p. 545-556, 2000.

DENARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUSA, R. S.; COSTA, T. A.; MACEDO, T. R.; RODIGHIERI, S. M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C. H. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no hospital veterinário da

Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2. P. 16-26, 2002.

DIAS, M. F. **Estudo da aplicabilidade de critérios morfológicos e morfométricos para a graduação de mastocitomas cutâneos em caninos**. 2007. 59f. Dissertação, (Mestrado em ciências). Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, UFPEL; 2007.

DOBSON, J. M.; SCASE, T. J. Advances in the Diagnoses and Management of Cutaneous Mast Cell Tumors in Dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 8, p. 424-431, 2007.

FERNANDEZ, N. J.; WEST, K. H.; JACKSON, M. L.; KIDNEY, B. A. Immunohistochemical and Histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 42, n. 4, p. 437-445, 2005.

FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SILVA, M. C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da mesorregião do centro ocidental rio-grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008.

FLORÉZ, M. M.; PEDRAZA, F.; GRANDI, F.; ROCHA, N. S. Cytological subtypes of canine transmissible venereal tumor. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 41, n. 1, p. 3-5, 2012.

FULMER, A. K.; MAULDIN, G. E. Canine histiocytic neoplasia: An overview. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 48, n. 10, p. 1041-1050, 2007.

GIBSON NR, NESS MG, MCNEIL PE. Malignant articular plamacytoma in two dogs. *Vet. Rec.* 1997;141:197-200, 1997.

GINN, P. E.; MANSELL, J. E. K. L.; RAKICH, P. M. The skin and appendages. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego : Academic, 1993. p. 531-738, 1993.

GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the skin and soft tissues. In: MEUTEN, D. J. (Ed.), **Tumors in Domestic Animals**. Iowa State University Press, Ames; 2002. p.44-117, 2002.

GROSS, T. L.; IHRKE, P.; WALDER, E. J.; AFFOLTER, V. K. **Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis**. 2. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. 932p.

HAINES, D. M.; CHELACK, B. J. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, p. 101-112, 1991.

HAYASHI, H. W. U.; INOUE, M. Immunohistochemical Expression of p21 Canine Cutaneous Mast Cell Tumors and Histiocytomas. **Veterinary Pathology**, v. 41, p. 296-299, 2004.

JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALL, V. E. Tumors of the Hemolymphatic system. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 4ed. Iowa: Iowa State Press, 2002, p.19-198, 2002.

JOHNSON, J. A.; PATTERSON, J. M. Canine epidermotropic lymphoproliferative disease resembling pagetoid reticulosis in man. **Veterinary Pathology**, v. 18, p. 487-493, 1981.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.

KESSLER, M.; VON BOMBARD, D.; MATIS, U. Canine and feline mast cell tumors. Epidemiology, diagnosis and therapy. **Kleintierpraxis**, v. 42, n. 5, p. 361, 1997.

KIRSHENBAUM, A. Regulation of Mast Cell number and function. **Hematology Oncology Clinics of North America**, v. 14, n. 3, p. 497-516, 2000.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. The use of KIT and tryptase expression. patterns as prognostic tools for canine mast cell tumor. **Veterinary Pathology**, v. 41, p. 371-377, 2004.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; BAILEY, K. L.; BEST, S.; DELAY, J.; DETRISAC, C. J.; MILLER, R. Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 147-155, 2011.

KUBE, P.; AUDIGE, L.; KUTHER, K.; WELLE, M. Distribution, density and heterogeneity of canine mast cells and influence of fixation techniques. **Histochemistry and Cell Biology**, v.110, n. 2, p. 129-135, 1998.

LENNERT, K.; MOHRI, N. **Malignant Lymphomas Other Than Hodgkin's Disease: Histopathology and Diagnosis of Non-Hodgkin's Lymphomas**. Springer-Verlag, New York, 1978.

LIAO, K. W.; LIAO, K. W.; HUNG, S. W.; HSIAO, Y. W.; BENNETT, M.; CHU, R. M. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cell. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 92, n. 3, p. 149-162, 2003.

LONDON, C. A.; GALLI, S. J.; YUUKI, T.; HU, Z. Q.; HELFAND, S. C. Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplication in the proto-oncogene c-KIT. **Experimental Hematology**, v. 27, n. 4, p. 689-697, 1999.

LONDON, C.; SEGUIN, B. Mast Cell Tumors in the Dog. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 473-489, 2003.

LONGLEY, B. J.; METCALFE, D. D. A proposed classification os mastocytosis incorporating molecular genetics. **Hematology Oncology Clinics North America**, v. 14, p. 697-701, 2000.

