RAFAEL MAGDANELO LEANDRO

**Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico e imuno-histoquímico das
neoplasias gastrintestinais de cães**

São Paulo

2010

RAFAEL MAGDANELO LEANDRO

**Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico e imuno-histoquímico das
neoplasias gastrintestinais de cães**

Dissertação apresentada Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientadora:

Profª. Dra. Lilian Rose Marques de Sá

SÃO PAULO

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2316
FMVZ

Leandro, Rafael Magdanelo

Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico e imuno-histoquímico das neoplasias gastrintestinais de cães / Rafael Magdanelo Leandro. -- 2010.
175 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Lilian Rose Marques de Sá.

1. Cães. 2. Neoplasia. 3. Gastrintestinal. 4. Patologia. 5. Imuno-histoquímica.
I. Título.

ERRATA

LEANDRO, R. M. **Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico e imuno - histoquímico das neoplasias gastrintestinais de cães.** 2010. 175 f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

Folha	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Abstract	1	174 f.	175 f.

Comissão de Ética para uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo clínico e anatomopatológico e imunohistoquímico das neoplasias gastrintestinais de cães", protocolado sob o nº1835/2009, o qual trata de um estudo retrospectivo de casos de neoplasias gastrointestinais atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/USP, no período de 1998 a 2008. Serão utilizadas amostras de fragmentos previamente colhidos e armazenadas em blocos de parafina, sob a responsabilidade da Profa Dra Lílían Rose Marques de Sá, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética para uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 25/11/2009.

We certify that the Research "Clinical pathological and immunohistochemical of gastrointestinal tumors of dogs", protocol number 1835/2009, under the responsibility Profa Dra Lílían Rose Marques de Sá, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethics Committee for animal use" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo was approved in the meeting of day 11/25/2009.

São Paulo, 30 de novembro de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: LEANDRO, Rafael Magdanelo

Título: Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico, e imuno-histoquímico das neoplasias do trato gastrointestinal de cães

Dissertação apresentada Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: __/__/____

Banca Examinadora

Prof(a)Dr(a)_____ Instituição_____

Assinatura_____ Julgamento_____

Prof(a)Dr(a)_____ Instituição_____

Assinatura_____ Julgamento_____

Prof(a)Dr(a)_____ Instituição_____

Assinatura_____ Julgamento_____

DEDICATÓRIA

À minha família, principalmente minha mãe, a qual não poupou esforços durante toda sua vida, para me proporcionar todo o conforto e oportunidades. Se não fosse ela, eu não teria concluído este trabalho, não teria me formado e não seria a pessoa que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Lillian Rose Marques de Sá por ter sido minha amiga, ter me ensinado patologia e por dividir inúmeras horas de conversas, risadas, broncas e conselhos nestes últimos três anos, dando as ferramentas e diretrizes necessárias para eu realizar este trabalho e concretizar meu sonho e por ter sido presente, realmente uma professora.

Sou grato ao Prof. Dr. Paulo Maiorka, pois sem seus ensinamentos e sua ajuda eu não teria ingressado no programa de pós-graduação do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

À Prof. Dra. Maria Lúcia Zaidan Dagli e todos os pós-graduandos do laboratório de oncologia experimental e comparada por ter me auxiliado no desenvolvimento e análise dos resultados.

Agradeço a extrema paciência, boa vontade, disponibilidade e companherismo dos meus colegas de pós-graduação Bruno Cogliati, Kátia Kimura, Caio Rodrigues dos Santos, Fernando, Kalan e a Carol, minha amiga desde a época do colégio, que me ajudaram a realizar e concluir este trabalho.

Aos meus amigos Luciana, Luís, Maru e Claudia por terem dividido ao meu lado grandes momentos no laboratório nestes últimos anos.

Sou eternamente grato ao Alemão, Mau, Fabrício, Camila, Brenda, Gordo, Dorfe, Tomada por terem ficado ao meu lado no momento em que mais precisei.

Serei eternamente grato as minhas eternas amigas, conselheiras e professoras Dra Kátia Stracieri D'Oliveira e Dra Andréa Barbosa, por serem meu exemplo profissional e pessoal e por terem sido as primeiras pessoas que acreditaram no meu potencial.

A todos funcionários do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Sou grato a todos meus amigos e companheiros de trabalho da Universidade de Santo Amaro e Hospital Veterinário Rebouças.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

“Na vida não podemos ter um novo começo, mas podemos ter um novo final”

Chico Xavier

RESUMO

LEANDRO, R. M. **Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico e imuno - histoquímico das neoplasias gastrintestinais de cães.** [Clinical, pathological and immunohistochemical study of gastrointestinal tumors of dogs]. 2010. 175 f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

As neoplasias gastrintestinais de cães são incomuns e desconhece-se a sua ocorrência em São Paulo. O objetivo foi avaliar do ponto de vista epidemiológico, clínico, anatomopatológico e imuno-histoquímico cães portadores de neoplasias gastrintestinais. Para tanto foram analisadas as fichas clínicas e os resultados anatomopatológicos de 62 cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2008. As neoplasias foram 92% malignas, das quais as epiteliais corresponderam a 42% dos casos, hematopoéticas, 32% e mesenquimais, 26%. Todos os animais eram adultos com média de idade igual a 9 ± 3 anos, de porte pequeno a médio, 37,1% não tinham raça definida e 58% eram machos. A sintomatologia clínica foi correlacionada com a localização topográfica do tumor. Êmese, prostração, perda de peso e anorexia foram relatadas nas neoplasias do esôfago, estômago e intestino delgado, enquanto os quadros de hematoquesia, prolapso de reto, disquesia e tenesmo foram relatados nos tumores localizados na válvula íleo-ceco-cólica e no intestino grosso. As localizações mais freqüentes dos tumores foram o reto, 35,5 %, e o jejuno, 17,7%. As neoplasias mais freqüentes foram o adenocarcinoma tubular mucinoso, o linfoma T alimentar e os sarcomas de células alongadas. Os linfonodos mesentéricos e o fígado foram os principais sítios metastáticos. A sobrevida média dos cães foi 12 meses após o diagnóstico e não variou entre as neoplasias. O tamanho da neoplasia, grau histológico de malignidade e os escores de proliferação celular nas neoplasias não mostraram associação com a presença de metástases e com o período de sobrevida dos cães, exceto nos casos de linfoma alimentar. O estudo multidisciplinar na medicina veterinária mostrou ser importante para melhor caracterizar as neoplasias gastrintestinais de cães e estabelecer o melhor tratamento para esses animais.

Palavras-Chave: Cães. Neoplasia. Gastrintestinal. Patologia. Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

LEANDRO, R. M. **Clinical, pathological and immunohistochemical study of gastrointestinal neoplasias of dogs** [Estudo clínico, epidemiológico, anatomopatológico, e imuno - histoquímico das neoplasias gastrintestinais de cães]. 2010. 174 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

Gastrointestinal neoplasias of dogs are unusual and its occurrence is unknown in São Paulo. The aim was to assess dogs affected by gastrointestinal neoplasias undertaken clinical, pathological and immunohistochemical aspects. It was analyzed the medical files and pathological diagnosis of 62 animals attended at the Veterinary Hospital of the University of São Paulo from January 1998 to December 2008. The tumors were 92% cancer and epithelial neoplasias corresponded to 42% of the cases, hematopoietic neoplasias, 32% and mesenchymal neoplasias, 26%. All of the animals were adults with an average age of 9 ± 03 years, small to medium sizes and 37,1% were mixed breed and 58% were males. The clinical signs were directly related to the anatomical location of the tumors. Emesis, weight loss and anorexia were reported in esophageal, gastric and small intestinal tumors; while hematochezia, rectal prolapse, dyschezia and tenesmus were described in the ileo-ceco-colic valve and large intestine. The most frequent local of tumors were rectum 35,5%, and jejunum, 17,7%. Mucinous tubular adenocarcinoma, T cell tumors and spindle cells sarcomas were the most common diagnosed. Mesenteric lymph nodes and liver were the main sites of metastasis. The average of survival rate was 12 months and had no differences among neoplasias. The sizes of tumors, histological grading and scores of cell proliferation had no statistic association with the presence of metastasis and reduced survival period of dogs, except the cases of alimentary lymphoma. The multidisciplinary approach in veterinary medicine is important to establish the definitive diagnosis and proper treatment of gastrointestinal tumors of dogs.

Key-words: Dogs. Neoplasia. Gastrointestinal. Pathology. Immunohistochemistry.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	Cluster of differentiation
Cox-2	Ciclooxigenase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DAB	Diaminobenzidina
DP	Desvio Padrão
DOG1	Discovered on GIST-1
FAP	Polipose Adenomatosa Familiar
FMVZ/USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Da Universidade de São Paulo
g/dl	grama por decilitro
GI	Gastrintestinal
GIST	Tumor estromal gastrintestinal
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida
KDa	KiloDalton
Ki-67	Proteína Ki-67
H ₂ O ₂	água oxigenada
HNPCC	Câncer Colorretal Hereditário não Polipóide
hMLH1	human mut-L homologue
Hmsh2	human mut-S homologue
Hmsh6	human mut-S homologue
HE	Hematoxilina e eosina
Iga	imunoglobulina A
LM	Leiomioma
LMS	Leiomiossarcoma
N	número de amostras
M	molar
MIB-1	Molecular immunology Borstel 1
mg	miligramas
mg/d	miligrama por decilitro
ml	mililitro

mm	milímetro
mm ³	milímetro cúbico
µm	micrômetro
nm	nanômetro
µl	mililitro
NK	Natural Killer
PMS1	Gene de reparo
PMS2	Gene de reparo
PCNA	Antígeno nuclear de proliferação celular
PBS	tampão fosfato salino
pCO ₂	pressão parcial de CO ₂
SCH	Schwanoma
SMA	Actina músculo liso
S-100	Proteína S-100
SD	Sistema digestório
OC	anti-osteocalcina
ON	anti-osteonectina
T.G.I	Trato gastrintestinal
USP	Universidade de São Paulo
VIM	Vimentina
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
x	vezes
° C	graus Celsius
α	alfa
+	mais
=	igual
$\square$	menor
$\square$	maior

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Infiltrado celular homogêneo acometendo a mucosa, submucosa e as camadas musculares. HE, 40 x.....119
- Figura 2- Fotomicrografia do jejuno cão de com linfoma. Células neoplásicas com núcleos redondos a ovalados de cromatina densa e citoplasma escasso. HE, 100 x.....119
- Figura 3- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos CD3 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 200 x.....119
- Figura 4- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos PCNA +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....119
- Figura 5- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 200 x.....119
- Figura 6- Fotomicrografia do reto de cão de com leiomioma. Células mesenquimais fusiformes arranjada em feixes multidirecionais. HE, 40 x.....119
- Figura 7- Fotomicrografia de reto de cão com leiomioma. Células mesenquimais fusiformes com núcleos alongados cujos bordos eram retos e similares a charutos. HE, 100 x.....121
- Figura 8- Fotomicrografia do jejuno de cão com leiomiossarcoma. Proliferação de células mesenquimais fusiformes com núcleos ovalados a alongados que se arranjaram em feixes multidirecionais. HE, 100 x.....121
- Figura 9- Fotomicrografia do jejuno de cão com leiomiossarcoma. Células com citoplasma eosinofílico apresentando limite citoplasmático pouco definido, exibindo, por vezes, vacuolização. O núcleo alongado com bordos retos apresentava moderado pleomorfismo e cromatina frouxa e nucléolo, por vezes, conspícuo e grande. HE, 100 x.....121
- Figura 10- Fotomicrografia do jejuno de cão Leiomiossarcoma. Imunomarcação para células de músculo liso Actina de músculo liso +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400x.....121

- Figura 11- Fotomicrografia do íleo de cão com Osteossarcoma osteoblástico. Proliferação de células mesenquimais com diferenciação óssea HE, 100 x.....121
- Figura 12- Fotomicrografia do íleo de cão com Osteossarcoma osteoblástico. Produção de matriz osteóide parcialmente mineralizada entre células poligonais e alongadas HE, 200 x..121
- Figura 13- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. Proliferação de células fusiformes arranjadas em feixes longos densamente celulares, HE, 40 x.....123
- Figura 14- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. Células neoplásicas com citoplasma de limites pouco definidos, núcleo ovalado a alongado com nucléolo evidente, pleomorfismo nuclear elevado e, anisocariose e aumento da relação núcleo: citoplasma. HE, 100 x.....123
- Figura 15- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. HE, 40 x. Imunomarcção para CD117 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....123
- Figura 16- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. HE, 40 x. Imunomarcção para vimentina +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....123
- Figura 17- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. Proliferações de células alongadas a fusiformes com citoplasma basofílico conforme HE, 100 x.....123
- Figura 18- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. As células neoplásicas estavam arranjadas em feixes curtos dispostos em diferentes direções e conferiram ao tumor aspecto multilobulado HE, 200 x.....12
- Figura 19- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. Imunomarcção para vimentina +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....125
- Figura 20- Fotomicrografia do estômago de cão com Adenocarcinoma de anel de sinete, Proliferação de células poligonais com núcleos ovalados a arredondados, hipercromáticos, deslocados para periferia e o citoplasma claro foi preenchido por mucina HE, 100 x.....125

- Figura 21- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos. Células neoplásicas basofílicas, dilatadas e preenchidas por muco. HE, 40 x.....125
- Figura 22- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso. Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos. Células neoplásicas basofílicas, dilatadas e preenchidas por muco, HE 100 x.....125
- Figura 23- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma papilífero, HE 40 x.....125
- Figura 24- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma papilífero, HE 100 x.....125
- Figura 25- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma papilífero. Imunomarcagem para Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....127
- Figura 26- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma sólido. As células neoplásicas poligonais, com citoplasma claro basofílico e núcleo ovalado com nucléolo evidente. HE, 100 x.....127
- Figura 27- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma tubular, HE, 100 x.....127
- Figura 28- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma tubular. Imunomarcagem para Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x.....127
- Figura 29- Fotomicrografia do reto de cão com adenoma tubular, As células neoplásicas com discreta displasia caracterizada por células colunares ou cubóides, cujo núcleo é ovalado a arredondado com a cromatina homogênea ou granular e nucléolo inconspícuos. As células revestem as estruturas em monocamada e, em alguns focos, observava-se sobreposição nuclear. HE, 100x.....127

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-	Distribuição dos principais grupos morfológicos de neoplasias gastrintestinais em cães atendidos no HOVET, São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008.....	75
Gráfico 2-	Distribuição dos casos segundo sexo e grupo de neoplasias gastrintestinais - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	76
Gráfico 3-	Distribuição dos cães segundo idade e o grupo morfológico das neoplasias GI -São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos.....	77
Gráfico 4-	Distribuição dos cães segundo idade, sexo e grupo morfológico de neoplasia - São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo.....	78
Gráfico 5-	Distribuição dos cães segundo o porte corporal São - Paulo - jan.1998 - dez. 2008.....	79
Gráfico 6-	Distribuição dos cães segundo o peso em quilos, o sexo e o grupo morfológico de neoplasia GI - São Paulo - Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa maior porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos.....	81
Gráfico 7-	Distribuição dos casos dos cães portadores de neoplasia gastrintestinal segundo a idade e o tipo de alimentação utilizada – São Paulo - Jan. 1998/Dez. 2008.....	82
Gráfico 8-	Distribuição dos principais sinais e sintomas clínicos relatados nos cães com neoplasias GI - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008.....	84
Gráfico 9 -	Distribuição da frequência relativa dos sinais e sintomas GI - êmese, diarreia e hematoquesia nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo-jan. 1998 - dez.2008.....	86

Gráfico 10-	Distribuição da frequência relativa dos sinais e sintomas GI - tenesmo, disquesia e prolapso de reto nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008.....	86
Gráfico 11-	Distribuição da Frequência relativa dos sinais e sintomas GI - Anorexia, perda de peso e prostração nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008.....	87
Gráfico 12-	Valor do hematócrito nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.....	90
Gráfico 13-	Valor de hemoglobina nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.....	90
Gráfico 14-	Valor do número de plaquetas nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.....	91
Gráfico 15-	Valor do número de leucócitos nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo.....	91
Gráfico 16-	Distribuição segundo a localização dos diferentes grupos de neoplasias – São Paulo – Jan. 1998- Dez. 2008.....	92
Gráfico 17-	Distribuição das neoplasias segundo tamanho da neoplasia e grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo.....	94
Gráfico 18-	Localização dos principais pontos de metástases observados nos animais portadores de neoplasias GI - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	95

Gráfico 19-	Presença de metástases à distância e os diferentes grupos de neoplasias – São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	96
Gráfico 20 -	Distribuição das metástases linfonodal dos animais portadores de neoplasias gastrintestinal - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	96
Gráfico 21-	Distribuição dos casos segundo o comprometimento de linfonodos regionais e os diferentes grupos de neoplasias – São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	97
Gráfico 22-	Distribuição das neoplasias segundo o grau de malignidade histológica - São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008.....	107
Gráfico 23-	Distribuição das neoplasias segundo o tamanho e o grau de malignidade - São Paulo - jan.1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana e as barras de erros os valores mínimos e máximos.....	107
Gráfico 24-	Distribuição da presença de hemorragia nos diferentes grupos de neoplasias- São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	108
Gráfico 25-	Comprometimento das camadas do trato gastrintestinal nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	110
Gráfico 26-	Imunoexpressão do PCNA entre os diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan.1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, marca circular representa média, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos.....	111
Gráfico 27-	Curva de sobrevida dos cães com neoplasia GI - São Paulo - jan.1998 - dez.2008.....	115
Gráfico 28-	Sobrevida nos diferentes grupos de neoplasias – São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008.....	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Escore de imunomarcção para os fatores de proliferao celular PCNA e Ki-67.....	73
Tabela 2-	Distribuio das raas de cões segundo os grupos morfológicos das neoplasias GI - São Paulo - jan.1998 - dez. 2008.....	79
Tabela 3-	Distribuio dos pesos em quilos dos cões segundo o grupo morfológico da neoplasia GI e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo - jan.1998 - dez. 2008.....	80
Tabela 4-	Distribuio relativa dos casos segundo tipo de alimentao utilizada e os tipos morfológicos das neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	82
Tabela 5-	Distribuio dos animais portadores de neoplasias GI segundo regioo onde moravam no estado de São Paulo – São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008.....	83
Tabela 6-	Distribuio dos resultados laboratoriais entre os grupos de neoplasias e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	89
Tabela 7-	Distribuio dos casos de anemia nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan.1998 -dez. 2008.....	88
Tabela 8-	Distribuio segundo a localizao nos diferentes grupos de neoplasias gastrintestinais - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	92
Tabela 9-	Distribuio das neoplasias segundo tamanho em centímetros e grupo de neoplasia e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo - Jan. 1998 - dez. 2008.....	93
Tabela 10-	Distribuio do grau de malignidade no grupo das neoplasias hematopoética - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	106

Tabela 11-	Distribuição das neoplasias segundo o índice de PCNA e os grupos de neoplasias e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo - Jan. 1998 - dez. 2008.....	111
Tabela 12-	Imunoexpressão do anticorpo PCNA nos graus de malignidade para cada grupo de neoplasia - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	112
Tabela 13-	Índice de Ki-67 nos diferentes grupos de neoplasias quanto à média, mediana, desvio padrão, valor mínimo e máximo - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	113
Tabela 14-	Imunoexpressão do anticorpo Ki-67 nos grupos de neoplasia graus de malignidade (%) - São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008.....	113
Tabela 15-	Distribuição dos cães com neoplasias GI que foram à óbito e que estão vivos após o diagnóstico - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	114
Tabela 16-	Distribuição da sobrevida segundo o grau de malignidade nos diferentes grupo de neoplasias e a média, desvio padrão (DP) - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.....	117

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Classificações cito-histopatológica dos Linfomas caninos.....	43
Quadro 2-	Riscos de comportamento agressivo do GIST relacionado ao tamanho e contagem de figuras de mitose em neoplasmas do homem.....	49
Quadro 3-	Distribuição da casuística utilizada no estudo das neoplasia gastrintestinais que acometem cães atendidos no Hospital Veterinário no período de 1998 a 2008 segundo número do caso, raça, idade, sexo e diagnóstico morfológico São Paulo Jan. 1998 - Dez. 2008.....	64
Quadro 4-	Critérios histológicos para graduação dos critérios de malignidade das neoplasias gastrintestinais – São Paulo - Jan. 1998 - Dez. 2008.....	68
Quadro 5-	Lista de anticorpos, diluição, tampão, código fabricante e espécie – São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008.....	70
Quadro 6-	Distribuição dos casos segundo diagnósticos morfológicos e localização – São Paulo- jan. 1998 – dez. 2008.....	99

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1	NEOPLASIAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO	29
2.1.1	Aspectos gerais da ocorrência, localização, predisposição sexual e faixa etária dos cães acometidos por neoplasias do TGI	29
2.1.2	Etiologia das neoplasias do sistema digestório: atualizações	31
2.2	NEOPLASIAS EPITELIAIS	34
2.3	NEOPLASIASHEMATOPOÉTICAS	37
2.3.1	Linfoma alimentar	37
2.3.2	Mastocitoma gastrintestinal	44
2.4	NEOPLASIAS MESENQUIMAIS	46
2.4.1	Tumor estromal gastrintestinal	47
2.4.2	Neoplasias de músculo liso	52
2.4.3	Osteossarcoma extra-esquelético	54
2.5	NEOPLASIAS GASTRINTESTINAL E PROLIFERAÇÃO CELULAR	57
2.5.1	O antígeno de proliferação celular Ki-67	59
2.5.2	O antígeno de proliferação celular PCNA	61
3	OBJETIVOS	62
4	MATERIAIS E MÉTODOS	63
4.1	CASUÍSTICA	63
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	63
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	63
4.4	CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E CLÍNICA DOS CÃES	66

4.5	EXAMES LABORATORIAIS.....;	66
4.6	ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO.....;	66
4.7	ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO.....;	69
4.8	CONTROLES POSITIVOS E NEGATIVOS.....;	71
4.9	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROLIFERATIVACELULAR UTILIZANDO: PCNA E KI-67.....	72
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	74
6	RESULTADOS.....	75
6.1	CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO.....	75
6.1.1	Distribuição dos animais quanto ao grupo morfológico das neoplasias GI.....	75
6.1.2	Distribuição dos animais quanto ao sexo.....	75
6.1.3	Caraterização dos cães segundo idade.....	76
6.1.4	Distribuição dos cães segundo a raça, o porte corporal e o peso.....	78
6.1.5	Caracterização da alimentação dos cães.....	81
6.1.6	Caracterização da região de moradia dos cães.....	83
6.2	CARACTERIZAÇÃO DOS CÃES QUANTO AS ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS.....	84
6.2.1	Caracterização clínica.....	84
6.2.2	Caracterização laboratorial.....	87
6.3	CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS NEOPLASIAS GI.....	91
6.3.1	Localização.....	91
6.3.2	Tamanho.....	93
6.3.3	Ocorrência de metástases.....	94
6.4	CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS NEOPLASIAS GI.....	98

6.4.1	Neoplasias epiteliais.....	98
6.4.2	Neoplasias hematopoéticas.....	102
6.4.3	Neoplasias mesenquimais.....	103
6.4.4	Grau de malignidade.....	106
6.4.5	Avaliação histológica das neoplasias quanto a hemorragia, ulceração e o comprometimento das camadas intestinais.....	108
6.4.6	Avaliação imuno-histoquímica da proliferação celular nas neoplasias GI.....	110
6.4.6.1	Índice de PCNA.....	110
6.4.6.2	Índice de Ki-67.....	112
6.5	ANÁLISE DA SOBREVIVÊNCIA.....	114
7	DISCUSSÃO.....	128
8	CONCLUSÃO.....	155
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158

1 INTRODUÇÃO

Gastroenterologia é uma das áreas emergentes do conhecimento na Medicina Veterinária. No dia-a-dia da clínica veterinária de pequenos animais, por todo o mundo, é amplamente reconhecido que os problemas gastrintestinais (GI) estão entre os motivos mais comuns que levam os proprietários de animais de companhia a procurarem um médico veterinário. De fato, apenas as doenças dermatológicas são mais comumente avaliadas na rotina do consultório veterinário.