LUKES, R. J.; COLLINS, R. D. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. **Cancer**, v. 34, p. 1488–1503, 1974.

MACEWEN, E. G. Transmissible venereal tumor. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 3. ed. Philadelphia : Saunders Company, p. 651-656, 2001.

MACHADO, L. H. A.; PALUMBO, M. I. P.; ZAHN, F. S.; AMORIM, R. L.; FARIAS, M. R.; WERNER, J.; TORRES NETO, R.; RODRIGUES, J. C.; OLIVEIRA, F. C. Comparative study of histopathology and immunohistochemistry of indefinite round cell cutaneous tumors and characterization of canine lymphoma. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 1, p. 32-36, 2015.

MARCHAL, T.; CHABANNE, L.; KAPLANSKI, C.; RIGAL, D.; MAGNOL, J. P. Immunophenotype of the canine transmissible venereal tumor. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 57, p. 1-11, 1997.

MARINKOVIC, D.; MILCIC-MATIC, N.; JOVANOVIC, M.; VUCICEVIC, I.; NESIC, S.; ANICIC, M.; ALEKSIC-KOVACEVIC, S. Morphological features and KIT receptor expression in canine cutaneous mast cell tumor and systemic mastocytosis. **Acta Veterinaria**, v. 65, n. 2, p. 226-237, 2015.

MASCARENHAS, M. B.; PEIXOTO, P. V.; RAMADINHA, R. R.; YAMASAKI, E. M.; COSTA, S. Z. R.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L.; FRANÇA, T. N. Immunohistochemical study of genital and extragenital forms of canine transmissible tumor in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 250-254, 2014.

MEDLEAU, L.; HNILICA, K. A. **Dermatologia de pequenos animais - Atlas colorido e guia terapêutico**. São Paulo : Roca, 2003. 353 p.

MEIRELLES, A. E. W. B.; OLIVEIRA, E. C.; RODRIGUES, B. A.; COSTA, G. R.; SONNE, L.; TESSER, E. S.; DRIEMEIER, D. Prevalência de neoplasmas cutâneos em cães da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS: 1017 casos (2002-2007). **Pesquisa Veterinária Brasileirs**, v. 30, n. 11, p. 968-973, 2010.

MELEO, K. A. Tumors of the skin and associated structures. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 73- 94, 1997.

MILNER, R. J.; PEARSON, J.; NESBIT, J. W.; CLOSE, P. Immunophenotypic classification of canine malignant lymphoma on formalina-fixed paraffin wax-embedded tissue by means of CD3 and CD79a cell markers. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.63, n.4, p.309-313, 1996.

MISDORP, W. Mast cells and canine mast cell tumours: A review. **Veterinary Quarterly**, v. 26, n. 4, p. 156-169, 2004.

MOORE, P. F. Utilization of cytoplasmic lysozyme immunoreactivity as a histiocytic marker in canine histiocytic disorders. **Veterinary Pathology**, v. 23, n. 6, p. 757-762, 1986.

MOORE, A. S.; MADEWELL, B. R.; LUND, J. K. Immunohistochemical evaluation of intermediate filament expression in canine and feline neoplasms. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 1, p. 88-92, 1989.

MOORE, P. F.; SCHRENZEL, M. D.; AFFOLTER, V. K.; OLIVRY, T.; NADAYAN, D. Canine cutaneous histiocytoma is an epidermotropic Langerhans' cell histiocytosis that expresses CD1 and specific beta-2 integrin molecules. **American Journal of Pathology**, v. 148, p. 1699-1708, 1996.

MOORE, P. F.; AFFOLTER, V. K.; OLIVRY, T.; SCHRENZEL, M. D. The use of immunological reagents in defining the pathogenesis of canine skin diseases involving proliferation of leukocytes. In: KWOCKHA, K. W.; WILLEMSE, T.; VON TSCHARNER, C. **Advances in Veterinary Dermatology**, ed., pp. 77-94. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK, 1998.

MOORE, G. E.; BURKMAN, K. D.; CARTER, M. N.; PETERSON, M. R. Causes of death or reasons for eutanásia in military working dogs: 927 cases (1993-1996). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 2, p. 209-214, 2001.

MOORE, P. F.; AFFOLTER, V. K.; VERNAU, W. Canine hemophagocytic histiocytic sarcoma: a proliferative disorder of CD11d+ macrophages. **Veterinary Pathology**, v. 43, n. 5, p. 632-645, 2006.

MOORE, P. F. A review of histiocytic diseases of dogs and cats. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 1, p. 167-184, 2014.

MORENO, K.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Estudo retrospectivo de linfoma canino no período de 1990-2004 na região norte do Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44 supl., p. 46-52, 2007.