Dentre as doenças GI dos pequenos animais estão os quadros obstrutivos, inflamatórios, parasitários e neoplásicos, os quais são responsáveis pelo elevado índice de morbidade e mortalidade. A maioria das neoplasias primárias do trato gastrintestinal (TGI) é maligna e pouco freqüente, correspondendo aproximadamente 2% das neoplasias caninas e podem ser de origem epitelial, neuroendócrina, hematopoética e mesenquimal. Devido à grande variedade de sinais e sintomas, que caracterizam diferentes síndromes clínicas, esses neoplasmas representam um grande desafio ao clínico uma vez que é difícil estabelecer o diagnóstico específico e precoce que possibilite o tratamento adequado. Estas neoplasias podem já estar em estágio de desenvolvimento avançado, quando os primeiros sinais e sintomas clínicos são reconhecidos pelo proprietário do animal. Este atraso no diagnóstico limita severamente as opções terapêuticas e, em última análise, o sucesso do tratamento em muitos casos.

Contudo, houve importante avanço técnico e científico com relação à prática da gastroenterologia veterinária na última década. As frustrações não incomuns que veterinários e seus clientes tinham no passado ao lidar com pacientes portadores de doenças GI crônicas foram substituídas por resultados satisfatórios e prognósticos positivos em diversas situações. Isto foi, em grande parte, atribuído aos avanços nos métodos diagnósticos, como a endoscopia que permite examinar diretamente uma grande porção da mucosa do TGI e obter amostras de biópsias intraluminais de uma maneira minimamente invasiva. A endoscopia, neste contexto verdadeiramente, desempenhou um papel fundamental na capacitação dos médicos veterinários em diagnosticar precocemente diferentes doenças que poderiam ter passado despercebidas em seu decurso. A videolaparoscopia também representa uma importante ferramenta que apresenta crescente utilização e permite a obtenção de biópsias extraluminais do trato GI e de suas glândulas anexas de maneira pouco invasiva. Adicionalmente, ocorreram

avanços nas técnicas de imagem (ultra-sonografia, radiologia e tomografia), nos métodos laboratoriais específicos e na disponibilização de agentes terapêuticos mais eficazes.

Nesse sentido, a oncologia veterinária também está em expansão em diferentes direções associando o diagnóstico acurado dos tumores à caracterização de marcadores de prognóstico e genéticos, ao desenvolvimento e a utilização de medicamentos apropriados. A associação da avaliação histopatológica dos neoplasmas às técnicas imuno-histoquímicas e biomoleculares capacita o médico veterinário a predizer a agressividade biológica e a possível resposta terapêutica a determinado medicamento, o que representa inestimável valor ao tratamento dos pacientes portadores de neoplasmas.

A avaliação de marcadores de proliferação celular é muito importante para caracterizar o grau de malignidade das neoplasias, seja por excisão cirúrgica, biópsia endoscópica ou coleta *post mortem*, criando assim uma correlação entre a morfologia da neoplasia e o comportamento proliferativo tumoral. Os marcadores ideais devem ser capazes de predizer com acurácia o prognóstico de cada caso.

Os estudos retrospectivos que associam informações clínicas, epidemiológicas e anatomopatológicas fornecem dados de relevância que possibilitam adequada associação de tais informações, mapeando os principais fatores de risco, estabelecendo e padronizando protocolos e condutas médicas entre o clínico, o cirurgião e o patologista para se alcançar o sucesso terapêutico.

Destaca-se ainda que os animais de companhia, que apresentam longevidade crescente e estreito contato com os seres humanos, dividem fatores de risco ambientais similares para várias enfermidades, entre essas os processos neoplásicos. Neste contexto, os cães podem também servir como modelos para o estudo de doenças que acometem os seres humanos. Assim, estudos comparados de neoplasias do TGI entre seres humanos e animais de companhia podem fornecer e subsidiar a correlação de dados de forma única que por fim pode trazer benefícios a todos.

A importância do reconhecimento de doenças neoplásicas gastrintestinais de cães em nosso meio motivam o estudo a fim de minimizar o atraso no diagnóstico e conseqüentemente aumentar a sobrevivência dos animais acometidos. Assim, considerando a relevância do tema proposto, este estudo visa a caracterizar as neoplasias gastrintestinais de cães, do ponto de vista epidemiológico, clínico e anatomopatológico e imuno-histoquímico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NEOPLASIAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO.

2.1.1 Aspectos gerais da ocorrência, localização, predisposição sexual e faixa etária dos cães acometidos por neoplasias do TGI

A maioria das neoplasias primárias do TGI em cães é maligna e pouco freqüente quando comparadas às neoplasias de outros sistemas. As neoplasias do SD correspondem a aproximadamente 2% de todas as neoplasias e podem ser de origem epitelial, neuroendócrina, hematopoética e mesenquimal (GUILFORD; STROMBECK, 1996; LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005).

Bettini; Morini e Marcato (2003) avaliaram 105 neoplasias primárias do TGI de cães e concluíram que os neoplasmas epiteliais são os mais comuns e representam 48% dos casos, seguidos dos hematopoéticos, 36%, e os mesenquimais, 16%.

Com relação à predisposição sexual e faixa etária para desenvolver tumores no TGI, considera-se que os cães machos são os mais acometidos e, no momento do diagnóstico, apresentam idade média de 9,8 anos (DARGENT, 1999).

As neoplasias GI podem acometer qualquer região anatômica, não havendo uma região preferencial. Em um estudo retrospectivo de 400 cães com câncer, 5,5% das neoplasias estavam localizadas no sistema digestório, das quais 70% destas neoplasias eram originadas na cavidade oral (ADAMU, 1992). Já, as neoplasias esofágicas são consideradas raras e contabilizam menos de 1% de todas as neoplasias primárias em cães e, menos de 5% das neoplasias do TGI. Da mesma maneira, as neoplasias gástricas são incomuns em cães e correspondem a menos de 1% de todas as neoplasias descritas nessa espécie (GROW, 1985).

As neoplasias gástricas mais comuns são de origem epitelial, com destaque ao adenocarcinoma, que corresponde a aproximadamente 60 a 70% dos casos. Contudo, outros tipos morfológicos já foram relatados em menor frequência em estudos prévios, tais como o leiomioma, leiomiossarcoma, mastocitomas, plasmocitomas e o sarcoma histiocítico (SOBRAL et al., 2009).

Landes e Sandersleben (1985) observaram em seu estudo em cães que 31% das neoplasias gástricas eram benignas (8% origem epitelial e 23% mesenquimal) e 68% eram malignas (53% epitelial e 15% mesenquimal).

Sautter e Hanlon (1975) descreveram que a corpo gástrico e o piloro foram as regiões anatômicas mais comumente afetadas nos cães. Recentemente, a curvatura menor do estômago tem sido considerada como o principal local de desenvolvimento de neoplasias gástricas (FONDA; GUALTIERI; SCANZIANI, 1989; GUALTIERI; MONZEGLIO; SCANZIANI, 1999; EASTON, 2001). O carcinoma, leiomioma e leiomiossarcoma gástricos podem ser encontrados em maior frequência no antro pilórico (SWANN; HOLT, 2002). As lesões macroscópicas mais comumente descritas foram a ulceração decorrente da presença de carcinoma, hemorragia e estenose (DARGENT, 1999).

As neoplasias primárias de intestino delgado são reconhecidas em menor frequência, variando entre 0,3 e 0,7% , quando comparadas com as neoplasias gástricas ou colorretais, e acometem principalmente animais idosos, com idade média de nove anos (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; THEILEN; MADEWELL, 1987; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002; SOBRAL et al., 2009). Considerando todas as neoplasias intestinais e retais caninas, a prevalência corresponde a 9,9 em cada 10.000 casos (GUILFORD; STROMBECK, 1996).

Não há predisposição racial em cães portadores de câncer em intestino delgado, exceto as raças miniaturas, com destaque aos malteses que tendem a apresentar maior risco de desenvolver mastocitoma intestinal (OZAKI et al., 2002). Existem opiniões conflitantes em relação à predisposição sexual, mas alguns autores apontam a mesma frequência entre machos e fêmea (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

A localização das neoplasias do intestino delgado pode ser variada, mas autores relatam os carcinomas primários comprometendo principalmente jejuno e íleo terminal nos cães (STEVEN; CROW, 1985).

As neoplasias do intestino grosso representam 36 a 60% de todas as neoplasias do SD dos cães. A ocorrência das neoplasias colônicas e retais são 2,8 e 4,1 para 10.000 cães (COTCHIN, 1959; BRODEY; COHEN, 1964). Geralmente acometem animais de meia idade a idosos, com média de oito anos para neofomações de origem epitelial e 11 anos para tumores de origem mesenquimal (VALERIUS et al., 1997; TER HAAR; VAN DER GAAG; KIRPENSTEIJN, 1998).

Relatos apontam uma discreta tendência de acometimento de machos para o desenvolvimento de neoplasias no intestino grosso, quando comparado às fêmeas (WOLF et al., 1997). As raças mais predispostas a desenvolverem neoformações colorretais são cães de raça pura e porte médio a grande, como Pastor Alemão, West Highland White Terriers e Collies (HOLT; LUCKE, 1985; VALERIUS et al., 1997; WOLF et al., 1997).

O pólipio adenomatoso e carcinoma *in situ* representam a maioria das lesões neoplásicas do intestino grosso dos cães. Os carcinomas frequentemente localizados no reto, macroscopicamente podem ser circunscritos, intraluminais ou intramurais podendo ser pedunculados (especialmente na porção distal do reto) ou anulares (na porção média do reto) (STEVEN; CROW, 1985; JASS; SOBIN, 1988; WOLF et al., 1997; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Outras neoformações já foram relatadas no intestino grosso dentre elas os leiomiomas, leiomiossarcomas, linfoma, tumor estromal gastrintestinal, mastocitomas, plasmocitomas, ganglioneuromas e os carcinóides (HOLT; LUCKE, 1985; TER HAAR; VAN DER GAAG; KIRPENSTEIJN, 1998; OZAKI et al., 2002). Os leiomiossarcomas e o tumor estromal gastrintestinal geralmente estão localizados em maior frequência no ceco.

2.1.2 Etiologia das neoplasias do sistema digestório: atualizações

Desconhece-se a etiologia das neoplasias gastrintestinais em cães. Assume-se que algumas substâncias possam atuar como carcinógenos quando ingeridas, por exemplo, micotoxinas provenientes de alimentos contaminados; plantas tóxicas e herbicidas (SOBRAL et al., 2009). A identificação de lesões pré-malignas é um requisito indispensável para o rastreamento e prevenção do câncer do trato gastrintestinal.

Na etiologia dos cânceres colorretais há, neste contexto, interação entre fatores ambientais e genéticos. Os principais fatores de risco para os seres humanos incluem dietas com alto teor de gordura, doenças intestinais inflamatórias como retocolite ulcerativa crônica, doença de Crohn e algumas condições hereditárias, como polipose adenomatosa familiar (FAP) e câncer colorretal hereditário não polipóide (HNPCC)

(POHL; HOMBACH; KUIS, 2000; SYNGAL ET AL., 2000; KHOUTOVA, 2006). Por outro lado, a ingestão de dietas ricas em frutas e vegetais frescos, fibras, cálcio, folato e dietas pobres em gordura animal são consideradas medidas preventivas (WILLETT, 2001).

Em aproximadamente 80% dos casos de câncer colorretal em seres humanos a doença é esporádica, sem evidências de comprometimento hereditário. Entretanto, 20% dos casos apresentam envolvimento do componente hereditário (LYNCH; LYNCH, 2000). A maioria das neoplasias colorretais se enquadra na FAP e HNPCC, que segue via de carcinogênese diferente do adenoma (LYNCH; CHAPELLE, 2003). Na FAP, observa-se alta frequência de perdas alélicas, enquanto no HNPCC observa-se elevada instabilidade de microssatélites de DNA (FEARON; GRUBER, 2001).

Microssatélites são pequenas seqüências repetitivas de DNA distribuídas pelo genoma. Instabilidade de microssatélites são alterações de comprimento destas seqüências encontradas nestes tumores, quando comparadas ao tecido normal. A instabilidade de microssatélites é considerada marcador das alterações e genes de reparo, sendo a instabilidade considerada alta (MSI-H), um forte indicativo de anormalidade em um destes genes (LYNCH; LYNCH, 2000; FEARON; GRUBER, 2001). As mutações germinativas dos genes de reparo são as causas do HNPCC (MARRA; BOLAND, 1995). Mutações em dois genes de reparo são responsáveis por 60% dos casos de HNPCC: mutações nos genes hMLH1 (*human mut-L homologue*) e em Hmsh2 (*human mut-S homologue*) (MARRA; BOLAND, 1995; FEARON; GRUBER, 2001).

Em menos de 5% dos casos foram descritas mutações nos genes de reparo PMS1, PMS2 e Hmsh6 (*human mut-S homologue*) (LYNCH; LYNCH, 2000; FEARON; GRUBER, 2001). Em 35% a 40% dos casos a mutação é desconhecida. A instabilidade de microssatélites também é encontrada em 10 a 15% dos tumores esporádicos não hereditários e podem estar associadas a alterações epigenéticas em genes de reparo (IONOV et al., 1993).

Alguns estudos observaram maior risco de desenvolvimento de câncer de cólon nos pacientes portadores de adenomas (LIEBERMAN et al., 2000; WINAWER et al., 2006). Em estudos histopatológicos verificaram-se focos de adenocarcinoma em pólipos adenomatosos, bem como focos de adenoma em espécimes com o diagnóstico de adenocarcinoma (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1997).

Reconhece-se que os pólipos hiperplásicos colorretais podem, de fato, ser lesões pré-neoplásicas, porque eles contêm alterações genéticas igualmente vistas no câncer colorretal (JEN et al., 1994; WILLIAMS, 1997).

Estudos têm demonstrado que a ciclooxigenase-2 (Cox-2) possui papel preponderante na carcinogênese do câncer colorretal (SATO et al., 2003). A Cox-2 é induzida em resposta a fatores de crescimento e citocinas, sendo expressa em doenças inflamatórias, lesões pré-malignas e tumores colorretais. A Cox-2, que participa da síntese de prostaglandinas, é encontrada em aproximadamente 40% dos adenomas colorretais, acima de 90% dos adenocarcinomas, porém não é expressa na mucosa colônica normal (EBERHART et al., 1994). A expressão aumentada da Cox-2 tem sido encontrada em pólipos adenomatosos gastrintestinais em modelos experimentais de camundongos *knockout* com polipose adenomatosa (OSHIMA et al., 1996; WILLIAMS; BUBOIS, 1996; CHULADA et al., 2000).

O bloqueio das funções da Cox-2 pode prevenir o desenvolvimento do câncer colorretal. Há muitas evidências sobre a ligação do consumo de anti-inflamatórios não esteróides e a prevenção do câncer colorretal (GIOVANNUCCI et al., 1995; OSHIMA et al., 1996; HUL et al., 1999).

Embora o verdadeiro mecanismo antineoplásico dos anti-inflamatórios não seja conhecido, uma possível rota seria a inibição da Cox-2 (WILLIAMS; BUBOIS, 1996). Entre os muitos fatores possíveis associados com a etiologia do câncer, estima-se que a dieta possa causar cerca de 20 a 30% de todos os cânceres na espécie humana em países economicamente desenvolvidos (WILLIAMS; BUBOIS, 1996).

Os fatores dietéticos que têm recebido maior atenção são: 1. ingestão excessiva de alimentos em relação às necessidades; 2. baixo conteúdo de fibras não absorvíveis; 3. alto conteúdo de carboidratos; 4. consumo elevado de carnes vermelhas; 5. diminuição de fatores tróficos como vitaminas para mucosa intestinal (FRANKS, 1990).

Entre os fatores dietéticos sugeridos, como de risco para o câncer, talvez nenhum tenha atraído tanta atenção quanto à ingestão de gordura (KUSHI; GIOVANNUCCI, 2002). No ocidente, as dietas com alto teor de gordura relacionam-se à elevada incidência de neoplasias do intestino grosso, glândula mamária, próstata, endométrio e pâncreas (CASTRONOVO, 2003; RAGHAVAN; KNAPP; BONNEY, 2005; GUNTER; LEITZMANN, 2006; WEETH; FASCETTI; KASS, 2007).

Dietas com alto teor lipídico aumentam a concentração tecidual do ácido araquidônico, conseqüentemente aumentando a concentração da ciclooxygenase e produção de prostaglandinas pró-tumorais (HANSEN-PETRIK et al., 2000).

Diversas hipóteses são propostas na literatura para explicar o motivo pelo qual o intestino delgado, que compreende 90% do comprimento do trato intestinal, apresenta uma aparente resistência ao desenvolvimento de neoplasias primárias em cães quando comparados ao cólon e reto (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002; OZAKI et al., 2002). Dentre essas, o trânsito alimentar do intestino delgado que é mais rápido em comparação ao cólon, reduz o tempo de exposição da mucosa intestinal às substâncias carcinogênicas, associado a isto, a concentração destes carcinógenos geralmente está diluída frente à grande produção de secreções pelas glândulas anexas do TGI. Já, a população bacteriana no intestino delgado é pequena e metabolicamente inativa, em comparação a microbiota colônica, impedindo que substâncias pré-carcinogênicas sejam convertidas em carcinogênicas (LOWNFELS, 1973; COIT, 1993). O intestino delgado possui um sistema enzimático microsomal que participa da detoxificação de substâncias carcinogênicas e produção e secreção de imunoglobulina (IgA) por linfócitos B na porção distal de íleo (COIT, 1993).

2.2 NEOPLASIAS EPITELIAIS

As neoplasias epiteliais intestinais em cães não são comuns e correspondem a aproximadamente 0,3% de todos os casos diagnosticados tanto em casos de necropsias, como de biópsias (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Os adenocarcinomas intestinais são neoplasias que se originam das células epiteliais das criptas intestinais e podem formar lesões nodulares, únicas ou múltiplas, em forma de placa, com superfície ulcerada, com ou sem comprometimento mural, que podem ocasionar estenose anular conseqüentemente ao comprometimento das camadas da parede intestinal (SOBRAL et AL., 2009).

Os cães portadores de neoplasias epiteliais intestinais são animais idosos com, idade de 9 anos. Os pólipos retais são observados em animais de meia idade (média de 7 anos). O adenocarcinoma intestinal parece ter maior predisposição em cães machos (HOLT; LUCKE, 1985). Segundo Paolini, Pennick e Moore. (2002) as fêmeas

apresentam pior prognóstico com baixo período de sobrevida de 28 dias, em contrapartida o autor observou que os machos têm um período de sobrevida maior com média de 228 dias, entretanto estes achados não foram observados em outros estudos.

Os padrões histológicos dos carcinomas intestinais incluem: glandular, nos quais recebem denominação com o prefixo *adeno*; mucinoso, no qual exibem mais de 50% de células produtoras de mucina; em anel de sinete quando acima de 50% das células apresentam mucina intracelular. O carcinoma indiferenciado ou sólido não apresenta formação de glândulas ou produção de mucina (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002). As neoplasias podem ser classificadas em: carcinoma de baixo grau, neste caso são bem ou moderadamente diferenciados; e de alto grau, quando os tumores são pouco diferenciados ou indiferenciados (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Além disso, o grau de reação fibroblástica estromal pode ser indicado pelos termos medular e esquisroso. A quantidade de infiltração linfocitária peritumoral e tipo de crescimento marginal variam de bem circunscrito ou difusamente infiltrativo, os quais devem ser mencionados, pois estes possuem significado prognóstico (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Geralmente, nos adenocarcinomas a mucosa é raramente esquirrótica, mas a extensão até a serosa revela marcada desmoplasia. Estes tumores aparecem como branco acinzentado e podem ser solitários ou múltiplos e são ligeiramente mais comuns na porção colorretal do que no intestino delgado (CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK; 1987; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Assim como em seres humanos, os adenocarcinomas intestinais caninos são encontrados com maior frequência no intestino grosso, especificamente na junção anorretal, porção média do reto e cólon ascendente (HOLT; LUCKE, 1985; CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK; 1987; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Macroscopicamente, os adenocarcinomas do intestino delgado são, na maioria dos casos, anulares, podendo ocorrer estenoses em qualquer nível do duodeno ao íleo afetando toda a espessura da parede intestinal podendo causar obstrução total ou parcial. Os tumores podem ser também circunscritos, intraluminais ou intramurais. O adenocarcinoma colorretal pode demonstrar características pedunculadas (especialmente na porção distal do reto), anulares (porção média do reto), características que podem dizer a respeito sobre o comportamento e prognóstico (CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK; 1987; JASS; SOBIN, 1988; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002). Os cães com carcinomas anulares colorretais têm um período de sobrevida muito mais curto de

1,6 meses, em comparação com cães que têm um único e pedunculado tumor polipóide nesta localização com sobrevida de 32 meses (CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK; 1987)

Os sítios mais comuns para a ocorrência de metástases incluem os linfonodos regionais (duodenal, mesentérico e colônico) e o fígado. Infiltração transcolônica e metástases à distância para pulmão, pele, baço, ossos, útero, ovários, testículos e rins já foram relatadas nos cães (SOBRAL et al., 2009).

Adenocarcinoma gástrico corresponde de 42% a 72% de todas neoplasias gástricas malignas (SWANN; HOLT, 2002). Macroscopicamente, é caracterizado por massas ou pólipos, únicos ou múltiplos projetados a partir da mucosa. A localização mais comum das lesões é a região da pequena curvatura ou antro pilórico (SOBRAL et al., 2009). A predisposição racial inclui Chow Chow, Staffordshire, Bull terrier e Collie para o carcinoma gástrico, enquanto o Pastor Belga é predisposto ao adenocarcinoma gástrico mucinoso (SULLIVAN; LEE; FISCHER, 1987; FONDA; GUALTIERI; SCANZIANI, 1989, PENNINCK; MOORE; GLIATTO, 1998). Algumas classificações histológicas vêm sendo propostas para os carcinomas gástricos em cães (PATNAIK; HURVITZ; JONHSON, 1977; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002). Em geral, os carcinomas gástricos são histologicamente caracterizados por crescimento infiltrativo da camada mais profunda da mucosa para submucosa, muscular e serosa (PATNAIK; HURVITZ; JONHSON, 1978; FONDA; GUALTIERI; SCANZIANI, 1989; SCANZIANI; GIUSTI; GUALTIERI, 1993; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Morfologicamente, os carcinomas gástricos podem ser classificados em dois tipos: intestinal e difuso (PATNAIK; HURVITZ; JONHSON, 1978). O tipo intestinal é caracterizado por células epiteliais polarizadas, podendo ser diferenciados em papilar, acinar e sólido. O tipo difuso é composto por células anaplásicas, indiferenciadas com padrão tubular, altamente invasivo, apresentando acentuada desmoplasia, sendo o tipo mais prevalente nos cães. Adicionalmente, os carcinomas gástricos difusos podem ainda ser diferenciados em adenocarcinoma (padrão glandular) e carcinoma indiferenciado. O prognóstico dos cães com carcinoma gástrico é ruim. A sobrevida varia de 0 a 10 meses a partir do diagnóstico (SWANN; HOLT, 2002).

Os adenomas gastrintestinais são diferenciados de lesões não neoplásicas, por apresentarem graus de displasias (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002). Assim, o adenoma papilar ou viloso é uma lesão em que mais de 80% do tumor é formado por projeções digitiformes na lâmina própria coberta por epitélio displásicos. Os adenomas

freqüentemente acometem a região de cólon e reto podendo ser múltiplos, mas são raros em intestino delgado (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002). Os pólipos gastrintestinais possuem base sésil ou pedunculada projetando-se sobre a superfície da mucosa, podendo ser resultado de uma hiperplasia regenerativa ou neoplasia. Os pólipos adenomatosos são encontrados no reto dos cães e, por vezes, são diagnosticados carcinoma *in situ* nessas lesões que acometem tanto o reto, como o cólon. A maioria dos pólipos é solitária, embora lesões múltiplas e difusas comprometendo espessamento circunferencial em todo o comprimento do cólon podem ser encontradas nos cães (PATINAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1980).

Os pólipos adenomatosos colorretais são principalmente do padrão tubulopapilífero e só podem envolver a mucosa superficial acima das criptas normais, embora em alguns casos possam apresentar marcada atipia celular e limitada invasão da submucosa. A transformação maligna dos tumores polipóides é de extrema relevância, pois a mucosa adjacente ao pólipo pode apresentar alterações neoplásicas e alguns cães podem desenvolver um segundo pólipo entre 1 a 18 meses após a polipectomia inicial (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

2.3 NEOPLASIAS HEMATOPOÉTICAS

2.3.1 Linfoma alimentar

Os linfomas representam grupo importante, heterogêneo e complexo de distúrbios proliferativos malignos originados a partir das células do tecido linfóide que variam quanto à epidemiologia, patogênese, histologia, manifestações clínicas e fatores prognósticos.

O linfoma é uma das neoplasias mais comuns nos cães (GUILFORD; STROMBECK, 1996). Relatos sobre sua taxa de incidência anual variam de 13–24 casos novos por 100.000 cães anualmente, mas supõe-se que esta taxa esteja subestimada (MOULTON; HARVEY, 1990). Há relatos da ocorrência do linfoma canino atingindo até 2% do total de casos clínicos de cães (TESKE, 1994; VAIL et al., 2001). Os linfomas são neoplasias comuns, que a ocorrência só é superada apenas pelas

neoplasias mamárias e cutâneas (FOURNEL-FLEURY et al., 1997). Assim, casos de linfomas podem corresponder de 7 a 24% de todas as neoplasias caninas e 83% de todas as neoplasias malignas hematopoéticas caninas (VAIL et al., 2001).

O linfoma primário gastrointestinal representa cerca de 5-7% de todos os linfomas caninos, o perfil epidemiológico destes animais não está bem estabelecido na literatura e relata-se uma grande variação em relação à idade e às raças acometidas. Mesmo assim, os levantamentos epidemiológicos indicam que os cães machos têm maior risco de desenvolvimento do linfoma primário gastrointestinal do que as fêmeas. Os linfomas mediastinais, linfomas cutâneos e linfomas alimentares estão relacionados com pior prognóstico devido a menor taxa de remissão e menor sobrevida (VAIL et al., 2001). O linfoma primário gastrointestinal costuma estar localizado principalmente no intestino delgado, seguido do estômago e cólon (COYLE; STEINBERG, 2004).

As características macroscópicas dos linfomas primários gastrointestinais nos cães são neoformações de consistência macia a firme e coloração amarelo acinzentada (COYLE; STEINBERG, 2004), variam de nódulos a massas polipóides, ou mesmo como infiltrado difuso; por vezes são formações únicas ou múltiplas presentes na submucosa, ou se estendendo ao lúmen, ou comprometendo até a serosa causando má absorção, esteatorréia e diarreia (COUTO et al., 1992). Na forma nodular observa-se espessamento segmentar do intestino freqüentemente na região íleo-ceco-cólica que poderá causar estreitamento luminal e obstrução intestinal parcial (JONES; HUNT; KING, 2000). No intestino grosso, normalmente ocorre infiltração difusa da mucosa e ulceração levando à melena (RICHTER, 1992). Polipose linfomatosa (PL) é uma distinta condição clinicopatológica descrita que tem sido considerada uma apresentação pouco comum que se manifesta na forma de numerosos pólipos que podem acometer ao longo de todo segmento do TGI de humanos e de cães (HIRAKAWA et al., 1996; JEONG et al., 2006). Isaacson, MacLennan e Subbuswamy (1984) distinguem PL dos linfomas gastrointestinais primários devido ao seu mau prognóstico; os autores sugerem que a PL intestinal é homóloga ao linfoma de zona do manto nodal. Lavergne et al. (1994) caracteriza que PL é oriunda de células B pequenas e clivadas com crescimento nodular.

As principais alterações laboratoriais hematológicas e bioquímicas encontradas em cães com linfoma gastrointestinal são a leucocitose por neutrofilia em 50% dos casos e aumento das aminotransferases hepáticas em 30% dos pacientes (COUTO et al.,

1992). Hiperbilirrubinemia, hipoproteinemia e hipoalbuminemia são alterações freqüentemente listadas em animais com linfoma alimentar (COUTO et al., 1992).

A hipercalcemia é uma das síndromes paraneoplásicas melhor descrita em medicina veterinária, sendo atribuída à liberação de fatores protéicos de reabsorção óssea, como o fator ativador de osteoclastos por parte dos linfócitos neoplásicos (COUTO, 1992). Essas proteínas estimulam a reabsorção óssea e renal do cálcio, e possuem efeito semelhante ao paratormônio (COUTO, 1992).

Tais quadros de reabsorção óssea levam a osteopenia, facilitando o aparecimento de fraturas patológicas (FIGHERA, 2000). A hipercalcemia leva ainda a hipercalcúria e conseqüente disfunção tubular renal e urolitíase (MEUTEN; ARMSTRONG, 1992).

O linfoma, mieloma múltiplo, plasmocitoma, leucemia linfocítica crônica e a macroglobulinemia primária (macroglobulinemia de Waldenström) são conhecidos como tumores secretores de imunoglobulina que são chamadas de paraproteínas ou componente M e podem ser IgM, IgG e IgA (RAPAPORT, 1990). Quando produzidas em grandes quantidades, interferem na função plaquetária levando a trombocitopatias e inibem alguns fatores de coagulação, ocasionando diátese hemorrágica (BAIN, 1995). Clinicamente, os animais podem apresentar epistaxe, sangramento gengival e gastrointestinal. As paraproteínas em excesso tornam o sangue mais viscoso e causam a chamada síndrome de hiperviscosidade que leva a distúrbios neurológicos, cardíacos e renais (FIGHERA, 2000).

Os pacientes com linfoma comumente desenvolvem anemia hipoplásica de leve à moderada, decorrente da liberação de fatores neoplásicos que deprimem a eritropoese. A infiltração da medula óssea pelo tumor pode ocasionar anemia mielotísica, agravando o processo. Outras formas de anemia são também descritas, dentre elas: anemia hemolítica auto-imune, anemia hemorrágica e anemia das doenças crônicas (FIGHERA, 2001).

Hipereosinofilia periférica é uma condição paraneoplásica que acomete cães e seres humanos com linfoma T intestinal, a qual foi recentemente descrita por diversos autores (MARCHETTI et al., 2005). Diversos mecanismos biológicos são responsáveis pela indução da hipereosinofilia paraneoplásica, dentre eles a produção de fatores eosinopoéticos e IL-5 pelas células neoplásicas (MARCHETTI et al., 2005). Em seres humanos a hipereosinofilia periférica pode ser a primeira indicação da presença ou evolução de um quadro neoplásico maligno, todavia em alguns casos a doença pode aparecer anos após o reconhecimento inicial da eosinifilia (MARCHETTI et al., 2005).

Nos anos 70, diversas classificações para os linfomas em seres humanos foram propostas, com diversas bases conceituais, tais como: a classificação de Rappaport (1966), a de Lukes e Collins (LUKES, 1974), a de Kiel (LENNERT; STEIN; KAISELING., 1975), a do grupo inglês de investigação dos linfomas British National Lymphoma Investigation (HENRY et al., 1978), a de Dorfman (1974) e da Organização Mundial de Saúde (MATHE; RAPPAPORT; O'CONOR, 1976) eram usadas em todo mundo. Tal diversidade refletia a falta de consenso entre os diversos grupos de estudiosos, resultando na falta de critérios uniformes para o diagnóstico de linfomas e dando origem a divergências entre patologistas e oncologistas, tornado muito difícil a comparação dos trabalhos publicados na literatura especialmente quanto à história natural dos linfomas e à resposta terapêutica.

Na tentativa de esclarecer as confusões e controvérsias criadas pelos sistemas de classificação para as neoplasias do tecido linfóide, o instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos em 1982 desenvolveu o sistema de classificação “Working formulation”, no qual os linfomas humanos são divididos em três grupos prognósticos indicados por graus de malignidade e alterações clínicas baseados na sobrevida dos pacientes. Esta classificação é relativamente fácil de ser aplicada pelo patologista uma vez, que é baseado predominantemente pelo padrão de crescimento (folicular versus difuso), características celulares (células pequenas ou grandes, clivadas ou não clivadas e diferenciação plasmocitária) e grau de malignidade (baixo, médio e alto grau) (GREENLEE et al., 1990; SEQUEIRA; FRANCO, 1992). Dentro dessa classificação, os linfomas de alto grau, de grandes células e padrão difuso são os de maior incidência na espécie canina. Estes são mais agressivos, mas respondem melhor aos procedimentos terapêuticos (JEGLUM, 1996). A comparação entre as classificações citadas está apresentada no quadro 1.

Os linfomas caninos também são classificados quanto ao aspecto citológico (linfocítico, misto e linfobástico) e imunológico. O linfoma linfocítico ou linfoma bem diferenciado consiste de pequenas células redondas, com cromatina nuclear condensada, nucléolo evidente e citoplasma escasso, exibindo um padrão uniforme e monomórfico. O linfoma misto ou de diferenciação intermediária apresenta uma mistura de células pequenas e células intermediárias ou grandes, com a cromatina condensada e citoplasma moderadamente escasso. A forma linfoblástica ou pouco diferenciada consiste de células atípicas, que são maiores. As células são uniformes em tamanho, apresentam núcleo

redondo ou oval, cromatina condensada, nucléolo evidente e citoplasma escasso. Figuras de mitose são mais frequentes nesta forma de linfoma (MOULTON; HARVEY, 1990).

Frente aos sistemas de classificação dos linfomas existentes o grupo internacional de estudos de linfomas de humanos (International Lymphoma Study Group) propôs uma outra classificação das neoplasias do tecido linfóide denominada de R.E.A.L (Revised European- American classification of Lymphoid Neoplasm) (HARRIS et al., 1994).

A R.E.A.L –1994 identifica três grandes grupos de neoplasias do tecido linfóide: 1. neoplasias de células linfóides B, 2. Neoplasias de células linfóides T e NK e 3. linfoma de Hodgkin. Dentro destes grupos as neoplasias foram categorizadas e individualizadas, utilizando-se para isto uma combinação de morfologia celular, imunofenotipagem, genética e apresentação clínica (HARRIS et al., 1994).

Para a classificação dos tumores dos tecidos linfóide e hematopoético, a Organização Mundial da Saúde (OMS) adotou os princípios definidos na classificação da R.E.A.L –1994.

A classificação da OMS dos tumores dos tecidos linfóides e hematopoéticos foi publicado em 2001 e subdivide as neoplasias de acordo com a linhagem celular: mielóide, linfóide, histiocítica, células dendríticas, e mastocítica; e dentro de cada categoria as entidades são definidas de acordo com a combinação de aspectos clínicos, morfológicos, imunofenotípico e genéticos. Nessa classificação são reconhecidos três grupos de neoplasias do tecido linfóide: neoplasias de células linfóides B, neoplasias de células linfóides T, e NK. Dentro do grupo destas neoplasias duas grandes categorias são reconhecidas: neoplasias precursoras, que correspondem ao estágio inicial de diferenciação das células linfóides, e as neoplasias maduras ou periféricas, que correspondem ao estágio de diferenciação mais avançado das células linfóides (JAFFE et al., 2001).

A imunofenotipagem das células linfóides é uma importante chave para o diagnóstico e subclassificação dos linfomas caninos. O anticorpo CD79a é considerado um excelente marcador de células B, sendo expresso em todos os estágios de diferenciação dessas células. O anticorpo CD79a mostra imunopositividade em 97-100% das neoplasias de células B em seres humanos e muitas doenças originadas de plasmócitos, freqüentemente com padrão de marcação citoplasmático (JAFFE et al., 2001; HSI; YEGAPPAN, 2001).

A expressão de CD3 é observada em 41-95%, utilizando anticorpo policlonal, e em 66%, com anticorpo monoclonal, dos linfomas de células T. O padrão de marcação citoplasmática e de membrana é observado quando se utiliza anticorpo policlonal, e marcação apenas de membrana com anticorpo monoclonal. A marcação de membrana do CD3 é indicada para ser específica para neoplasias linfóides de células T; e sua expressão citoplasmática é freqüentemente observada em neoplasias de células T e *natural killer* (JAFFE et al., 2001; HSI; YEGAPPAN, 2001).

Embora, o que se acreditava anteriormente que os linfomas gastrintestinais primários em cães eram em sua grande maioria de origem de células B, trabalhos recentes mostraram que 75% dos cães com linfoma gastrintestinal são de origem de células T exibindo epiteliotropismo (COYLE; STEINBERG, 2004).

Identificar o imunofenótipo dos linfomas é importante e útil para a seleção do melhor protocolo antineoplásico, melhorando o prognóstico e aumentando a sobrevida destes animais (LADIGES et al., 1988). Recentemente, Ponce et al (2004) demonstraram diferenças significativas com relação ao prognóstico entre os subtipos B e T em cães. Estudos revelaram que a sobrevida dos animais acometidos por linfomas gastrintestinais de células T é menor devido ao comportamento clínico mais agressivo do que por neoplasias de células B (FISHER; NAYADAN; WERNER, 1995; GREENLEE et al., 1990; KIUPEL; TESKE; BOSTOCK, 1999).

Working Formulation	Rappaport	Lukes-Collins	Kiel
Baixo grau			
Linfocítico-pequenas células	Linfocítico-bem diferenciado.	Linfocítico-células pequenas	Linfocítico
Folicular,-predomínio de pequenas células clivadas	Nodular-linfocítico pouco diferenciado	Linfocítico Plasmocitóide	Linfoplasmocitóide
Folicular misto-células clivadas pequenas e grandes	Nodular-misto linfocítico-histiocítico	FCC, células clivadas pequenas FCC, células clivadas grandes e pequenas	Centrocítico Centrocítico-Centroblástico
Grau Intermediário			
Folicular,-predomínio de grandes células	Nodular histiocítico	FCC- Grandes clivadas e/ou não clivadas	Centrocítico
Difuso-células pequenas Clivadas	Difuso, linfocítico pouco diferenciado	FCC Difuso-células pequenas Clivadas	Centrocítico-Centroblástico
Difuso-grandes células	Difuso, misto linfocítico histiocítico Difuso histiocítico	FCC- células clivadas pequenas células, grandes clivadas ou não clivadas FCC-grandes células clivadas ou não	
Alto Grau			
Grandes células, Imunoblástico	Difuso histiocítico	Imunoblástico tipo células T ou B	Imunoblástico
Linfoblástico	Linfoma linfoblástico convolutas	Linfoma de Células T	Linfoblástico T
Células não clivadas pequenas	Indiferenciado, Burkitt	FCC- Células pequenas não clivadas	Linfoblástico B

Quadro 1 - Classificações cito-histopatológica dos Linfomas caninos

2.3.2 Mastocitoma gastrintestinal

Os mastocitomas são as neoplasias de pele mais comum em cães, representando entre 7 e 25% de todas neoplasias de pele e entre 11 e 27% de todas neoplasias malignas cutâneas. Entretanto, os mastocitomas gastrintestinais são raros e suas características patológicas permanecem obscuras (TAKAHASHI et al., 2000).

Os mastócitos normalmente podem ser encontrados em diferentes localizações, mas principalmente perivascular nos pulmões, na mucosa gástrica e na derme. Sua distribuição varia de acordo com a espécie animal e o número aumenta conforme a idade. Essas células são originárias de células hematopoiéticas pluripotentes, apesar de apresentarem características funcionais, bioquímicas e morfológicas diferentes. Acredita-se que os elementos celulares progenitores dos mastócitos migrem da medula óssea para os tecidos periféricos como células imaturas e, posteriormente, sofram diferenciação *in situ* (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2000).

As porções altas do trato gastrintestinal são os locais mais acometidos por mastocitoma e estão associados a um pobre prognóstico (OZAKI et al., 2002). Segundo esses autores a prevalência e distribuição dos mastocitomas gastrintestinais correspondem 20,5% dos casos no estômago, duodeno 33,3%, intestino delgado 28,2%, intestino grosso 10,3% e distribuição multissegmentar em 7,7% dos casos (OZAKI et al., 2002).

Os mastocitomas intestinais macroscopicamente são caracterizados por distribuição difusa; por vezes, podendo apresentar formações nodulares únicas ou múltiplas, intraluminal ou extraluminal (HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

As raças miniaturas como Maltês, Chihuahua e Yorkshire Terrier são frequentemente acometidos com idade média de 9,7 anos e sem predisposição sexual (TAKAHASHI et al., 2000; OZAKI et al., 2002).

Os principais sinais e sintomas clínicos relacionados em cães acometidos por mastocitoma gastrintestinal são: prostração, anorexia, êmese, diarreia, melena (TAKAHASHI et al., 2000; OZAKI et al., 2002). Outras complicações como úlceras gastroduodenais, distúrbios de coagulação e retardo na cicatrização, vêm sendo descritas por diversos autores (MACY, 1985; O'KEEFE, 1990; ROGERS, 1993).

As ulcerações têm como localização mais comum o estômago quando comparado ao duodeno, e a frequência relatada pelos diferentes autores varia de 25% a

83% dos animais (MACY, 1985; O'KEEFE, 1990; YAGER; SCOTT, 1993). A hipótese mais aceita para explicar o aparecimento destas lesões está relacionada a histamina liberada pelos mastócitos levaria a lesões endoteliais, liberação de fibrolisina e à lesão da vasculatura da submucosa gástrica, com conseqüente trombose e infarto destas áreas (MACY, 1985; O'KEEFE, 1990; YAGER; SCOTT, 1993).