MORRISON, W. B. **Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management**. Baltimore: Willians & Wilkins; 1998, p.591-598, 1998.

MOURA, V. M. B. D.; SEQUEIRA, J. L.; AMORIM, R. L.; BANDARRA, E. P. Imunofenotipagem dos linfomas caninos em tecido incluído em parafina. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia – CRMV/SP**, v. 4, n. 3, p. 71-75, 2001.

Nacional Cancer Institute (NCI). Sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a Working Formulation for a clinical usage. **Cancer**, v. 48, p. 2112-2135, 1982.

OZAKI, K.; YAMAGAMI, T.; NOMURA, K.; NARAMA, I. Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 557-564, 2002.

OZKAN, B.; ULGEN, S.; YILDIRIM, F.; KIZILER, A. R.; OZER, K.; OR, M. E.; GUREL, A.; BARUTCU, U. B.; DODURKA, H. T. A disseminated cutaneous plasmacytoma case in a dog. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 38, n.3, p. 339-343, 2014.

PARK, M. S.; KIM, Y.; KANG, M. S.; OH, S. Y.; CHO, D. Y.; SHIN, N. S.; KIM, D. Y. Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 1, p. 130-133, 2006.

PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumors: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 21, p. 469-474, 1984.

PAZDZIOR-CZAPULA, K.; ROTKIEWICZ, T.; OTROCKA-DOMAGALA, I.; GESEK, M.; SMIECH, A. Morphology and immunophenotype of canine cutaneous histiocytic tumors with particular emphasis on diagnostic application. **Veterinary Research Communications**, v. 39, p. 7-17, 2015.

PEREIRA, J. S.; SILVA, A. B.; MARTINS, A. L. Immunohistochemical characterization of intraocular metastasis of a canine transmissible venereal tumor. **Veterinary Ophthalmology**, v.3, n. 1, p. 43-47, 2000.

PIMENTA, V. S. C. **Avaliação histoquímica e da expressão das proteínas p53 e c-kit em mastocitomas caninos**. 2012, 87f (Dissertação) (Mestrado em Ciência animal) Goiânia – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2012.

PIRES, I.; QUEIROGA, F. L.; ALVES, A.; SILVA, F.; LOPES, C. Decrease of E-cadherin expression in canine cutaneous histiocytoma appears to be related to its spontaneous regression. **Anticancer Research**, v. 29, p. 2713-2717, 2009.

PLATZ, S. J.; BREUER, W.; PFLEGHAAR, S.; MINKUS, G.; HERMANNNS, W. Prognostic value of histopathological grading in canine extramedullary plasmacytomas. **Veterinary Pathology**, v. 36, n. 1, p. 23-27, 1999.

PRIESTER, W. A.; MCKAY, F. W. The occurrence of tumors in domestic animals. **National Cancer Institute Monograph**, v. 54 p. 1-210, 1980

PROSCHOWSKY, H. F.; RUGBJERG, H.; ERSBOLL, A. K. Mortality of purebred and mixed-breed dogs in Denmark. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 58, n.1, p. 63-74, 2003.

RAMOS-VARA, J. A.; KIUPEL, M.; BASZLER, T.; BLIVEN, L.; BRODERSEN, B.; CHELACK, B.; CZUB, S.; DEL PIERO, F.; DIAL, S.; EHRHART, E. J.; GRAHAM, T.; MANNING, L.; PAULSEN, D.; VALLI, V. E.; WEST, K. Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 4, p. 393-413, 2008.

RAMOS-VARA, J. A. Principles and methods of immunohistochemistry. In **Drug Safety Evaluation Humana Press Methods in Molecular Biology**, v. 691, p. 83-96, 2011.

RAMOS-VARA, J. A.; MILLER, M. A. Immunohistochemical expression of E-cadherin does not distinguish canine cutaneous histiocytoma from other canine round cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 3, p. 758-763, 2011.

RAPPAPORT, H. Tumors hematopoietic system. In: **Atlas of tumor pathology**. Washington: Saunders, 1966, p.97-98, 1966.

RECH, R. R. **Mastócitos em condições normais e patológicas com ênfase em mastocitomas de cães**. 2003. 84f. Mestrado (Dissertação) Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, UFSM; 2003.

RECH, R. R.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D. Mastocitoma cutâneo. Estudo de 45 casos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n.4, p. 441-448, 2004.

RECH, R. R.; GRAÇA, D. L. Mastócitos em condições normais e patológicas – Revisão 1. **Veterinária Notícias**, v. 12, n. 1, p. 51-60, 2006.