Os mastocitomas são incluídos no grupo das neoplasias de células redondas juntamente com linfoma, plasmocitoma, histiocitoma, melanoma e o tumor venéreo transmissível (LONDON; SÉGUIN, 2003). Além disto, é muito importante diferenciar os mastocitomas primários gastrintestinais de lesões metastáticas de mastocitomas cutâneos. Os linfomas malignos são caracterizados por núcleos redondos com cromatina densa, nucléolo grande e evidente e citoplasma escasso. Em contraste nos mastocitomas bem diferenciados, os mastócitos neoplásicos contêm grânulos, os quais podem variar em número e conteúdo de acordo com o grau de diferenciação, citoplasma abundante a moderado, núcleo redondo com cromatina dispersa, estroma fibroso, infiltração eosinofílica e pequenas áreas de necrose podem ser observadas (O'KEEFE, 1990; OZAKI et al., 2002).

O diagnóstico morfológico é feito através das colorações específicas como Azul de alciano, Giemsa ou Azul de Toluidina, que tornam os grânulos metacromáticos de coloração azul em violáceo (LONDON; SÉGUIN, 2003). Todavia, nas neoplasias pouco diferenciadas, a quantidade de grânulos pode ser tão pequena que dificulte a visualização e conseqüentemente dificulte o diagnóstico. Nestes casos, portanto, o diagnóstico histoquímico não deve ser usado como único método. Os anticorpos utilizados para o diagnóstico imuno-histoquímico dos mastocitomas incluem a imunoexpressão para o anticorpo C-KIT e triptase (OZAKI et al., 2002). O C-Kit é positivo em 77% dos casos e o padrão de marcação é citoplasmática e de membrana, enquanto o anticorpo triptase é positivo em 66% dos casos com marcação citoplasmática (OZAKI et al., 2002). Mastocitomas são negativos para CD3, CD79 e citoqueratinas (OZAKI et al., 2002). O anticorpo CD45RA não deve ser usado, pois tanto linfomas B como os mastocitomas apresentam imunoexpressão para esse anticorpo (OZAKI et al., 2002).

A graduação histopatológica tem sido o método de eleição de prever o prognóstico e comportamento dos mastocitoma. O prognóstico do mastocitoma cutâneo esta ligado ao grau histopatológico, e o pleomorfismo celular. Todavia, o sistema de

classificação histopatológica e o pleomorfismos, não são métodos úteis para estabelecer prognóstico dos mastocitomas gastrintestinais (OZAKI et al., 2002).

O comportamento dos mastocitomas é extremamente variável, fazendo com que os clínicos e cirurgiões os considerem como neoplasias potencialmente malignas. Aproximadamente 50% são agressivos, apresentando taxas de recidiva e/ou metástases em 28 a 80% dos casos (MACY, 1985; O'KEEFE, 1990; YANGER; SCOTT, 1993; SIMOES; SCHONING; BUTTINE, 1994). Invasão vascular e linfática é observada em 13% e 31% dos casos, respectivamente. Os principais sítios de metástases são os rins, glândula adrenal, fígado, baço, pulmões, coração, mediastino e linfonodos pancreáticos e esplênicos (OZAKI et al., 2002).

A taxa de sobrevivência durante os primeiros 30 dias após o diagnóstico é apenas 39,1% (OZAKI et al., 2002). Segundo o estudo proposto por Ozaki et al. (2002) mastocitomas gastrintestinais apresentam prognóstico ruim devido a alta taxa de figuras de mitose em 77 % das neoplasias e o alto índice de proliferação tumoral com valor de PCNA de 38%. Para Abadie, Armadeih e Delverdier (1999) e Scase et al. (2006) o índice de PCNA foi maior nos animais que vieram a óbito em comparação aos animais que sobreviveram com mastocitoma cutâneo. Sakai et al. (2002) encontraram diferenças significativa entre os graus histopatológicos na contagem de células positivas para o KI-67 ($p < 0,01$), concluindo ser este um importante marcador de proliferação para mastocitomas. Scase et al. (2006) confirmaram a utilidade do KI-67 como indicador prognóstico para mastocitomas cutâneos independente da graduação histológica, sendo este útil, principalmente, na subdivisão de mastocitomas grau II quanto à agressividade.

2.4 NEOPLASIAS MESENQUIMAIS

As neoplasias mesenquimais gastrintestinais representam um grupo de neoplasias de origem não epitelial que têm como denominador comum a proliferação de células fusiformes ou epitelióides da parede do trato gastrintestinal (PASQUINELLI et al., 1995). Nesse grupo estão incluídos os leiomiomas, leiomiiossarcomas (LMS), schwannoma (SCH) hemangiossarcoma, lipossarcoma e os tumores estromais gastrintestinais (GIST) (FROST; LASOTA, MIETTINEN, 2003; LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005).

Devido à elevada similaridade histológica das neoplasias GI mesenquimais, muitas vezes não é possível estabelecer um diagnóstico morfológico preciso pelos métodos tradicionais, sendo difícil a diferenciação entre LMS, SCH e o GIST, justificando o comportamento imprevisível destas neoplasias. Assim, a avaliação imuno-histoquímica é extremamente importante para prever a origem e agressividade tumoral, bem como diferenciar o GIST das neoplasias verdadeiras de músculo liso e neoplasias neurais.

2.4.1 Tumor estromal gastrintestinal (GIST)

Atualmente, o GIST é a neoplasia mesenquimal mais comum do trato GI relatado em cães, cavalos, primatas não humanos e humanos e apresenta características morfológicas, imuno-histoquímicas e genéticas peculiares, que o diferencia de outras neoplasias do trato GI.

Estudos conduzidos em amostras de GISTS de casos humanos e de cães usando marcadores imuno-histoquímicos e microscopia eletrônica revelaram diferenciação em músculo liso (miogênica), tecido neural (neurogênica), combinação de ambos (misto) ou indiferenciado (anaplásico) justificando seu difícil diagnóstico e comportamento imprevisível (MACK AMIM et al., 1993; LA ROCK; GINN, 1997; FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; HEAD; CULLEN; DUBIELZIG, 2003). No passado, os GISTS eram diagnosticados como leiomioma, leiomioblastoma, leiomiossarcoma, neurofibroma e schwannoma (MIETTINEN; LASOTA, 2000; FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006).

Os GISTS são caracterizados microscopicamente pela proliferação de células fusiformes ou epitelióides, podendo ocorrer à presença simultânea de ambas as formas no mesmo neoplasma (FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006).

GIST de células fusiformes são compostos por fascículos curtos entrelaçados de células com núcleos alongados e citoplasma eosinofílico, fibrilar, podendo, algumas vezes, apresentar padrões sugestivos de diferenciação neural, como estratificação em paliçada dos núcleos, crescimento plexiforme e, mais raramente, pigmentação melânica (FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006). GIST epitelióides são formados por ninhos ou cordões de células com núcleos ovóides ou arredondados, com

citoplasma abundante e eosinofílico, freqüentemente com vacúolos citoplasmáticos perinucleares. O estroma pode ser hialinizado ou mixóide. Citologicamente, o GIST tem aspecto bastante homogêneo, o pleomorfismo é infrequente, o núcleo apresenta cromatina fina e os nucléolos são pouco evidentes. Destaca-se que necrose, hemorragia e ulceração da mucosa podem estar presentes.

O índice mitótico é bastante variável e juntamente com o tamanho da neoplasia, constituem os mais fidedignos parâmetros para se estimar o risco de comportamento biológico maligno da neoplasia (FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006). Diversos estudos mostram que o número de figuras de mitose nos GISTs está associado ao grau de agressividade da neoplasia (LEE, 1983). Assim, GIST com atividade mitótica variando de 5-50/ 10 campos 400x são designados como malignos e neoplasias acima de 50 mitoses/ 10 campos 40x são altamente malignos, enquanto lesões com contagem 2 a 5 mitoses\ 10 campos 40 x são potencialmente malignos e contagens com menos 2 mitoses\ 10 campos são benignas (MIETTINEN; LASOTA, 2000; FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006).

A agressividade relacionada ao tamanho da lesão aponta que formações maiores têm prognóstico reservado, enquanto as lesões menores apresentam melhor evolução, com melhores índices de sobrevivência (LEE, 1983). Neste contexto, lesões com tamanho maior que 5 cm podem ter comportamento maligno e apresentar metástases com freqüência mesmo quando apresentam números reduzidos de mitoses por campo (MIETTINEN; SARLOMO-RIKALA; LASOTA, 1998). Uma combinação de formações pequenas (≤ 5 cm) associada ao baixo número de mitoses pode apresentar comportamento benigno, entretanto, no caso de tumor gástrico o comportamento é menos agressivo, do que em relação a neoplasias intestinais com atividade mitótica intensa (FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2002; RUBIN, 2006).

Uma das formas de estimar o potencial de malignidade do GIST foi descrito por Fletcher; Berman e Corless (2002), no quadro 2, baseado no tamanho do tumor e em seu índice mitótico em casos humanos.

Risco de comportamento agressivo	Tamanho do tumor	Contagem de figuras de mitose
Risco muito baixo	< 2cm	< 5/50 por campo de 400 x
Baixo risco	2-5 cm	< 5/50 por campo de 400 x
Risco intermediário	< 5 cm	6-10/50 por campo de 400 x
	< 5 cm	< 5/50 por campo de 400 x
Alto risco	>10 cm	qualquer taxa de mitoses
	qualquer tamanho	> 10/50 por campo de 400 x

Quadro 2 - Riscos de comportamento agressivo do GIST relacionado ao tamanho e contagem de figuras de mitose em neoplasmas do homem. (FLETCHER, C. D.; BERMAN, J. J.; CORLESS, C. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. **Human Pathology**, v. 33,p. 459-465, 2002.)

Com relação ao prognóstico dos GISTS, a presença de necrose na neoformação determina pior prognóstico quando comparado às lesões que não apresentam áreas de necrose, com redução significativa da sobrevivência em estudos com pacientes humanos demonstrada por diversos autores (LINDSAY; ORDONEZ; RAAF, 1981; LEE, 1983; FARRUGIA et al., 1992).

Roy e Sommers (1989) mostraram não haver diferença significativa entre a presença de necrose e a sobrevida, contestando os achados dos autores anteriores.

O comprometimento da parede do órgão pelo neoplasma também está diretamente relacionado ao prognóstico da doença, assim, quando há invasão da serosa, observa-se significativa redução na sobrevida nos índices de sobrevivência em 5 anos (LEE, 1983; FARRUGIA et al., 1992).

A presença de células epitelióides também mostrou ser um critério que influencia a evolução destas neoplasias. A proporção elevada de células epitelióides em relação às fusiformes indica um comportamento maligno no homem (FARRUGIA et al., 1992; MIETTINEN; SARLOMO-RIKALA; LASOTA, 1998).

O marcador imuno-histoquímico CD117, denominado C-KIT, é um receptor de membrana celular, classificado como fator regulador do crescimento celular ou fator formador de colônia, essencial no desenvolvimento de melanócitos, eritrócitos, mastócitos, células germinativas e da célula intersticial de Cajal (MIETTINEN; LASOTA, 2000).

O CD117 está presente em até 54 -58 % dos GISTs malignos em cães (FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; CERIEL et al., 2007), sendo pouco freqüente nas formações benignas, e ausente nas neoplasias típicas de origem muscular e nervosa

(MIETTINEN; SARLOMO-RIKALA; LASOTA, 1998). A expressão de C-KIT é geralmente difusa e de forte intensidade, sendo observada no citoplasma das células neoplásicas, podendo ocorrer pontualmente em localização paranuclear (conhecido como padrão golgi ou “dot-like”) (WEST; CORLESS; CHEN, 2004).

Recentemente, estudos de expressão gênica em seres humanos identificaram que a proteína de função desconhecida DOG1 (sigla derivada da língua inglesa de “discovered on GIST-1”) é expressa em GIST que são C-KIT negativos (WEST; CORLESS; CHEN, 2004).

Na literatura veterinária existem algumas propostas para classificar os GIST que são negativos para anticorpo C- KIT. Estas neoplasias são classificadas como *GIST-like* quando apresentam morfologia compatível com GIST, porém não apresentam imunoexpressão para C-KIT, mas apresentam marcação positiva para vimentina, combinada com a positividade e negatividade de qualquer dos seguintes marcadores imuno-histoquímicos α - actina de músculo liso (SMA), desmina e proteína S-100 (CERIEL et al., 2007). RUSSEL et al. (2007) classificaram como sarcoma indiferenciado, neoplasias C-KIT negativo e vimentina positivo.

A imunoexpressão positiva de SMA é observada em células normais de músculo liso e em células neoplásicas de músculo liso, benignas ou malignas, e em alguns fibroblastos. Considera-se um importante subconjunto de GIST positivo para SMA em 33-40% dos casos estudados em cães (FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; RUSSEL et al., 2007).

A proteína S100 é um marcador típico das lesões originárias do plexo nervoso mioentérico, que está presente em maior parte nas neoplasias de origem nervosa, e ausente nas neoformações de origem muscular (MIETTINEN; SARLOMO-RIKALA; LASOTA, 1998). Em 68-73% dos GISTS observa-se imunorreatividade positiva para S100 (LA ROCK; GINN, 1997; CERIEL et al., 2007,). Interessantemente, a desmina, marcador para células musculares, é positiva em 80-82% dos casos de GISTS (LA ROCK; GINN, 1997; CERIEL et al., 2007).

O anticorpo CD34 é uma glicoproteína de superfície celular, e foi originalmente descrito em células precursoras de tecido mielóide e linfóide na medula óssea. Além disso, em 60-70% de todos os GISTS localizados no esôfago e reto são positivos para CD34 (MIKHAEL et al., 1994; MONIHAN; CARR; SOBIN, 1994; MIETTINEN; LASOTA, 2000). Não há diferença significativa da expressão do CD34 entre os GISTS benignos e malignos (MIETTINEN; LASOTA, 2000). Como os GISTS são neoplasias

mesenquimais eles são 100% positivos para vimentina, porém são negativos para neurofilamentos e proteína glial fibrilar ácida (GFAP) (MIETTINEN; LASOTA, 2000; RUSSEL et al., 2007).

Frost, Lasota e Miettinen (2003) observaram que 48% dos GISTS em cães estão localizados no intestino grosso, 29% no intestino delgado, 19% no estômago e 5% no mesentério. Segundo alguns autores o ceco é o principal sítio de desenvolvimento dos GIST sem animais com idade média 10,7 anos, e está associada a maior agressividade e ao maior risco de perfuração intestinal e desenvolvimento de peritonite e septicemia (RUSSEL et al., 2007, CERIEL et al., 2007). Há evidências de disseminação hematogena metastática no ser humano em 30% dos casos para o fígado, superfície serosa intestinal ou cavidade abdominal, enquanto metástases ósseas e pulmonares são raras (FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003). Em contraste aos cães a distribuição anatômica em humanos é: estômago, 60-70 %, intestino delgado, 20-25 %, cólon e reto, 5%, e esôfago, ≤ 5 % (MIETTINEN; LASOTA, 2000).

Sinais e sintomas clínicos descritos nos cães com GIST são: letargia, êmese, inapetência, melena, hematoquesia, perda de peso e hematoêmese (RUSSEL et al., 2007). Alterações laboratoriais incluem: anemia, leucocitose por neutrofilia, trombocitopenia, hipalbuminemia, azotemia, aumento das aminotransferases hepáticas e hipoglicemia (RUSSEL et al., 2007).

Os principais diagnósticos diferenciais do GIST são: leiomioma, leiomiossarcoma no cão e, schwannoma, pólipos fibróides inflamatórios e fibromatose tipo desmóide para o homem. A reação de imuno-histoquímica é muito útil no diagnóstico diferencial, pois todas estas neoplasias não expressam CD117. Deve-se atentar para o fato de que a expressão de CD117 não é restrita aos GISTs, podendo ser observada em melanoma, tumores de células germinativas, mastocitomas, seminomas e angiossarcomas. Contudo, essas neoplasias apresentam morfologia peculiar e imunorreatividade para outros anticorpos, que não é observado no GIST (RUBIN, 2006, MIETTINEN; LASOTA, 2006).

Segundo RUSSEL et al. (2007) a sobrevida média de animais com GIST submetidos a procedimento cirúrgico, sem tratamento quimioterápico adjuvante, é 11,6 meses. Outros estudos apontam que o tempo de sobrevida de animais com neoplasias mesenquimais gastrointestinais é superior a 12 meses, entretanto estes autores não diferenciam os principais tumores GI (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992, COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

As células de Cajal são células intersticiais e são consideradas o marcapasso do TGI, que podem expressar imunoreatividade positiva para CD117, estas células regulam os estímulos responsáveis pela motilidade GI (KINDBLOM et al., 1998). A estreita associação do CD117 com as células de Cajal levou à hipótese que o GISTs poderiam ser originários dessas células e ter a mesma origem histogenética, mas tal fato ainda é motivo de estudo e controvérsia com relação a origem dos GISTs (KINDBLOM et al., 1998). No entanto, Sakurai et al. (1999) relataram que células de Cajal e o GIST compartilhavam a expressão de miosina embriônica, suspeitando-se que as células de Cajal sejam precursoras celulares do GIST.

2.2.2 Neoplasias de músculo liso

Leiomiossarcomas (LMS) acometem animais idosos, com média de idade de 11,8 anos para neoplasias localizadas no ceco e 10,3 anos para formações que acometem o estômago, duodeno e jejuno (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

A prevalência varia de 12-120 casos/10.000 cães; nos quais os leiomiomas (LM) e os LMS correspondem 10-30% de todos os tumores mesenquimais gastrintestinais em cães (BRUECKER; WITHOW, 1998). A frequência do LMS corresponde menos de 0,2% em 10.270 necropsias realizadas em cães (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; BRUECKER; WITHOW, 1998).

A morfologia dessas neoplasias se caracteriza por células alongadas bem diferenciadas de músculo liso com pouca ou moderada celularidade, núcleo alongado com bordos retos conferindo formato de charuto, citoplasma eosinofílico, elevada relação núcleo citoplasma e necrose (JASS; SOBIN, 1989; MIETTINEN; LASOTA, 2000). A distinção morfológica entre leiomiomas LM e LMS é extremamente difícil. O critério morfológico mais importante para diferenciação é a contagem de figuras de mitose. Assim, contagens acima de 10 mitoses/ campo 40x são indicativos de malignidade (JASS; SOBIN, 1989).

LMS são caracterizados por serem grandes formações polipóides maiores do que 5 cm e por apresentarem invasão em tecidos adjacentes, podendo acometer o esôfago,

jejuno, ceco e porção colo-retal comprometendo principalmente a camada muscular e mucosa (JASS; SOBIN, 1989; MIETTINE; LASOTA, 2000). A presença de perfuração intestinal e peritonite podem ocorrer em 50% dos cães com LMS intestinal (COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

O início da sintomatologia é de caráter agudo ou subagudo quando associada a quadros de abdome agudo. Cohen et al., (2003) avaliou os principais sinais e sintomas clínicos de 14 animais com LMS gastrintestinal e constatou que êmese, diarreia, anorexia, poliúria, polidipsia, letargia, melena, constipação e perda de peso são as principais alterações clínicas nos cães. O período médio de duração da sintomatologia variou de 5 horas até 5 meses.

As principais alterações laboratoriais encontradas são anemia (63,3%), hematócrito médio de 19,9% (variação de 13,7 a 33%), hipoglicemia (54,4%) concentração de glicose média 58,5mg/dL (variação de 38 a 64mg/dL), leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda (40%), hipoproteïnemia, azotemia e aumento sérico da enzima fosfatase alcalina (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998; COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

Diversos estudos apontam a hipoglicemia como a principal síndrome paraneoplásica dos animais portadores de LMS abdominal. A hipoglicemia é resultante da produção de hormônio insulina-like pela neoplasia. Adicionalmente, a grande demanda de glicose pelo alto metabolismo tumoral aliado à diminuição da gliconeogênese hepática secundária aos danos decorrentes da metástase neoplásica são outros fatores que contribuem para a hipoglicemia (KAHN, 1980; BEAUDRY; KNAPP; MONTGOMERY, 1995; BELLAH; GINN, 1996; BAGLEY; LEVY; MALARKEY, 1996; COHEN; POST, 1999).

Poliúria e polidipsia estão presentes em 36% dos cães com LMS intestinal (KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; COHEN; POST; WRIGHT, 2003). Segundo os autores Cohen e Post (1999) a poliúria e polidipsia são consideradas uma síndrome paraneoplásica em animais com LMS secundário ao quadro de *diabetes insipidus*.

No momento do diagnóstico, 16-37,5% dos cães com LMS intestinal têm metástase intra-abdominal e destaca-se que o fígado, o peritônio, o mesentério e o linfonodo mesentérico são os locais mais acometidos (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; GIBBS; PEARSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN;

MATTHIESEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Animais que têm um diagnóstico clínico precoce e são submetidos prontamente ao tratamento médico e cirúrgico, podem em 40 a 60% dos casos não apresentarem recidiva e esta condição está associada à elevada sobrevida (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998).

Cohen; Post e Wright (2003) relatam que a sobrevida de animais com LMS intestinal variam de 0 a 47 meses, cuja média é 12 meses. Animais que apresentam LMS em ceco apresentam menor tempo de sobrevida com média de 7,5 meses, quando comparada às neoplasias localizadas no estômago, jejuno e duodeno, nestes casos o período de sobrevida é 1,1 anos (KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992).

Um dos parâmetros adotados para mensurar a sobrevida pós-operatória de pacientes humanos é o índice mitótico. Pacientes humanos com LMS de baixo índice mitótico apresentaram sobrevida média de 98 meses, em contrapartida pacientes com alto índice tem média de 25 meses de sobrevida (OWEN, 1980).

A classificação imuno-histoquímica dos LM e LMS é caracterizada pela imunoexpressão de um ou ambos marcadores para musculatura lisa, ou seja, SMA e desmina positiva, com, ou sem, a expressão da vimentina e associada à ausência da expressão de CD117, S100 e citoqueratina (HEAD; CULLEN; DUBIELZIG, 2003; FROST; LASOTA; MIETTINEN, 2003; CHUN-HO et al., 2007).

2.2.3 Osteossarcoma extra-esquelático

O osteossarcoma é a neoplasia óssea primária freqüentemente diagnosticada no cão, e é responsável por mais de 85% das neoplasias com origem no esqueleto de pequenos animais (PATINAIK, 1990; LAGENBACH et al, 1998; SILVEIRA, 2006). O esqueleto apendicular é o mais comumente acometido com incidência de 75%, sendo as localizações mais comuns na região metafisária do úmero proximal, região distal do rádio e ulna, porção distal do fêmur e região proximal da tibia e com incidência de 25% no esqueleto axial (PATINAIK, 1990; LAGENBACH et al, 1998; SILVEIRA, 2006).

Esse neoplasma, nessas condições, apresenta caráter extremamente agressivo, tanto no local de crescimento quanto pela formação de metástases (LAGENBACH et al, 1998).

Apesar da localização característica do osteossarcoma, este pode acometer qualquer tecido, tanto primariamente quanto secundariamente. Os osteossarcomas extra-esqueléticos são neoplasias mesenquimais malignas produtoras de matriz osteóide que ocorrem em tecidos moles e órgãos e não apresentam comprometimento ósseo ou periosteal concomitante; não há uma causa de base definida, mas alguns autores apontam a participação de células pluripotenciais indiferenciadas na etiopatogênese desse neoplasma (SCHENA et al, 1989; PATINAIK, 1990; LAGENBACH et al, 1998; SILVEIRA, 2006).

Lagenbach et al. (1998) realizaram estudo retrospectivo com 169 casos de osteossarcomas extra-esquelético em cães, e constataram que 64% dos casos eram localizados na glândula mamária, e 36% distribuídos em outros tecidos como: jejuno, mesentério, esôfago, omento, língua, subcutâneo, baço, rim, vesícula urinária, fígado, pele, músculo, olho e glândula tireóide.

Patnaik et al. (1990) classificaram e dividiram os osteossarcomas extra-esqueléticos baseados em suas características histológicas e topográfica em:

1. **Osteossarcoma osteoblástico:** mais comum, compreendendo 63,6% dos casos acometendo principalmente baço, testículos, olhos, vagina, rins e fígado.
2. **Osteossarcoma fibroblástico:** glândula adrenal.
3. **Osteossarcoma histiocítico fibroso:** baço.
4. **Osteossarcoma condroblástico:** íleo.
5. **Osteossarcoma osteo-condroblástico misto:** ligamento gástrico.
6. **Condrossarcoma:** omento maior, pulmões, coração.

O diagnóstico do osteossarcoma extra-esquelético baseia-se na ausência de evidências físicas e/ou radiográficas de tumor esquelético primário e a presença de alguns critérios histopatológicos próprios (KUNTZ et al., 1998; SILVEIRA et al., 2006).

Microscopicamente, estes tumores são caracterizados por células mesenquimais pleomórficas, as quais na maior parte se caracterizam por células fusiformes com núcleo grande vesicular, e citoplasma eosinófilico. Essas células produzem matriz osteóide, que por vezes se mineraliza formando trabéculas ósseas, não sendo de caráter reativo ou

metaplásico (PARDO et al., 1990; PATINAIK, 1990). O número de figuras de mitoses por campo é alto. Macroscopicamente, são formações irregulares que variam de 2,5 a 30 cm de diâmetro com média de 12,7 cm (LAGENBACH et al., 1998).

A reação de imuno-histoquímica não auxilia no diagnóstico devido à ausência de marcadores específicos para osteoblastos. Os anticorpos anti-osteocalcina (OC) e anti-osteonectina (ON), são importantes ferramentas para auxílio no diagnóstico histopatológico final.

O marcador OC é uma das proteínas não colagenosas encontradas no osso adulto, e é a mais específica quando comparada ON, porém não tão sensível. A ON não é muito sensível, pois é encontrada em vários tipos celulares incluindo osteoblastos ativos e osteócitos jovens. Reage com fibroblastos e células epiteliais, assim é menos específica (FRANCHI; CMIN; SANTUCCI, 1999; CERILLI; WICK, 2002). Como era de se esperar, o osteossarcoma é fortemente positivo para vimentina.

Algumas neoplasias pouco diferenciadas de origem epitelial podem ter como característica a produção metaplásica de matriz osteóide, nessas circunstâncias é indicada a utilização de marcadores imuno-histoquímicos específicos para neoplasia epitelial como o anticorpo pancitoqueratina, que proporciona o diagnóstico diferencial entre os eventuais carcinomas e osteossarcomas.

Osteossarcoma extra-esquelético é uma neoplasia extremamente agressiva e pode corresponder a 12,6% de todos os casos de osteossarcomas diagnosticados. Acometem cães idosos com média de idade de 10 anos, não havendo predileção sexual (LAGENBACH et al., 1998). Rottweiler e Beagles são raças que apresentam maior risco de desenvolvimento de osteossarcomas de tecidos moles. O peso corpóreo dos animais com osteossarcoma extra-esquelético pode variar de 18-23 kg (LAGENBACH et al., 1998; KUNTZ et al., 1998).

Osteossarcomas intra-abdominais apresentam pior prognóstico associado à alta taxa de mortalidade quando localizados no TGI e fígado. Outro fator que influencia diretamente a sobrevida é o tamanho da neoformação (LAGENBACH et al., 1998).

Segundo Lagenbach et al. (1998), animais com neoplasias menores que 5 cm apresentam período médio de sobrevida de 93 dias, neoplasias com 5-15 cm sobrevida de 240 dias e formações maiores que 15 cm tem alta taxa de mortalidade no momento do diagnóstico. O período médio de sobrevida dos animais com metástases é 15 dias, enquanto cães, que não apresentam metástases no diagnóstico, é 120 dias (LAGENBACH et al., 1998).

Segundo Patnaik, (1990), metástases à distância ocorrem em 64 % dos casos, desses 45% são nos linfonodos, 18% no fígado, 9% nos pulmões e estômago. Destaca-se que 67% dos animais vieram a óbito imediatamente após o diagnóstico e a sobrevida dos animais estudados variou de 15 a 124 dias. Em comparação Lagenbach et al. (1998) observaram que a sobrevida de cães com osteossarcoma extra-esquelético foi 26 dias e a maior causa de óbito foi devido à recidiva local em 92% casos. Pardo et al. (1990), relataram o osteossarcoma primário em jejuno de um cão da raça Chow-Chow, no qual o comportamento foi extremamente agressivo caracterizado por metástases no fígado, pâncreas, peritônio, pulmões, baço e linfonodos regionais após dois meses do tratamento cirúrgico.

Em seres humanos, o osteossarcoma extra-esquelético apresenta prevalência de 1,2% em comparação a todos os sarcomas de tecidos moles, e 3,7 a 4,6% de todos os osteossarcomas diagnosticados (HAJDU, 1979; SORDILLO et al., 1983; CHUNG; ENZINGER, 1987). Esta neoplasia tem caráter extremamente agressivo, no qual 69% apresentam recidiva local no pós-operatório imediato e 80% apresentam metástase à distância (HAJDU, 1979; SORDILLO et al., 1983; CHUNG; ENZINGER, 1987). O período de sobrevida em pacientes humanos é 20-25% em cinco anos (HAJDU, 1979; CHUN; ENZINGER, 1987).

2.5 NEOPLASIA GASTRINTESTINAL E PROLIFERAÇÃO CELULAR

A capacidade de predizer a agressividade biológica e a resposta terapêutica de diferentes neoplasias baseando-se na análise tecidual é de valor inestimável para o estabelecimento de tratamento adequado aos pacientes com neoplasias. O desenvolvimento e progressão das neoplasias gastrintestinais são um processo com múltiplas etapas, no qual eventos gênicos específicos seguem uma sequência temporal (FEARON; VOIGEISTEIN, 1990).

Diversos autores estudaram o processo de carcinogênese e demonstraram a existência de três estágios. No primeiro, chamado de “iniciação”, as células sofrem o efeito dos agentes carcinógenos, que provocam modificações permanentes e irreversíveis em alguns genes, como mutações simples, ampliações gênicas,

rearranjos cromossômicos, translocações, deleções e aneuploidias (PITOT, 1993; ANDERSON, 1995).

Além das alterações citadas, a expressão dos genes pode ser alterada permanentemente pela exposição a alguns agentes. Nesse estágio, as células encontram-se geneticamente alteradas, não sendo possível ainda a detecção clínica da neoplasia.

O segundo estágio, denominado “promoção”, proporciona a expressão fenotípica da alteração do genoma. Ao sofrer o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores, as células geneticamente alteradas originam focos de proliferação celular transformando-se em malignas, de forma lenta e gradual (FARMER; SARMA, 1987). Essa transformação requer um longo e contínuo contato com o agente cancerígeno promotor. A suspensão do contato muitas vezes interrompe o processo nesse estágio, caracterizado pela reversibilidade (PITOT, 1996).

O terceiro e último estágio, o da “progressão”, se caracteriza pela instabilidade progressiva do cariótipo e multiplicação descontrolada autonômica e irreversível das células alteradas (PITOT, 1993). Nesse estágio, os focos de proliferação resultam em neoplasias malignas com capacidade invasiva e metastática, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença (FARMER; SARMA, 1987; PITOT et al., 1996).

O índice mitótico sempre foi um critério diferencial entre neoplasias benignas e malignas. Um exemplo clássico da aplicação deste critério de malignidade é a classificação das neoplasias de músculo liso, no qual o diagnóstico diferencial entre leiomioma e leiomiosarcoma está baseado no número de mitoses encontradas na neoplasia (OWEN, 1980; JASS; SOBIN, 1989).

Além disso, a quantificação de figuras mitóticas faz parte da graduação histológica de várias neoplasias. Todavia, a identificação de mitoses nem sempre é fácil e inúmeros artefatos podem complicar esta quantificação. Soma-se o fato de que a mitose é a fase final de todo processo de divisão celular, no qual as fases G1, S e G2 não podem ser identificadas pela histologia usual (OWEN, 1980; BOSTOCK et al., 1989; KRAVIS et al., 1996).

O ciclo celular pode ser hoje bem estudado com auxílio dos anticorpos existentes. Merecem destaques os métodos de determinação da frequência de regiões organizadoras nucleolares com afinidade pela prata - AgNOR (BOSTOCK et al., 1989; KRAVIS et al., 1996), contagem de células positivas para o antígeno nuclear de proliferação celular – PCNA (SIMOES; SCHONING; BUTTINE, 1994; ABADIE;

ARMADEILH; DELVERDIER, 1999) e a contagem de células positivas para Ki-67 (ABADIE; ARMADEILH; DELVERDIER, 1999; SAKAI et al., 2002). A mensuração da atividade proliferativa através de marcações imuno-histoquímicas tenta complementar ou, até mesmo, substituir a contagem de mitoses, considerada por muitos autores um método subjetivo, trabalhoso e de baixa reprodutibilidade (ABADIE; ARMADEILH; DELVERDIER, 1999).

2.5.1 O antígeno de proliferação celular KI-67

O Ki-67 é uma proteína nuclear encontrada em todas as partes ativas do ciclo celular, sendo largamente empregada como marcador de proliferação celular (HANSEN; FENGER; KRONBORG, 1999). O anticorpo monoclonal Ki-67 reconhece a parte lábil do antígeno nuclear, o qual está presente nas células em proliferação (i.e., células nas fases G1, S, G2 e M), mas não em células na fase G0 (GERDES et al., 1984).

Assim, o Ki-67 possibilita mensurar o imunoestadiamento da fração proliferativa dos tumores (GERDES et al., 1984). A determinação do índice de proliferação celular pode ser grande reforço ao subestadiamento da classificação histológica do tumor. O uso do Ki-67 está restrito ao tecido fresco, pois o epítipo não sobrevive à fixação histológica de rotina em formolaldeído. Cattoretti et al. (1992), usando partes recombinantes do antígeno KI-67 descobriram o anticorpo monoclonal MIB 1 e MIB 3. O uso do anticorpo monoclonal MIB 1 permite uma marcação efetiva do Ag Ki-67 em tecido fixado em formalina e embebido em parafina. Dentre os anticorpos acima citado, o MIB 1 tem maior sensibilidade para avaliação prognóstica e oferece a melhor visualização da imunomarcação no tecido parafinado. Por estas razões, o Ki-67 é reconhecido como um indicador de mitose. O aumento da expressão do Ki-67 indica aumento da atividade mitótica e da proliferação celular em diferentes grupos de neoplasias no homem, como por exemplo linfomas não hogkin, adenocarcinomas colônico e retais, carcinoma de próstata e mama e melanomas (GERDES et al., 1984; GROGAN et al., 1988; CATTORETTI et al., 1992).

Considera-se que grande número de neoplasias malignas tem correlação positiva significativa entre atividade proliferativa, pontencial de metástases, recorrência no local e prognóstico.

Em cães com neoplasias mamárias e melanomas cutâneos o índice de proliferação usando o anticorpo Ki-67 apresenta boa correlação direta com prognóstico e correlação positiva com ocorrência de metástases e diminuição da taxa de sobrevivência (PEÑA et al., 1998; ROELS et al., 1999).

No nosso meio, são poucos ou inexistentes os dados sobre a verdadeira prevalência da expressão do anticorpo Ki-67 em neoplasias gastrintestinais nos animais domésticos, entretanto, diversos estudos em seres humanos correlacionam o aumento da proliferação celular nos carcinomas colorretais com prognósticos diversos.

Oshima et al. (2005) encontraram correlação entre a menor sobrevida e o aumento do índice proliferativo em 89 carcinomas colorretais em seres humanos. Kaneko et al. (2007) estudaram 214 carcinomas colorretais que infiltravam a submucosa e encontraram associação entre a elevada expressão do anticorpo Ki-67 e a presença de metástase linfonodal, porém na análise multivariada, a imunoexpressão do Ki-67 não foi considerada um fator independente para a presença de metástase linfonodal.

Alguns trabalhos mostraram associação entre a maior taxa de proliferação dos carcinomas colorretais nos seres humanos e melhor prognóstico. Garrity et al. (2004) encontraram através da análise univariada que a imunoexpressão do Ki-67 em mais de 27% das células tumorais estava associada a maior sobrevida e ao maior tempo livre de doença. Allegra et al. (2003) estudaram o valor prognóstico da imunoexpressão do Ki-67 em 291 carcinomas colorretais em humanos e encontraram maior sobrevida nos pacientes que tinham tumores com altos níveis de Ki-67.

Prall et al. (2004) relataram menor sobrevida nos pacientes cujos tumores tiveram baixa porcentagem de células Ki-67 positivas. Palmqvist et al (1999) estudando a proliferação celular na borda infiltrativa tumoral de 56 carcinomas colorretais de paciente humanos encontraram associação entre a presença de baixa proliferação tumoral com pior prognóstico tanto na análise univariada ($p=0,014$) quanto na análise multivariada ($p=0,042$).

De forma não esperada, também já foram publicados trabalhos nos quais a taxa de proliferação celular não foi correlacionada com fatores prognósticos favoráveis ou desfavoráveis. Hoos et al. (2002) estudaram 100 neoplasias retais e não encontraram associação entre a taxa de proliferação celular e recorrência tumoral e menor sobrevida em pacientes humanos.

2.5.2 O antígeno de proliferação celular – PCNA

O antígeno de proliferação nuclear (PCNA), também conhecido como ciclina, é uma proteína de aproximadamente 36 kDa encontrada no núcleo e age como cofator na síntese e reparação do DNA em células eucarióticas, detectada desde a fase G1 até a transição G2-M e atingindo seu máximo de expressão na fase S do ciclo celular. Está ausente na fase G0, mas diferentemente do KI-67, sua expressão varia muito nas fases G1-S-G2-M (MADEWELL; MUNN; PHILLIPS, 2001).

O PCNA reage com todas células desde que estejam em atividade proliferativa (GERDES, 1991). Tal anticorpo pode ser utilizado em secções histológicas embebidas em parafina, pós- fixação em formalina e material previamente congelado, isto reflete a avaliação de grande número de casos (PATERLINI; SUBERVILLE; ZINDY, 1993). Além disso, as secções histológicas podem ser submetidas a uma ampla variedade de técnicas imuno-histoquímicas como procedimentos com imunoperoxidase, como o sistema avidina-biotina-peroxidase e fosfatase alcalina.

A expressão do PCNA pode ser induzida por dano ao DNA e, ainda, possui meia vida longa, fazendo com que as frações proliferativas sejam muitas vezes super-representadas (ABADIE; ARMADEILH; DELVERDIER, 1999; MADEWELL; MUNN; PHILLIPS, 2001). O padrão de positividade na reação imuno-histoquímica é nuclear, podendo ocorrer diferenças na intensidade de marcação, em decorrência da expressão distinta nas diferentes fases do ciclo celular (ABADIE; ARMADEILH; DELVERDIER, 1999; MADEWELL; MUNN; PHILLIPS, 2001).

O uso do PCNA é de extrema importância prognóstica através da avaliação da atividade proliferativa em diferentes neoplasias em seres humanos, como nos casos de linfomas não Hodgkin (GERDES et al., 1983; GERDES; LI; HLUTER, 1991;). Contudo, seu emprego em carcinomas mamários ainda é controverso (GERDES; LI; HLUTER, 1991; GERDES et al., 1983).

Não há estudos na medicina veterinária que avalie o prognóstico das neoplasias gastrintestinais utilizando PCNA. Mediante a carência de trabalhos científicos, optamos em avaliar a eficácia do PCNA nas neoplasias gastrintestinais em cães.

3 OBJETIVOS

O objetivo geral foi o estudo retrospectivo das neoplasias do trato gastrointestinal de cães atendidos no HOVET-USP no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2008, comparando o comportamento biológico, evolução clínica e prognóstico de tais neoplasias e para tanto foram utilizados parâmetros epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram a caracterização:

1. Epidemiológica quanto ao sexo, idade, raça, peso, porte corpóreo, dos animais portadores de neoplasia GI;
2. Clínica dos principais sinais e sintomas apresentados pelos cães com neoplasia GI;
3. Laboratorial das principais alterações hematológicas e bioquímicas dos cães no momento do diagnóstico de neoplasia GI;
4. Anatomopatológica quanto ao diagnóstico, à localização, ao tamanho, às características histopatológicas e às metástases das neoplasias GI;
5. Imunofenotípica das células neoplásicas por meio da reação imuno-histoquímica específica para os tumores;
6. Do índice de proliferação celular das neoplasias GI utilizando os anticorpos PCNA e Ki67 como fatores de prognóstico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, protocolo nº 1835/2009.

4.1 CASUÍSTICA

A casuística utilizada se baseou no levantamento retrospectivo de 62 casos de neoplasias do trato gastrointestinal de cães diagnosticados e pertencentes ao arquivo do Serviço de Patologia Animal, do Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo referentes ao período de 1998 a 2008. Os casos selecionados foram apresentados no quadro 3.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de elegibilidade para o estudo foram cães de qualquer raça, sexo e idade, portadores de neoplasias localizados no esôfago, estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno, íleo), intestino grosso (ceco, cólon ascendente, cólon transversal, cólon descendente e reto) que tiveram diagnóstico histopatológico junto ao Serviço de Patologia Animal, do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo no período de 1998 a 2008.

4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram: ausência de prontuários médicos; informações incompletas no prontuário médico, ausência dos blocos de parafina no arquivo do Departamento de Patologia e autópsia do material.

(continua)

Caso	Raça	Idade	Sexo	Diagnóstico morfológico
1	S.R.D	6 anos	Fêmea	Linfoma difuso de grandes células
2	S.R.D	3 anos	Macho	Linfoma difuso de grandes células
3	Dogue Alemão	8 anos	Macho	Linfoma difuso de grandes células
4	Labrador	3 anos	Fêmea	Linfoma difuso de grandes células
5	S.R.D	10 anos	Fêmea	Linfoma difuso de grandes células
6	Scott terrier	9 anos	Macho	Linfoma difuso de grandes células
7	S.R.D	8 anos	Fêmea	Linfoma difuso de grandes células
8	Pastor Alemão	5 anos	Fêmea	Linfoma difuso de pequenas células
9	Fox Paulistinha	10 anos	Macho	Linfoma difuso de pequenas células
10	S.R.D	3 anos	Macho	Linfoma difuso de pequenas células
11	S.R.D	13 anos	Macho	Linfoma difuso de pequenas células
12	S.R.D	13 anos	macho	Linfoma difuso de pequenas células
13	S.R.D	17 anos	Fêmea	Linfoma difuso de pequenas células
14	Cocker	5 anos	Macho	Linfoma difuso de pequenas células
15	Pastor Alemão	8 anos	Macho	Linfoma difuso de pequenas células
16	S.R.D	12 anos	Fêmea	Linfoma difuso de pequenas células
17	S.R.D	12 anos	Fêmea	Linfoma difuso de pequeno células
18	S.R.D	9 anos	Macho	Linfoma difuso misto
19	Schnauzer	10 anos	Macho	Linfoma difuso misto
20	S.R.D	12 anos	Fêmea	Mastocitoma intestinal
21	Boxer	8 anos	Macho	Tumor estromal gastrintestinal
22	S.R.D	8 anos	Fêmea	Tumor estromal gastrintestinal
23	S.R.D	9 anos	Macho	Hemangiossarcoma
24	Dachshund	14 anos	Macho	Leiomioma
25	S.R.D	9 anos	Macho	Leiomioma
26	Doberman	11 anos	Fêmea	Leiomiossarcoma
27	Poodle	13 anos	Macho	Leiomiossarcoma
28	Rotweiler	2 anos	Fêmea	Leiomiossarcoma
29	S.R.D	8 anos	Fêmea	Leiomiossarcoma
30	Poodle	12 anos	Macho	Sarcoma pouco diferenciado
31	S.R.D	7anos	Macho	Sarcoma pouco diferenciado
32	Boxer	10 anos	Fêmea	Sarcoma pouco diferenciado
33	Labrador	9 anos	Fêmea	Sarcoma pouco diferenciado
34	S.R.D	7 anos	Fêmea	Osteossarcoma
35	Cocker	9 anos	Macho	Tumor estromal gastrintestinal

Caso	Raça	Idade	Sexo	Diagnóstico morfológico
36	S.R.D	14 anos	Macho	Osteossarcoma
37	Bassethound	8 anos	Fêmea	Carcioma em anel de sinete
38	S.R.D	4 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular ulcerdo
39	Pastor Alemão	12 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular
40	Pinscher	12 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
41	Dalmata	8 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
42	Shar-pei	7 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular
43	Fox terrier	10 anos	Fêmea	Adenocarcinoma papilífero
44	S.R.D	12 anos	Fêmea	Adenocarcinoma sólido
45	cocker	11 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular
46	cocker	4 anos	Macho	Adenocarcinoma tubulo papilífero
47	Collie	10 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
48	Boxer	1.5 ano	Macho	Adenocarcinoma bem diferenciado
49	Pastor Alemão	8 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular
50	Beagle	9 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular com cistos Mucinoso
51	Fila Brasileira	8 anos	Macho	Adenocarcinoma túbulo papilífero
52	Pastor Alemão	8 anos	Macho	Adenoma Tubular
53	Shar-pei	9 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
54	Basenji	9 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular
55	S.R.D	13 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubulo papilífero
56	Buldog	9 anos	Macho	Adenoma papilífero
57	Cocker	5 anos	Macho	Adenoma papilífero
58	Buldog	8 anos	Macho	Adenocarcinoma sólido
59	S.R.D	12 anos	Macho	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso
60	Cocker	11 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso
61	Beagle	9 anos	Fêmea	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
62	S.R.D	12 anos	Fêmea	Carcinoma em anel de sinete

Quadro 3 - Distribuição da casuística utilizada no estudo das neoplasia gastrintestinais que acometem cães atendidos no Hospital Veterinário no período de 1998 a 2008 segundo número do caso, raça, idade, sexo e diagnóstico morfológico São Paulo Jan. 1998 - Dez. 2008

4.4 CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E CLÍNICA DOS CÃES

A partir dos prontuários clínicos de atendimentos de cada animal foi realizado levantamento dos dados epidemiológicos e para tanto, os seguintes parâmetros foram pontuados: raça, porte do animal, sexo, idade, queixa principal, sinais e sintomas clínicos, tipo de alimentação, região de moradia do cão.