REGUERA, M. J.; RABANAL, R. M.; PUIGDEMONT, A.; FERRER, L. Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. **American Journal Dermatopathology**, v. 22, p. 49-54, 2000.

ROGERS, K. S. Transmissible venereal tumor. **The Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian**, v. 19, n. 9, p. 1036-1045, 1997.

ROSSETO, V. J. V.; MORENO, K.; GROTTI, C. B.; REIS, A. C. F.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Frequência de neoplasmas em cães diagnosticados por exame citológico: estudo retrospectivo em um hospital-escola. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n.1, p. 189-200, 2009.

SÁNCHEZ-SERVÍN, A.; MARTINEZ, S.; CÓRDOVA-ALARCON, E.; FAJARDO, R. P53 Polymorphisms allow for genetic sub-grouping of the canine transmissible venereal tumor. **Journal of Veterinary Science**, v. 10, p 353-355, 2009.

SANDUSKY, G. E.; CARLTON, W. W.; WIGHTMAN, K. A. Diagnostic immunohistochemistry of canine round cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 24, p. 495-499, 1987.

SCHRENZEL, M. D.; NAYDAN, D. K.; MOORE, P. F. Leukocyte differentiation antigens in canine cutaneous and oral plasmacytomas. **Veterinary Dermatology**, v. 9, n. 1, p. 33-41, 1998.

SEQUEIRA, J. L.; FRANCO, M.; BANDARRA, E. P.; FIGUEIREDO, L. M. A.; ROCHA, N. S. Características anatomoclínicas dos linfomas caninos na região de Botucatu/Sp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 3, p. 245-249, 1999.

SOUSA, J.; SAITO, V.; NARDI, A. B.; RODASKI, S.; GUÉRIOS, S. D.; BACILA, M. Características e incidência do tumor venéreo transmissível (TVT) em cães e

eficiência da quimioterapia e outros tratamentos. **Archives of Veterinary Science**, v. 5, n. 1, p. 41-48, 2000.

SOUZA, T. M. **Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos caninos**. 2005. 296f Mestrado (Dissertação). Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais; 2005.

STOCKMANN, D.; FERRARI, H. F.; ANDRADE, A. L.; LOPES, R. A.; CARDOSO, T. C.; LUVIZOTTO, M. C. R. Canine transmissible venereal tumors: aspects related to programmed cell death. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 4, n.1, p. 65-75, 2011.

SUSANECK, S. Tumor venéreo transmissível dos cães. In: ROSENTHAL, R. C. **Segredos em oncologia veterinária**. Porto Alegre : Artmed, 2004. p. 261-263, 2004.

TESKE, E.; VANHEERDE, P.; RUTTERMAN, G. R.; KURZAMAN, I. D.; MOORE, P. F.; MACEWEN, E. G. Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 205, n. 12, p. 1722-1728, 1994.

THRALL, M. A.; MACY, D. W.; SNYDER, S. P.; HALL, R. L. Cutaneous lymphosarcoma and leukemia in a dog resembling Sézary syndrome in man. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 2, p. 182-186, 1984.

TROMPIERI-SILVEIRA, A. C.; GERARDI, D.; MOURO, J. V.; COSTA, M. T.; ALESSI, A. C. Immunohistochemical expression of B and T-lymphocytes and TGF- β in experimentally transplanted canine venereal tumor. **Ciência Rural**, v. 39, n.4, p. 1148-1154, 2009.

TURIN, L.; ACOCELLA, F.; STEFANELLO, D.; OSELIERO, A.; FONDRINI, D.; BRIZZOLA, S.; RIVA, F. Expression of c-KIT proto-oncogene in canine mastocytoma: a kinetic study using real-time polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 4, p. 343-349, 2006.

VAIL, D. M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996. p.192-210, 1996.

VAIL, D. M.; MACEWEN, E. G. Feline lymphoma and leukemias. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 3. ed. Philadelphia : Saunders Company, 2001. p. 590-611, 2001.

VONDERHAAR, M. A.; MORRISON, W. B. Lymphosarcoma. In: MORRISON, W. B. **Cancer in dogs and cats**. Philadelphia: Williams & Wilkins. 1998. p.667-695, 1998.

WEBSTER, J. D.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; MILLER, R. A.; KANEEFE, B.; KIUPEL, M. Celular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. **Veterinary Pathology**, v. 44, n.3, p. 298-308, 2007.

WELLE, M. M. Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 61, p. 233-245, 1997.

WERNER, P. R.; WERNER, J. Avaliação histopatológica. In: DALECK, C. R.; De NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p.121-134, 2009.

WERNER, P. R. **Patologia geral veterinária aplicada**. São Paulo: Roca, 2010. p.189-231, 2010.