Os parâmetros clínicos avaliados foram: peso (Kg), sinais e sintomas gastrintestinais e extra-gastrintestinais. A situação atual de cada cão foi caracterizada por meio de contatos telefônicos com os proprietários utilizando ficha padronizada. O período de sobrevida foi estabelecido do diagnóstico clínico até o óbito ou até janeiro de 2010 para os animais vivos.

4.5 EXAMES LABORATORIAIS

Os resultados dos exames laboratoriais realizados e presentes nas fichas clínicas foram tabulados. Os exames considerados foram: hemograma, proteína total, função hepática (fosfatase alcalina, albumina e alanina aminotransferase) e função renal (creatinina e uréia). Apenas os exames laboratoriais realizados no momento do diagnóstico clínico foram considerados e analisados. Os valores de referência foram baseados no autor (PAGE, 1998).

4.6 ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO

Os dados macroscópicos das neoplasias foram considerados a partir da descrição destes aspectos pelo cirurgião ou pelo patologista que originalmente examinou a peça cirúrgica encaminhada. Assim, foi considerada para análise a descrição macroscópica que constou na ficha de encaminhamento do material de cada animal para análise anatomopatológica.

Os parâmetros macroscópicos analisados foram: tamanho da neoformação em centímetros, localização e números de lesões, metástases regional e à distância.

Os tumores foram divididos em relação ao tamanho em: menores que 5 cm, entre 5 e 10 cm e maiores do que 10 cm. Em relação ao número de lesões, essas foram divididas em: 1. lesões únicas que acometiam o TGI; 2. lesões multissegmentares, as quais comprometiam diversos segmentos do TGI. A localização primária da neoformação foi considerada a partir do local da biópsia ou da ressecção cirúrgica descrita no prontuário. A avaliação de metástases foram considerados os locais acometidos e como presentes ou ausentes.

Os blocos de parafina dos casos selecionados foram processados junto ao Laboratório de Histopatologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde foram realizados cortes em micrótomo, com espessura de 5 µm. Após a obtenção dos cortes, estes foram colocados em lâminas histológicas e permaneceram 24 horas em estufa à 55 e 58°C. Seguiu-se a coloração por hematoxilina e eosina para exame em microscópio de luz nos aumentos de 40x, 100x e 400x. Foi realizada coloração específica de Azul de Toluidina, para os casos com suspeita de mastocitoma gastrintestinal. O diagnóstico das neoplasias se baseou na classificação histológica para os tumores de animais domésticos da Organização Mundial de Saúde (OMS) (HENDRICK et al., 1998).

Os casos foram revisados, reclassificados e distribuídos em três grupos morfológicos de acordo com as características histomorfológicas e imuno-histoquímicas dos tumores em: 1. neoplasias hematopoéticas; 2. neoplasias mesenquimais, e 3. neoplasias epiteliais.

As neoplasias malignas foram graduadas segundo os critérios: diferenciação celular, presença e extensão de necrose no interior da neoplasia, e taxa de mitose (POWERS et al., 1995; OLIVEIRA; NASCIMENTO, 2001). Os escores para cada parâmetro avaliado foram apresentados no quadro 4.

Diferenciação celular	Escore
células bem diferenciadas com baixa atipia	1
células com moderada atipia	2
células poucos diferenciados e com marcante atipia	3
Atividade Mitótica	Escore
0-9 figuras mitóticas/ campo de 400x	1
10-19 figuras mitóticas/ campo de 400x	2
20 ou mais figuras mitóticas/ campo de 400x	3
Necrose	Escore
Ausência	1
em área menor do que 50% da neoplasia	2
em área maior do que 50% da superfície da neoplasia	3

Quadro 4 - Critérios histológicos para graduação dos critérios de malignidade das neoplasias gastrintestinais – São Paulo – Jan. 1998 - Dez. 2008

A pontuação final obtida com a somatória dos critérios variou de 3 a 9, assim 3 ou 4 foram designados como grau 1 de malignidade; somas de 5 ou 6 foram designados grau 2; e somas de 7, 8 ou 9 foram designadas grau 3. A presença de hemorragia: 0 (ausente), 1 (pequenos focos) e 2 (focos extensos), bem como a presença e a natureza dos componentes inflamatórios no tecido adjacente a neoplasia também foi avaliada, mas não considerada na somatória.

O comprometimento das camadas do TGI foi subdividido em: 1. comprometimento da mucosa e submucosa; 2. comprometimento da camada muscular, 3. comprometimento da mucosa à serosa; 4. perfuração do peritônio visceral ou invasão direta a outras estruturas inclusive outras alças do intestino delgado, o mesentério, ou o retroperitônio.

Os critérios para classificação da doença intestinal inflamatória adjacente e concomitante utilizados no presente estudo foram os estabelecidos por Day et al. (2008).

As alterações morfológicas associadas ao processo inflamatório no trato gastrointestinal foram avaliadas quanto a: relação vilo/ cripta, tamanho da vilosidade, hiperplasia da cripta, intensidade do infiltrado inflamatório na lâmina própria, tipo celular do infiltrado inflamatório (mononucleares, neutrófilos e eosinófilos) e número de linfócitos intraepiteliais para cada 100 enterócitos. A presença de ulceração foi avaliada com relação à ocorrência ou não do evento. A intensidade das alterações observadas foi avaliada semiquantitativamente na escala de 0 a 3, dos quais: 0 = parâmetro tido como dentro da normalidade, 1 = alterações mínimas, 2 = alterações em grau moderado e 3 = grau máximo de alteração.

4.7 ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO

Os fragmentos de neoplasias foram submetidos ao exame imuno-histoquímico utilizando painel de anticorpos que visa a determinar a origem imunofenotípica das células neoplásicas. O método empregado foi estreptavidina-biotina-peroxidase (HSU; RAINE, 1981).

O processamento foi realizado no Laboratório de imuno-histoquímica do Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Laboratório de Oncologia Experimental e Comparada do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Os anticorpos primários utilizados foram produzidos pela Dako (Dako North América, Carpinteria, CA, USA). Os anticorpos primários utilizados segundo diluição, tampão de recuperação antigênica, código e espécie no qual foi produzido foram mostrados no quadro 5.

Anticorpo primário	Diluição	Tampão	Código	Espécie
Ki-67	1:100	Tris-EDTA	M7240	Camundongo
PCNA	1:100	Citrato	M0879	Camundongo
Vimentina	1:100	Citrato	M0725	Camundongo
Actina músculo liso	1:2500	Citrato	M0851	Camundongo
Desmina	1:250	Citrato	M0760	Camundongo
S 100	1:10.000	Citrato	Z0311	Coelho
CD117	1:500	Citrato	A4502	Coelho
CD34	1:6000	Citrato	M7165	Camundongo
CD3	1:100	Citrato	A0452	Coelho
CD79 α	1:100	Citrato	M 7051	Camundongo
Citoqueratina AE1/AE3	1:100	Citrato	M3515	Camundongo

Quadro 5 - Lista de anticorpos, diluição, tampão, código fabricante e espécie – São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008

O processamento dos blocos de parafina incluiu corte em microtomo com espessura de 3 a 4 μ m e adesão dos fragmentos obtidos em lâminas de vidro previamente tratadas com o adesivo organosilano (Sigma, St. Louis, EUA, A3648) e mantidos em estufa a 60 °C por 24 horas.

A seguir, os cortes foram submetidos à desparafinização com dois banhos de xilol e posterior hidratação em álcool etílico absoluto em concentrações crescentes, lavagem em água corrente seguida por lavagem em solução soro fetal bovino (PBS) pH7,4. O bloqueio da atividade da peroxidase endógena foi realizado em câmara escura com três incubações em solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3% durante 10 minutos cada. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente por 5 a 10 minutos, depois em água destilada e, deixadas em solução tampão de soro fetal bovino (PBS), pH 7,4.

A recuperação antigênica baseou-se no uso de forno micro-ondas durante doze minutos com as lâminas incubadas em solução tampão de Citrato 10M, pH 6,0. Já para o antígeno Ki-67 foi usada a solução tampão Tris-EDTA, pH 9,0.

Para bloqueio de proteínas endógenas, as lâminas foram incubadas com leite desnatado 5% (leite moído Nestle ®) por 30 minutos.

A etapa seguinte consistiu a incubação dos espécimes com anticorpos primários na diluição proposta. A incubação durou 24 horas a 4° C em câmara úmida. No dia seguinte, as lâminas foram lavadas em PBS pH7,4 e incubadas por 60 minutos.

Na maioria das reações foi usado o sistema de detecção universal LSAB *plus* (Dako/ cod K0690-1), consultar tabela 2. Esta etapa teve a duração de 30 minutos a 37° C e em câmara úmida. Após a incubação, as lâminas foram lavadas por 5 minutos em PBS 7,4 por duas vezes. O próximo passo envolveu a incubação com o terciário por 30 minutos a 37° C e em câmara úmida. A reação foi interrompida colocando as lâminas em tampão PBS pH 7,4 por cinco minutos e por duas vezes.

A reação imune foi revelada com solução cromógena de diaminobenzidina (DAB, 3.3'- diaminobenzidine, Sigma cod. D5637) a 0,03% acrescida e ativada com 1,2 ml de água oxigenada 3%. O tempo mínimo de revelação foi 1 minuto com bloqueio em água.

Por fim, os cortes foram lavados em água corrente por 10 minutos, contracolorados com Hematoxilina de Harris por 10 segundos ou menos, lavados abundantemente em água corrente, desidratados em etanol, cujas soluções estavam em concentração crescente. A montagem das lâminas foi feita com resina Permount[®] (Fischer scientific, cod SP 15-1000).

4.8 CONTROLES POSITIVOS E NEGATIVOS

Todas as reações tiveram controles positivo e negativo para atestar a veracidade das mesmas. Os controles positivos utilizados foram: tumor estromal gástrico humano (CD117), linfonodo canino (CD3, CD79a), intestino de cão (desmina, actina de músculo liso, S-100, pancitoqueratina, CD34, PCNA e Ki-67), células endoteliais dos tecidos de cão (vimentina). Adicionalmente em todas as lâminas foram observados controles internos que confirmassem sua positividade ou negatividade.

Controles negativos foram os mesmos tecidos anteriormente citados usando apenas a incubação em PBS e eliminação do anticorpo primário, sendo efetuados todos os demais procedimentos imuno-histoquímicos.

Os resultados foram avaliados em microscopia de luz e nos aumentos 40x, 100x e 400x. A avaliação imuno-histoquímica baseou-se na quantificação de

imunoreatividade dos anticorpos selecionados. Para tanto, o resultado foi considerado positivo quando mais de 10% das células neoplásicas apresentassem coloração acastanhada na localização antigênica esperada.

4.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROLIFERATIVA CELULAR UTILIZANDO : PCNA E KI-67

Para o cálculo e avaliação do índice de proliferação, foram selecionados aleatoriamente 10 campos histológicos não repetidos, dentro das áreas neoplásicas com maior concentração de marcação imuno-histoquímica positiva. Os campos foram analisados em microscopia de luz no aumento de 400x usando o microscópio Nikon Eclipse E 800 equipado com câmera digital de captura Col SNAP-Pro Media Cybernetics® e o programa de análise de imagem Image pro-Plus versão 4.5 (Media Cybernetics®) e quantificados manualmente através da ferramenta “manual tag”.

Foram considerados positivos todos os núcleos das células neoplásicas com evidências de marcação, mesmo que fracas conforme realizado por Simoes, Schoninger e Buttine. (1994); Abadie et al. (1999); Sakai et al. (2002); Scase et al. (2006), excluindo células inflamatórias e células endoteliais. Para o cálculo do índice de proliferação celular com Ki-67 e PCNA foi realizada a determinação da porcentagem de núcleos positivos em um mínimo de 1000 núcleos avaliados utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ células positivas} = \frac{\text{No. células positivas} \times 100}{\text{No. Células totais}}$$

Em seguida, foram estabelecidos escores de imunomarcação baseados na porcentagem de células positivas em relação ao número total de células contadas, conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1 – Escore de imunomarcção para os fatores de proliferação celular
PCNA e Ki-67

Parâmetros	Escore
Marcação positiva em 1 a 20% das células	1
Marcação positiva em 21 a 40% das células	2
Marcação positiva em 41 a 60% das células	3
Marcação positiva maior que 60% das células	4

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros clínicos e epidemiológicos foram analisados descritivamente, com apresentação em forma de frequência absoluta (n), frequência relativa (%) e/ou média e desvio-padrão.

Quanto aos parâmetros laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos, as variáveis classificatórias foram descritivamente apresentadas em tabelas de contingência contendo frequências absolutas (n) e relativas (%).

Os dados foram analisados quantitativamente pelo programa Mini Tab 14. Para comparar os resultados entre os grupos usou-se análise variância (ANOVA) e comparações múltiplas de Tukey com intervalos de confiança de 95% para discriminar as diferenças entre os grupos. Para variáveis nominais utilizou-se o teste Qui-quadrado e Cramer's-v.

As correlações entre as variáveis foram avaliadas segundo coeficiente de correlção de Spearman.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

6. RESULTADOS

6.1 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

6.1.1 Distribuição dos animais quanto ao grupo morfológico das neoplasias GI

Dos 62 cães estudados 42% (26/62) apresentaram neoplasias epiteliais, 32% (20/62), neoplasias hematopoéticas e 26% (16/62), neoplasias mesenquimais conforme foi ilustrado no gráfico 1. As neoplasias gastrintestinais malignas corresponderam 92% (57/62) dos casos enquanto 8% (5/62) dos casos foram neoplasias benignas.

Gráfico1 - Distribuição dos principais grupos morfológicos de neoplasias gastrintestinais em cães atendidos no HOVET, São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.

6.1.2 Distribuição dos animais quanto ao sexo

Nos três grupos dos animais portadores de neoplasias gastrintestinais os machos foram os mais acometidos 58%, (36/62). A distribuição sexual relativa observada no grupo das neoplasias epiteliais foi 61,5% machos (16/26) e 38,5% fêmeas (10/26), neoplasias hematopoéticas, 55% machos (11/20) e 45% fêmeas (9/20), e neoplasias

mesenquimais, 56% machos (9/16) e 44% fêmeas (7/16). Esses resultados foram apresentados no gráfico 2.

Gráfico 2 - Distribuição dos casos segundo sexo e grupo de neoplasias gastrintestinais - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

6.1.3 Caracterização dos cães segundo a idade

No que concerne a idade, todos os animais do estudo eram adultos com idade média de $9,1 \pm 3$ anos. A idade se distribuiu de forma homogênea entre os grupos com a mediana igual a 9 anos. Esses dados foram apresentados no gráfico 3.

Os animais do grupo das neoplasias mesenquimais foram o que apresentaram a maior média de idade com $9,4 \pm 2,8$ anos. Enquanto, a média de idade dos animais com neoplasias hematopoéticas foi $8,8 \pm 3,8$ anos e epiteliais, $8,8 \pm 2,8$ anos.

Gráfico 3 – Distribuição dos cães segundo idade e o grupo morfológico das neoplasias GI -São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos

Analisando em conjunto a idade e o sexo, não houve diferença estatística, e a média de idade dos machos foi $8,2 \pm 3$ anos com idades variando entre 1,5 a 14 anos. Enquanto, a média de idades das fêmeas foi $9,6 \pm 3,2$ anos com as idades variando entre 2 a 17 anos.

As fêmeas portadoras de neoplasias hematopoéticas apresentaram idade média igual a $9,4 \pm 4,3$ anos e a idade média dos machos foi $8,2 \pm 3,4$ anos.

No grupo dos animais com neoplasias epiteliais as fêmeas também apresentaram média de idade superior em relação aos machos. A média de idade das fêmeas foi $11 \pm 1,5$ anos. Enquanto, os machos apresentaram idade média igual a $7,4 \pm 2,6$ anos.

Em contrapartida, os machos do grupo das neoplasias mesenquimais apresentaram idade média superior quando comparado as fêmeas do mesmo grupo. A média de idade dos machos foi $10,6 \pm 2,6$ anos, enquanto a média de idade das fêmeas foi $7,8 \pm 2,9$ anos. Tais resultados foram apresentados no gráfico 4.

Fêmeas com idade variando entre 10 a 12 anos apresentaram neoplasias epiteliais e hematopoéticas em maior frequência em comparação aos machos.

Gráfico 4 - Distribuição dos cães segundo idade, sexo e grupo morfológico de neoplasia - São Paulo- jan. 1998 - dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo

6.1.4 Distribuição dos cães segundo a raça, o porte corporal e o peso

As raças mais frequentes foram sem raça definida (SRD) 37,1% (23/62), Cocker 11% (7/62), Pastor Alemão 8% (5/62) e Boxer 5% (3/62). Os animais SRD foram os mais acometidos por neoplasias gastrintestinais em todos os grupos de neoplasias. A distribuição das raças segundo os grupos morfológicos das neoplasias foi ilustrada na tabela 2.

Em relação ao porte dos animais, 75,8% (47/62) eram de pequeno e médio porte com peso entre 3 a 25 Kg. A distribuição dos animais segundo o porte foi exibido no gráfico 5.

Gráfico 5 - Distribuição dos cães segundo o porte corporal São Paulo - jan.1998 - dez. 2008

Tabela 2 - Distribuição das raças de cães segundo os grupos morfológicos das neoplasias GI – São Paulo - jan.1998 - dez. 2008

(Continua)

Raça	Neoplasias					
	Epitelial		Hematopoética		Mesenquimal	
	casos	%	casos	%	casos	%
Basenji	1	3,8	0	0	0	0
Basset hound	1	3,8	0	0	0	0
Beagle	2	7,7	0	0	0	0
Boxer	1	3,8	0	0	2	12,5
Bulldog	2	7,7	0	0	0	0
Cocker	4	15,4	1	5	2	12,5
Collie	1	3,8	0	0	0	0
Dachshund	0	0	0	0	1	6,3
Dálmata	1	3,8	0	0	0	0
Dobermann	0	0	0	0	1	6,3
Dogue alemão	0	0	1	5	0	0
Fila brasileiro	1	3,8	0	0	0	0
Fox terrier	1	3,8	0	0	0	0
Fox Paulistinha	0	0	1	5	0	0
Labrador	0	0	1	5	1	6,3
Pastor Alemão	3	11,5	2	10	0	0

(conclusão)

Raça	Neoplasias					
	Epitelial		Hematopoética		Mesenquimal	
	casos	%	casos	%	casos	%
Poodle	0	0	0	0	2	12,5
Rotweiller	0	0	0	0	1	6,3
Schnauzer	0	0	1	5	0	0
Scott terrier	0	0	1	5	0	0
Shar pei	1	7,7	0	0	0	0
SRD ¹	5	19,2	12	60	6	37,5

¹ SRD= sem raça definida

O peso dos cães do estudo variou de 3 a 65 kg, com a média de $16,8 \pm 11,5$ kg. O peso não se distribui de forma homogênea entre os grupos, não havendo diferença estatisticamente significativa e $p=0,569$ utilizando análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. Os resultados foram apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos pesos em quilos dos cães segundo o grupo morfológico da neoplasia GI e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo – São Paulo - jan.1998 - dez. 2008

Grupo de neoplasia	N	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo	Sem informação
Epitelial	24	$18,3 \pm 9,9$	3	35	2
Hematopoética	20	$14,6 \pm 15$	3	65	0
Mesenquimal	16	$16,5 \pm 7,5$	6	30	0

*DP= desvio padrão

O peso corporal das fêmeas foi maior em relação aos machos, no grupo dos animais com neoplasias mesenquimais e hematopoéticas. O peso médio das fêmeas com neoplasias mesenquimais foi $21,1 \pm 6,3$ kg, enquanto os machos apresentaram média igual a $12,8 \pm 6,5$ kg. O peso médio das fêmeas portadoras de neoplasias hematopoéticas foi $11,9 \pm 8,1$ kg. Já os machos apresentaram peso médio igual a $16,7 \pm 19$ kg.

No grupo dos animais com neoplasias epiteliais a média do peso corporal foi maior nos machos em relação às fêmeas. Os machos do grupo das neoplasias epiteliais apresentaram média de $22 \pm 9,5$ kg e as fêmeas, $13,4 \pm 9,5$ kg. A distribuição desses resultados foi apresentada no gráfico 6.

Gráfico 6 – Distribuição dos cães segundo o peso em quilos, o sexo e o grupo morfológico de neoplasia GI - São Paulo - Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa maior porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos

6.1.5 Caracterização da alimentação dos cães

O tipo de alimentação utilizado foi outra variável analisada e 51,6% (32/62) foram alimentados com ração comercial, 35,5% (22/62), alimentados com ração comercial associada à comida caseira e 12,9% (8/62), somente com comida caseira.

Os resultados referentes à alimentação e ao grupo de neoplasias foram exibidos na tabela 4. Os resultados não foram estatisticamente significativos com valor de $p=0,08$ quando analisada correlação entre tipo de alimentação e grupo de neoplasia.

As neoplasias epiteliais ocorreram em maior número nos cães alimentados por ração comercial e comida caseira, os quais representaram 43,8% (14/32) e 62,5% (5/8), respectivamente. As neoplasias mesenquimais foram mais freqüentes nos cães que

receberam alimentação comercial misturada à comida caseira (10/22, 45,5%). Os tumores hematopoéticos ocorreram em maior número nos animais que foram alimentados com ração comercial (12/32).

Tabela 4 – Distribuição relativa dos casos segundo tipo de alimentação utilizada e os tipos morfológicos das neoplasias - São Paulo - Jan. 1998 - Dez. 2008

Dieta	Epitelial	Hematopoética	Mesenquimal	Total
Comercial	14	12	6	32
%	43,8	37,5	18,8	100
Comercial e comida caseira	7	5	10	22
%	31,8	22,7	45,5	100
Comida Caseira	5	3	0	8
%	62,5	37,5	0	100

Os animais com idade entre 8 e 11 anos, foram alimentados predominantemente com ração comercial e tais resultados foram apresentados no gráfico 7.

Gráfico 7 - Distribuição dos casos dos cães portadores de neoplasia gastrointestinal segundo a idade e o tipo de alimentação utilizada – São Paulo- Jan. 1998/Dez. 2008 - São Paulo

6.1.6 Caracterização da região de moradia dos cães

Todos os animais do estudo moravam no estado de São Paulo, dos quais 40,3% (25/62) dos cães viviam na zona oeste da cidade de São Paulo, 37,1%, (23/62) zona sul, 12,9%, (8/62) zona leste, 6,5%, (4/62) zona norte, e 1,6%, (1/62) veio da cidade de Vinhedo localizada na grande São Paulo. Em um caso não foi possível determinar a região de moradia do cão. Esses resultados foram apresentados na tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição dos animais portadores de neoplasias GI segundo região onde moravam no estado de São Paulo – São Paulo jan. 1998 - dez. 2008

Região	Frequência	%
Não informado	1	1,6
Vinhedo	1	1,6
Zona Leste*	8	12,9
Zona Norte*	4	6,5
Zona Oeste*	25	40,3
Zona Sul*	23	37,1
Total	62	100

* Cidade de São Paulo.

6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS CÃES QUANTO AS ALTERAÇÕES CLÍNICAS E LABORATORIAIS

6.2.1 Caracterização clínica

Os sinais clínicos gastrintestinais e extra-gastrintestinais ocorreram em todos os cães. Em dois cães não havia informações clínicas anotadas no prontuário médico. Os principais sinais e sintomas relatados foram apresentados no gráfico 8.

A sintomatologia clínica observada foi diretamente correlacionada com a localização topográfica da neoformação. Perda de peso, êmese, prostração e anorexia foram principalmente relatadas quando houve comprometimento neoplásico nas porções altas do trato gastrintestinal, principalmente em esôfago, estômago, e trechos iniciais do intestino delgado.

Anorexia foi observada em animais com neoplasias localizadas no intestino delgado 68,2%, estômago 66,7%, válvula íleo-ceco-cólica 28,6% e intestino grosso 20,8%.

Êmese esteve presente em neoplasias localizadas no esôfago 100%, estômago 66,7%, intestino delgado 66,6% e intestino grosso 8,3%.

Perda de peso foi observada em animais com neoplasias localizadas no esôfago 100%, intestino delgado 50%, estômago 16,7%, válvula íleo-ceco-cólica 14,3%, e intestino grosso 8,3%.

Prostração foi observada em 22,7% das neoplasias localizadas em intestino delgado, 14,3% válvula íleo ceco cólica e 8,3% intestino grosso.

Cães com hematoquesia, prolapso de reto, disquesia e tenesmo apresentaram comprometimento neoplásico principalmente na válvula íleo-ceco-cólica e nos trechos finais do intestino grosso.

Hematoquesia foi observado em animais com neoplasias localizadas no intestino grosso 50%, válvula íleo-ceco-cólica 42,9%, estômago 33,3% e intestino delgado 18,2%.

Tenesmo esteve presente em 100% dos casos de neoplasias localizadas em intestino grosso. Enquanto, disquesia esteve associado às neoplasias em intestino grosso 37,5%, válvula íleo-ceco-cólica 28,5% e intestino delgado 4,5%.

Prolapso de reto foi observado principalmente em lesões na válvula íleo-ceco-cólica 28,6%, intestino grosso, 20,8% e intestino delgado, 4,5%.

Os grupos de neoplasias não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação às alterações clínicas analisadas. A distribuição relativa das ocorrências dos sinais e sintomas foi apresentada nos gráficos 9 a 11.

Os animais do grupo das neoplasias hematopoéticas apresentaram êmese ($p=0,629$), diarreia ($p=0,629$), tenesmo ($p=0,381$), disquesia ($p=0,642$), prolapso de reto ($p=0,523$) e perda de peso ($p=0,216$), em maior frequência.

Hematoquesia foi observada em maior frequência no grupo dos animais com neoplasias epiteliais ($p= 0,675$) e anorexia foi o achado mais comumente observado no grupo das neoplasias mesenquimais ($p=0,012$).

Gráfico 9 – Distribuição da frequência relativa dos sinais e sintomas GI - êmese, diarreia e hematoquesia - nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

Gráfico 10 - Distribuição da frequência relativa dos sinais e sintomas GI -tenesmo, disquesia e prolapso de reto - nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 -dez. 2008

Gráfico 11 - Distribuição da Frequência relativa dos sinais e sintomas GI - Anorexia, perda de peso e prostração nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008

6.2.2 Caracterização laboratorial

Os resultados dos exames laboratoriais analisados por grupo de neoplasia foram apresentados na tabela 6.

O hemograma foi realizado em 50 casos estudados (80,6%), dos quais em 20 (40%) foi diagnosticado anemia e houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com $p = 0,015$ utilizando os testes estatísticos Qui-quadrado e Cramer's-v. A tabela 7 apresenta a distribuição relativa da ocorrência de anemia entre os grupos de morfologia de neoplasia GI.

Os animais do grupo das neoplasias mesenquimais apresentaram anemia em maior frequência (50%), cujos valores de hematócrito e hemoglobina foram os mais baixos e com diferença estatisticamente significativa para o valor de hematócrito com $p = 0,029$ e sem diferença estatística em relação ao número de hemácias e de hemoglobina $p = 0,962$ e $p = 0,052$, respectivamente. Os gráficos 12 e 13 exibem a distribuição relativa

dos valores de hematócrito e hemoglobina para os grupos morfológicos de neoplasias de cães.

Tabela 7 - Distribuição dos casos de anemia nos diferentes grupos de neoplasias – São Paulo- jan.1998 - dez. 2008

Grupo de neoplasia	Anemia		Total
	Ausente	Presente	
Epitelial	14	4	18
	46,7%	20%	36%
Hematopoética	12	6	18
	40%	30%	36%
Mesenquimal	4	10	14
	13,3%	50%	28%
Total	30	20	50
	100%	100%	100%

Os animais do grupo das neoplasias mesenquimais apresentaram 50% anemia normocítica normocrômica (5/10) e 50% anemia microcítica hipocrômica (5/10).

No grupo das neoplasias hematopoéticas 66% apresentaram anemia normocítica normocrômica (4/6) e 33,3% anemia microcítica hipocrômica.

No grupo dos animais com neoplasias epiteliais 75% apresentaram anemia normocítica normocrômica (3/4), enquanto 25% anemia microcítica hipocrômica (1/4).

A avaliação do número de plaquetas mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos hematopoéticos e mesenquimais com $p=0,003$. Em 45,5% dos cães com neoplasias hematopoéticas (5/11) apresentaram trombocitopenia e 46,2% dos cães com neoplasias mesenquimais (6/13) exibiram trombocitose com valores acima de 700.000 mm^3 . O gráfico 14 apresenta a distribuições da contagem de plaquetas para os grupos morfológicos.

Tabela 6 – Distribuição dos resultados laboratoriais entre os grupos de neoplasias e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo – São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

Exame ¹	Epitelial			Mesenquimal			Hematopoética			Valor de P
	Média ± DP ^{&}	Mínimo	Máximo	Média ± DP ^{&}	Mínimo	Máximo	Média ± DP ^{&}	Mínimo	Máximo	
Hematócrito	39,1 ± 8,3	24	54	29,1 ± 14,1	9	52	37,3 ± 9,7	19	51	0,029
Hemáceas	6 ± 1	4,4	7,9	6,4 ± 6,3	1,6	27	6,3 ± 1,8	3,1	10,2	0,962
Hemoglobina	12,8 ± 2,9	8,2	18	9,9 ± 4,8	3,1	18,1	12,6 ± 3,2	6,2	17,6	0,052
Leucócitos	14,1 ± 7,5	4,4	30,2	19,5 ± 13	4,4	49,6	14,4 ± 6,1	5,4	23,7	0,205
Plaquetas	453 ± 143,8	227	760	599,9 ± 229,8	255	885	298,2 ± 209,3	62	643	0,031
Albumina	2,9 ± 0,5	1,7	3,5	2,5 ± 0,6	1,3	3,3	2,4 ± 0,7	1,3	4	0,112
Proteína total	6,4 ± 1	4,8	8,8	6,4 ± 0,8	5,2	7,4	6,3 ± 1,4	3	9	0,996
Uréia	61,8 ± 87,1	12,8	370	37 ± 26	7	85,7	33,3 ± 18,1	10,4	69	0,332
Creatinina	0,2 ± 0,4	0,8	2,5	0,1 ± 0,3	0,6	1,5	1,9 ± 2	0,7	6,8	0,166
ALT*	53,1 ± 48,6	16,6	161	103,6 ± 149	9,8	555,4	102,2 ± 113,1	9	370	0,332
FA [#]	293 ± 735	11	2.620	86,2 ± 71,8	10	243	184 ± 184,6	28,6	599	0,514

¹ Hematócrito %, Hemáceas milhões/ mm³, Hemoglobina g/dl, leucócitos x1000/mm³, plaquetas x1000/mm³, albumina g/dL, proteína total g/dL, uréia mg/dL, Creatinina mg/dL, *Alanina amino transferase U/L, [#] Fosfatase alcalina U/L, [&]DP=Desvio Padrão

O número de leucócitos totais também foi superior no grupo dos animais com neoplasias mesenquimais, porém não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,205$). A distribuição dos valores foi apresentada no gráfico 15.

Os exames bioquímicos não foram estatisticamente diferentes entre os grupos de neoplasia.

Os resultados de proteína total e albumina foram abaixo dos valores de referência em 6/14 (42,8%) e 1/13 (7,6%) nos quadros de neoplasia epitelial; 6/17 (35,2%) e 4/15 (26,6%) nos cães com neoplasia hematopoiética e 4/13 (30%) e 4/14 (28,5%) no grupo das neoplasias mesenquimais.

As enzimas hepáticas, ALT e FA, foram acima dos valores de referência em 5/12 (41,6%) e 2/12 (16,2%) nos cães com neoplasia epitelial; 11/15 (73,3%) e 5/13 (38,4%) nos tumores hematopoiéticos, e 8/12 (66,6%) e 1/12 (8,3%) nos animais com neoplasia mesenquimal.

A função renal foi avaliada quanto aos níveis séricos de uréia e creatinina e os resultados foram acima dos valores de referência em 5/15 (33,3%) e 1/16 (6,25%) nos tumores epiteliais; 3/15 (20%) e 2/15 (13,3%) nos cães com neoplasia hematopoiética, e em três casos (27,25%) a uréia estava acima dos valores de referência no grupo das neoplasias mesenquimais.

Gráfico 12 - Valor do hematócrito nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.

Gráfico 13 - Valor de hemoglobina nos diferentes grupos de neoplasias -São Paulo- Jan. 1998 - Dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.

Gráfico 14 - Valor do número de plaquetas nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos.

Gráfico 15 - Valor do número de leucócitos nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo- Jan. 1998 - Dez. 2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo

6.3 CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS NEOPLASIAS GI

6.3.1 Localização

Em relação à localização no sistema digestório a maioria das neoplasias estava localizada no reto, 35,5 % (22/62), seguido pelo jejuno em 17,7%. (11/62), válvula íleo-ceco-cólica 9,5%, (6/62), duodeno 8%, (5/62), cólon 6,5%, (4/62), piloro 6,5%, (4/62), e no esôfago, fundo gástrico e íleo foram em cada segmento 1,5%. O gráfico 16 apresenta a distribuição das neoplasias segundo a localização no sistema digestório.

As neoplasias hematopoéticas e epiteliais foram observadas principalmente no reto, enquanto as neoplasias mesenquimais localizadas mais comumente no jejuno. Os resultados foram exibidos no gráfico 13 e tabela 8.

Tabela 8 – Distribuição segundo a localização nos diferentes grupos de neoplasias gastrintestinais – São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

Localização	Epitelial		Hematopoética		Mesenquimal	
	N	%	N	%	N	%
Esôfago					1	6,3
Fundo			1	6,6		
Piloro	2	9			2	13
Duodeno	3	13			2	13
Jejuno	2	9	3	20	6	38
Íleo					1	6,3
Válvula íleo- ceco- cólica			3	20	2	13
Cólon	2	9	2	13,5		
Reto	14	62	6	40	2	13
Total	25		15	100	16	100

Gráfico 16- Distribuição segundo a localização dos diferentes grupos de neoplasias – São Paulo – Jan. 1998- Dez. 2008

O intestino delgado foi difusamente comprometido em cinco cães com diagnóstico de linfoma (5/62) representando 8% de todas as neoplasias. As lesões multissegmentares que compreenderam todo intestino delgado e intestino grosso corresponderam 1,5%, (1/62) e comprometimento multissegmentar no estômago, intestino delgado, intestino grosso 1,5%, (1/62).

O linfoma T foi responsável por 85,5%, (6/7) dos animais com comprometimento difuso. Em 15,5%, (1/62) casos o adenocarcinoma tubular foi responsável por comprometimento difuso do intestino delgado.

6.3.2 Tamanho

O grupo das neoplasias mesenquimais exibiu diferença estatisticamente significativa, $p=0,01$, em relação ao tamanho do neoplasma utilizando o teste de análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou o maior tamanho em centímetros quando comparado aos outros grupos. Não foi observado diferença estatística no tamanho entre o grupo das neoplasias epiteliais e hematopoéticas $p= 0,714$. Os resultados foram apresentados na Tabela 9 e Gráfico 17.

Tabela 9 – Distribuição das neoplasias segundo tamanho em centímetros e grupo de neoplasia e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo Jan. 1998 - Dez. 2008

Neoplasia	Casos	Média $\pm$ DP*	Mínimo	Máximo
Epitelial	22	3,24 $\pm$ 2,46	0,5	10
Hematopoética	20	4,15 $\pm$ 3,66	0,5	15
Mesenquimal	16	7,91 $\pm$ 5,11	2,6	20

*DP= Desvio Padrão

Gráfico 17 – Distribuição das neoplasias segundo tamanho da neoplasia e grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, barras de erros os valores mínimos e máximos, asterisco representa valor extremo.

6.3.3 Ocorrência de metástases

Metástase à distância foi constatada em 23,5%, (17/60) dos casos. Não foi possível avaliar metástases à distância e linfonodal em dois animais no grupo dos animais com neoplasias epiteliais devido à falta de informações clínicas no prontuário médico.

Os principais sítios metastáticos observados foram fígado 15%, (9/60), baço 6,5%, (4/60), peritônio 5%, (3/60), rim, cérebro, pulmão e omento 3,5%, (2/60), trigono vesical e pâncreas 1,5%, (1/60). A localização dos focos metastáticos foram apresentadas no gráfico 18.

Gráfico 18 - Localização dos principais pontos de metástases observados nos animais portadores de neoplasias GI - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.

Utilizando o teste de relação nominal Cramer's-v, não houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de neoplasias ($p=0,576$) em relação a metástases à distância. O gráfico 19 apresenta os resultados da análise de ocorrência de metástase entre os grupos de neoplasias. O tamanho do neoplasma não apresentou correlação com a presença de metástases ($p=0,981$).

Em 19,2%, (5/24) casos do grupo das neoplasias epiteliais apresentaram metástases à distância. Os principais sítios metastáticos das neoplasias epiteliais foram: fígado 60%, (3/5), omento 40%, (2/5), trígono vesical 20%, (1/5) e peritônio 20%, (1/5).

Os animais com neoplasias hematopoéticas apresentaram a maior frequência de metástases à distância em 35% (7/20). Os principais locais de invasão relatados foram: fígado 71%, (5/7), baço 42,8% (3/7), peritônio 28,5%, (2/7), rim 14,2%, (1/7), cérebro 14,2%, (1/7), pulmão 14,2%, (1/7).

No grupo dos animais com neoplasias mesenquimais 25%, (4/16), apresentaram metástases. Os principais sítios metastáticos foram: baço 50%, (2/4), fígado 25%, (1/4), rim 25%, (1/4), cérebro 25%, (1/4), pâncreas 25%, (1/4), tórax 25%, (1/4).

Gráfico 19 – Presença de metástases à distância e os diferentes grupos de neoplasias – São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.

Em 36,5%, (22/60) dos animais com neoplasias gastrintestinais apresentaram metástases nos linfonodos regionais. Os principais linfonodos acometidos foram o linfonodo mesentérico 28,5%, (17/60), linfonodo ilíaco e sublombar 5%, (3/60), linfonodo peri-hepático 3,5%, (2/60), linfonodo mediastinal, submandibular, pré-escapular, poplíteo, esternal, pancreático e gástrico corresponderam cada um 1,5%,(1/60). Os resultados foram apresentados no gráfico 20.

Gráfico 20 - Distribuição das metástases linfonodal dos animais portadores de neoplasias gastrintestinais - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008.

Houve diferença estatisticamente significativa no comprometimento neoplásico de linfonodos regionais no grupo das neoplasias hemtopoéticas quando comparado aos demais grupos ($p=0,004$) usando o teste de relação nominal Cramer's-v. Entre o grupo das neoplasias epiteliais e mesenquimais não foi observada diferença estatística $p=$

0,956. O gráfico 21 apresenta os resultados da análise de ocorrência de metástase entre os grupos de neoplasias.

Gráfico 21 - Distribuição dos casos segundo o comprometimento de linfonodos regionais e os diferentes grupos de neoplasias – São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

No grupo dos animais com neoplasias epiteliais, 19,2%, (5/26) apresentaram infiltração neoplásica. Os principais linfonodos acometidos foram: linfonodo mesentérico 80%, (4/5), e linfonodo sublombar 20%, (1/5).

O grupo das neoplasias hematopoéticas foi o que apresentou maior frequência de infiltração neoplásica nos linfonodos, correspondendo 65%, (13/20), dos casos. Os principais linfonodos acometidos foram: linfonodo mesentérico 55%, (11/20), linfonodo peri-hilares hepático 10%, (2/20), linfonodo ilíaco 5%, (1/20), linfonodo mediastinal 5%, (1/20), linfonodo pancreático 5%, (1/20), linfonodo gástrico 5%, (1/20) e comprometimento multicêntrico acometendo o linfonodo submandibular, pré-escapular, poplíteo, esternal e cadeia sublobares em 5%, (1/20).

Em 25%, (4/16) dos animais do grupo das neoplasias mesenquimais apresentaram infiltração neoplásica nos linfonodos. Os principais linfonodos acometidos foram o mesentérico 50%, (2/4) e os ilíacos 50%, (2/4).

A análise estatística não apontou relação entre tamanho do neoplasma e o risco de infiltração neoplásica nos linfonodos ($p=0,240$). Entretanto, observamos que o tamanho da neoplasia dos animais com infiltração neoplásica em linfonodos apresentaram média de $5,7 \pm 5,26$ cm, enquanto que os animais sem infiltração linfonodal apresentaram um tamanho menor com média de $4,3 \pm 3,37$ cm.

6.4 CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS NEOPLASIAS GI

6.4.1 Neoplasias epiteliais

As neoplasias epiteliais corresponderam aos casos 37 a 62. Os principais diagnósticos foram: 7,6% adenoma papilífero (casos 56 e 57); 3,8% adenoma tubular (caso 52); 7,6% adenocarcinoma gástrico em anel de sinete (casos 37 e 62); 23% adenocarcinoma tubulopapilífero (casos 46, 48, 49, 51, 54 e 55), 15,3% adenocarcinoma tubular (casos 38, 39, 42, 45), 30,7% adenocarcinoma tubular mucinoso (casos 40, 41, 47, 50, 53, 59, 60, 61); 3,8% adenocarcinoma papilífero (caso 43) e 7,6% adenocarcinoma sólido (casos 44 e 58). O quadro 5 apresenta a distribuição dos casos segundo diagnósticos morfológicos e localização.

A morfologia e a intensidade do processo inflamatório foram avaliadas em 6/26 (23%) casos 37, 38, 40, 45, 48 e 50. A intensidade do processo inflamatório foi caracterizada pelo predomínio de infiltrado linfoplasmocítico discreto (casos 45, 50) a moderado (casos 37, 38, 40 e 48). Não foram observadas alterações morfológicas na vilosidade, criptas e epitélio superficial dos segmentos adjacentes aos tumores.

Caso	Região	Diagnóstico
37	Píloro	Carcinoma em anel de sinete
38	Reto	Adenocarcinoma tubular
39	Duodeno	Adenocarcinoma tubular
40	Cólon	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
41	Reto	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
42	Duodeno	Adenocarcinoma tubular
43	Reto	Adenocarcinoma papilífero
44	Duodeno, jejuno, íleo	Adenocarcinoma sólido
45	Jejuno	Adenocarcinoma tubular
46	Reto	Adenocarcinoma tubulo papilífero
47	Reto	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
48	Reto	Adenocarcinoma túbulo papilífero
49	Reto	Adenocarcinoma túbulo papilífero
50	Reto	Adenocarcinoma tubular com cistos Mucinoso
51	Reto	Adenocarcinoma túbulo papilífero
52	Reto	Adenoma Tubular
53	Válvula íleo- ceco- cólica	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
54	Duodeno	Adenocarcinoma tubulopapilífero
55	Reto	Adenocarcinoma tubulo papilífero
56	Reto	Adenoma papilífero
57	Reto	Adenoma papilífero
58	Reto	Adenocarcinoma sólido
59	Íleo	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso
60	Jejuno	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso
61	Reto	Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos
62	Reto	Carcinoma em anel de sinete

Quadro 6 - Distribuição dos casos segundo diagnósticos morfológicos e localização – São Paulo- jan. 1998 – dez. 2008

Adenoma tubular e/ou papilífero (casos 52, 56 e 57)

Os adenomas estavam localizados no reto e se caracterizaram por proliferações polipóides sésseis ou pedunculadas formadas por projeções papiliformes irregulares (casos 56 e 57) e estruturas tubulares figura 29 (caso 52). As células neoplásicas exibiam discreta à moderada displasia caracterizada por células colunares ou cubóides, cujo núcleo é ovalado a arredondado com a cromatina homogênea ou granular e nucléolo, na

maioria das vezes, inconspícuos. As células revestem as estruturas em monocamada e, em alguns focos, observava-se sobreposição nuclear. Algumas projeções exibiram focos de ulceração e exsudação de neutrófilos, fibrina e hemácias. O estroma era colagenoso e havia moderado infiltrado de neutrófilos, linfócitos e plasmócitos. A produção de muco era variável, com trechos extracelulares e áreas intracelulares.

Adenocarcinoma gástrico em anel de sinete (casos 37 e 62)

Fragmentos de estômago revelaram perda de arquitetura e morfologia tecidual associada à ulceração da mucosa devido proliferação de células poligonais com núcleos ovalados a arredondados, hipercromáticos, que na maioria das vezes foram deslocados para periferia e o citoplasma claro foi preenchido por mucina (anel de sinete) figura 20. As células foram distribuídas de forma sólida ou em túbulos irregulares. O pleomorfismo celular foi considerado moderado (caso 37) e elevado (caso 62), foi observado moderado número de células em mitose. A lâmina própria superficial apresentou focos de hemorragia, edema e congestão; além da presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto a moderado. A submucosa apresentou trechos de necrose e hemorragia associado à infiltração neoplásica. O tumor se estendeu até a serosa do estômago.

Adenocarcinoma tubular e /ou papilífero (casos 38 - 43, 45 - 51, 53 - 55, 59 - 61)

Os adenocarcinomas intestinais estavam localizados no duodeno (casos 39, 42, 54), jejuno (caso 45, 60), íleo (caso 59), válvula íleo-ceco-cólica (caso 53), cólon (caso 40) e no reto (casos 38, 41, 43, 46-51, 55 e 61). Essas neoplasias foram caracterizadas por proliferações tubulares de diferentes tamanhos (casos 38, 39, 42, 45), por vezes, dilatados e preenchidas por muco figura 21 e 22 (casos 40, 41, 47, 50, 53, 59-61), por projeções papilíferas figura 23 e 24 (caso 43) e pela presença de túbulos figura 27 e papilas em igual distribuição (casos 46, 48, 49, 51, 54, 55). O grau de diferenciação das neoplasias foi variável de bem a moderadamente diferenciado. As células neoplásicas

eram basofílicas, colunares ou cubóides, cujo núcleo se localizava no centro da célula ou na base e a cromatina era granular e condensada ou homogênea. O nucléolo na maioria dos casos estava conspícuo. O pleomorfismo celular é moderado a severo e o índice mitótico variou de moderado a severo. Frequentemente foram observadas células em mitose atípica. O estroma é fibrovascular com moderado a severo infiltrado de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. Havia focos de hemorragia e necrose em graus diferentes. O comprometimento das camadas submucosa e musculares foi variável, assim como a presença de ulceração da mucosa.

Adenocarcinoma sólido (casos 44 e 58)

Os casos de adenocarcinoma sólido estavam localizados no reto figura 26 (caso 58) e no duodeno, jejuno e íleo (caso 44). Esse padrão morfológico se caracterizou por proliferações sólidas de células epiteliais atípicas com crescimento exofítico ou infiltrativo. As células neoplásicas se caracterizaram por serem poligonais, com citoplasma claro basofílico e núcleo ovalado com nucléolo evidente. O pleomorfismo celular variou de moderado a severo, bem como o índice mitótico. A observação de células em mitose atípica foi freqüente. O estroma era colagenoso e havia infiltrado inflamatório de intensidade variável. A presença de focos de hemorragia e necrose foi variável e havia casos de ulceração da mucosa.

6.4.2 Neoplasia hematopoética

As neoplasias hematopoiéticas corresponderam 32% (20/62, casos 1 a 20), dos quais em 75% (15/20) foram caracterizados linfoma T, casos 1 a 5 e 8-16, 19 20% (4/20) linfoma B, casos 6, 7, 17 e 18, e 5% (1/20) de mastocitoma, caso 20.

Linfomas (casos 1 a19)

Nos casos de 1 a 19 foram diagnosticados linfoma conforme ilustrado na figura 1, dos quais 15 foram linfoma T (CD3+, CD79a- figura 3) e 4, linfoma B (CD79a+, CD3-). Os linfomas se caracterizaram histologicamente por lâmina própria estendida por infiltrado homogêneo de células redondas em padrão monótomo acometendo a muscular da mucosa, a camada submucosa e as camadas musculares. As células neoplásicas exibiram núcleos redondos a ovalados de cromatina densa e citoplasma escasso. O pleomorfismo foi discreto a moderado e o índice mitótico variável de baixo (17/19 casos) a alto (2/19 casos), com figuras de mitoses atípicas. Na maioria dos casos, as células neoplásicas exibiram núcleos clivados claros, por vezes, com nucléolos evidentes (14/19 casos). Foram observados poucos eosinófilos, plasmócitos e focos de necrose (12/19 casos). Os linfáticos estavam moderadamente dilatados na submucosa (6/19 casos).

As alterações histológicas no segmento adjacente a neoplasia foram avaliadas em 11 dos casos de linfoma T (58%, casos 2, 3, 6, 8, 9, 10, 13, 15, 17-19).

A intensidade do processo inflamatório nos segmentos adjacentes a neoformação foi severa em 100%, (11/11) dos casos, composto de linfócitos e plasmócitos. As principais alterações morfológicas observadas em animais com linfoma alimentar tipo T no intestino delgado foram: redução de 50% do comprimento da vilosidade em 80% dos casos (4/5), aumento de moderado a severo dos linfócitos intra-epiteliais em 40% (2/5 casos), discreta a moderada hiperplasia de cripta em todos os casos (5/5) e diminuição da relação vilo: cripta em 60% (3/5). No intestino grosso as principais alterações morfológicas encontradas foram: discreta a moderada degeneração do epitélio colônico superficial em 33,5% casos (2/6), e discreta e moderada hiperplasia de cripta em todos os casos (5/5).

Mastocitoma (caso 20)

Neoplasia localizada no cólon, composto de células neoplásicas redondas pleomórficas, com tamanho médio, arranjadas de forma sólida. O citoplasma exibiu

granulação basofílica, a qual com a coloração de Azul de Toluidina mostrou metacromasia dos grânulos intracitoplasmáticos que se coraram em vermelho. O estroma fibrovascular apresentou áreas de hialinização e moderado número de eosinófilos. Células binucleadas, edema, hemorragia e necrose foram observados. Não foi possível avaliar segmentos adjacentes a neoplasia quanto à morfologia e o infiltrado inflamatório.

6.4.3 Neoplasias mesenquimais

As neoplasias mesenquimais corresponderam aos casos 21 a 36. Os diagnósticos foram: 12% leiomioma (casos 24 e 25), 25% leiomiossarcoma (casos 26-29), 19% GIST (casos 21, 22 e 35), 12,5% osteossarcoma (casos 34 e 36), 6,5% hemangiossarcoma (caso 23) e 25% sarcoma pouco diferenciado (casos 30-33).

A morfologia e a intensidade do processo inflamatório foram avaliadas somente em 50%, (8/16). Nos casos (21, 23, 26, 29, 31, 32, 35) a intensidade do processo inflamatório com predomínio de linfócitos e plasmócitos nos segmentos adjacentes a neoplasia foi discreto em 75% (6/8) e moderado 25% (2/8).

Leiomioma (casos 24 e 25)

Leiomiomas (vimentina +, actina de músculo liso +, desmina +, CD117 -, S100-, CD34 -) figura 10 estavam localizados no reto. Os fragmentos analisados revelaram proliferação de células mesenquimais fusiformes com núcleos alongados cujos bordos eram retos e similares a charutos, que se arranjavam em feixes multidirecionais figura 6. As células neoplásicas exibiram baixo pleomorfismo e não foram observadas células em mitose figura 7. Os vasos estromais estavam congestionados e havia diminutos focos de hemorragia.

Leiomiossarcoma (casos 26 a 29)

Os leiomiossarcomas estavam localizados no piloro (casos 27 e 29) e no jejuno (casos 26 e 28). Os leiomiossarcomas (vimentina +, actina de músculo liso +, desmina + no caso 26, CD117 -, S100 -, CD34-) se caracterizaram pela proliferação de células mesenquimais fusiformes com núcleos ovalados a alongados que se arranjam em feixes multidirecionais figura 8. As células, cujo citoplasma eosinofílico apresentava limite citoplasmático pouco definido, exibiam, por vezes, vacuolização (casos 27 e 28). O núcleo alongado com bordos retos apresentava moderado pleomorfismo figura 9 e cromatina frouxa e nucléolo, por vezes, conspícuo e grande. Foi observado índice mitótico moderado e células em mitose atípica (caso 26 a 29). Havia áreas de necrose e moderada hemorragia associadas ou não a infiltrado de neutrófilos e colônias de bactérias cocóides (casos 27)

Tumor estromal gastrintestinal (casos 21, 22 e 35)

Em dois casos a neoformação estava localizada no jejuno (casos 35), íleo (caso 22) e um na válvula íleo-ceco-cólica (caso 21).

A análise microscópica dos GIST'S (CD117 +, vimentina + representado pela figura 15 e 16, desmina -, S100 -, CD34 - e SMA + no caso 21) revelou proliferação de células fusiformes arranjadas em feixes longos densamente celulares figura 13 e 14. As células neoplásicas apresentaram citoplasma de limites pouco definidos, eosinofílico a basofílico, núcleo ovalado a alongado com cromatina granular e nucléolo evidente único e grande ou pequenos e duplos. Foi observado índice mitótico elevado, com células em mitose atípica, pleomorfismo nuclear elevado e presença de megacariose, anisocariose e aumento da relação núcleo: citoplasma (caso 22). Somaram-se áreas de extensa necrose e hemorragia associadas a severo infiltrado neutrofílico difuso com ocasionais macrófagos. Em um caso foi observado área de deposição de matriz osteóide não mineralizada (caso 35)

Osteossarcoma osteoblástico (casos 34 e 36)

Os osteossarcomas (vimentina +, CD117 -, pancitoqueratina –) localizados no esôfago (caso 34) e no íleo (caso 36) foram caracterizados por proliferação de células mesenquimais com diferenciação óssea figura 11, na qual se observou produção de matriz osteóide parcialmente mineralizada entre células poligonais e alongadas conforme ilustrada na figura 12. As células neoplásicas arranjadas em feixes multidirecionais se estendiam da camada muscular à mucosa, onde se observou ulceração associada à exsudação neutrofílica e bactérias cocóides aderidas (caso 36). No caso 34 a neoplasia comprometeu as camadas musculares e serosa. As células neoplásicas apresentaram citoplasma eosinofílico, núcleo ovalado a alongado e nucléolos evidentes únicos e grandes ou duplos e pequenos. O pleomorfismo celular foi moderado e o índice mitótico variou de moderado a elevado, e, por vezes, observaram-se células em mitose atípica (caso 34 e 36). Havia áreas extensas de necrose e hemorragia. O caso 34 exibiu múltiplos êmbolos de células neoplásicas nos vasos adjacentes à neoplasia e a mucosa esofágica.

Hemangiossarcoma (caso 23)

Neoformação localizada no cólon onde a camada muscular exibia espaços vasculares irregulares de tamanhos delimitados por células endoteliais atípicas. Tais células exibiam pleomorfismo moderado, nucléolos conspícuos e foram observadas raras figuras de mitose atípicas. Junto à proliferação foram evidentes extensas áreas de necrose e hemorragia.

Sarcoma pouco diferenciado (casos 30 a 33)

As neoplasias localizadas no duodeno (caso 32), jejuno (casos 30 e 31), e íleo (caso 33) foram vimentina + representado na figura 19, CD117 -, desmina -, actina de músculo liso - S100 - e CD34 -. As proliferações se caracterizaram por células

alongadas a fusiformes conforme representado pela figura 17, cujo citoplasma basofílico exibiu limites pouco definidos e os núcleos eram ora ovalados e pequenos e ora arredondados e com a cromatina densa e granulação fina. Os nucléolos estavam inconspícuos. As células neoplásicas estavam arranjadas em feixes curtos dispostos em diferentes direções e conferiram ao tumor aspecto multilobulado figura 18. O estroma era rico em vasos congestos e havia extensas áreas de necrose e hemorragia. A neoplasia comprometia as camadas musculares do intestino delgado. O pleomorfismo celular era baixo a moderado e o índice mitótico moderado, porém observaram várias células em mitose atípica.

6.4.4 Grau de malignidade

A avaliação do grau de malignidade entre os grupo de neoplasias mostrou que a distribuição dos graus entre os grupos não é homogênea e esta diferença foi estatisticamente significativa, $p= 0,001$, utilizando análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. A tabela 10 e o gráfico 22 apresentam a distribuição dos graus de malignidade das neoplasias GI.

Em 80,8% das neoplasias epiteliais (21/26) e em 50% das hematopoiéticas (10/20) foram de grau 1, enquanto que em 56,2% dos tumores mesenquimais (9/16) o grau mais freqüente foi o grau 3 de malignidade.

Tabela 10 – Distribuição do grau de malignidade no grupo das neoplasias hematopoética - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

Grau	Epitelial		Hematopoética		Mesenquimal	
	N	%	N	%	N	%
1	21	80.8	10	50.0	5	31.25
2	5	19.2	9	45.0	2	12,5
3	0	0	1	5.0	9	56.2
Total	26	100	20	100	16	100

Gráfico 22 - Distribuição das neoplasias segundo o grau de malignidade histológica - São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

As neoplasias apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao tamanho e ao grau de malignidade, $p = 0,004$, usando a análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. O gráfico 23 demonstra os resultados dessa análise.

As neoplasias com grau 3 apresentaram maior tamanho, cuja média foi $10,6 \pm 5,9$ cm; as neoplasias grau 2 tinham tamanho intermediário com média de $6 \pm 4,6$ cm e as neoplasias grau 1 foram aquelas que apresentaram menor tamanho cuja média foi $3,9 \pm 2,6$ cm.

Gráfico 23 - Distribuição das neoplasias segundo o tamanho e o grau de malignidade - São Paulo - jan.1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana e as barras de erros os valores mínimos e máximos

Não foi observado correlação entre o grau de malignidade e a presença de metástases a distância ($p=0,433$) e nos linfonodos regionais ($p=0,474$).

6.4.5 Avaliação histológica das neoplasias quanto à hemorragia, ulceração e o comprometimento das camadas intestinais

A extensão da hemorragia no parênquima neoplásico foi apresentada no gráfico 24. Em 84% das neoplasias mesenquimais (13/16), 54% das neoplasias epiteliais (14/26) e 50% das neoplasias hematopoéticas (10/20) foram constatadas áreas de hemorragia no parênquima.

O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou maiores áreas de hemorragia e a distribuição dessas foi 37,5% em pequenos focos hemorrágicos (6/16), 43,5% em focos extensos (7/16) e 18,75% ausência de hemorragia (3/16). Nas neoplasias epiteliais observaram pequenos focos em 54%, (14/26), e não havia focos em 43%, (12/26). As neoplasias hematopoéticas apresentaram pequenos focos em 30%, (6/20), focos extensos em 20%, (4/20) e ausência em 50%, (10/20).

Não houve relação estatisticamente significativa entre a presença de hemorragia e anemia nos grupos de neoplasias ($p=0,762$).

Gráfico 24 – Distribuição da presença de hemorragia nos diferentes grupos de neoplasias- São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

A ulceração da mucosa foi observada em 77% no grupo das neoplasias epiteliais, (20/26), em 62,5% da neoplasia mesenquimal (10/16), e em 50% das neoplasias hematopoéticas (10/20).

Os animais com ulceração na mucosa intestinal apresentaram em maior frequência êmese ($p=0,585$), diarreia ($p=0,1349$), hematoquesia ($p=0,700$) e disquesia ($p=0,793$) em comparação aos animais sem ulceração.

Não houve relação estatisticamente significativa entre presença de ulceração e anemia ($p=0,481$), ulceração e perda de peso ($p=0,937$), e ulceração e hemorragia ($p=0,712$).

Os animais com ulceração na mucosa apresentaram aumento do número de leucócitos totais, porém sem diferença estatística ($p=0,219$). O número médio de leucócitos foi igual a $16,9 \pm 10,3$ mil nos quadros de ulceração e foi $13,6 \pm 5,9$ mil nos casos sem ulceração.

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à concentração plasmática da proteína total e albumina entre animais com ulceração e sem ulceração ($p=0,121$).

A distribuição das lesões nas camadas do trato GI do grupo das neoplasias epiteliais foi 23% comprometimento apenas da mucosa e submucosa (6/26), 42,3% invasão da camada muscular (11/26) e 11,5% de todas as camadas até serosa sem perfuração desta (3/26). Em 23% dos casos, não foi possível determinar as camadas acometidas (6/26).

O comprometimento neoplásico das camadas do trato GI foi semelhante entre os grupos de animais com neoplasias hematopoéticas e mesenquimais como ilustrado no gráfico 25.

A distribuição das lesões nas diferentes camadas do trato gastrointestinal dos animais com neoplasias hematopoéticas foi 15% comprometimento da mucosa e submucosa (3/20), 25% invasão camada muscular (5/20%) e 60% todas as camadas (12/20).

A infiltração neoplásica nas camadas do trato gastrointestinal referente às neoplasias mesenquimais foi 12,5% comprometimento da mucosa e submucosa (2/16), 18,75% invasão camada muscular (2/16) e 68,75% todas as camadas (11/16).

Os animais com comprometimento neoplásico em todas as camadas apresentaram anemia com maior frequência, sendo estes achados estatisticamente significativos ($p=0,016$).

Os focos de hemorragia foram superiores nas lesões restritas a mucosa e submucosa ($p=0,232$), porém não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as diferentes camadas.

Não houve diferença na concentração dos níveis plasmáticos de proteína total ($p=0,508$) e albumina ($p=0,942$) em relação ao comprometimento neoplásico nas diferentes camadas do trato gastrointestinal.

A ulceração da mucosa foi observada com maior frequência nos casos que apresentaram comprometimento neoplásico em todas as camadas, embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,299$), quando comparado as outras camadas.

Gráfico 25 - Comprometimento das camadas do trato gastrointestinal nos diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

6.4.6 Avaliação imuno-histoquímica da proliferação celular nas neoplasias GI

6.4.6.1 Índice de PCNA

O índice de PCNA nas neoplasias foi estatisticamente diferente, $p=0,004$, utilizando análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. As neoplasias

epiteliais exibiram maior índice de proliferação celular e as hematopoiéticas o menor. A tabela 11 e o gráfico 26 exibem esses resultados.

Tabela 11 – Distribuição das neoplasias segundo o índice de PCNA e os grupos de neoplasias e a média, desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo - São Paulo- Jan. 1998-Dez. 2008

Neoplasia	N	PCNA%	Mínimo	Máximo
Média ± DP*				
Epitelial	26	59,34 ± 25,9	0	80,1
Mesenquimal	16	48,83 ± 24,37	7,7	79
Hematopoética	20	35,7 ± 16,75	11,1	60,5

* DP= Desvio padrão

Gráfico 26 - Imunoexpressão do PCNA entre os diferentes grupos de neoplasias - São Paulo - jan.1998 - dez.2008. Caixa interna representa porcentagem, linha interna representa mediana, marca circular representa média, barras de erros os valores mínimos e máximos, asteriscos representam valores extremos.

Avaliação do grau de malignidade e o índice de proliferação em cada grupo de neoplasia mostrou diferença estatisticamente significativa no grupo das neoplasias mesenquimais ($p= 0,021$). A tabela 12 mostra esse resultado. A imuno-expressão do

anticorpo PCNA nas neoplasias mesenquimais e hematopoéticas com grau 3 foram superiores, quando comparado aos animais grau 2 e 1. Não houve nenhum caso classificado com grau 3 no grupo das neoplasias epiteliais, embora os animais grau 2 foram o que apresentaram maior imunoexpressão do PCNA.

Tabela 12 - Imunoexpressão do anticorpo PCNA nos graus de malignidade para cada grupo de neoplasia – São Paulo jan. 1998 - dez. 2008

Neoplasia	Grau 1	Grau 2	Grau 3	valor de p
Epitelial	55,28	76,42	0	0,102
Hematopoética	30,4	40,6	53	0,256
Mesenquimal	19,3	49,8	62,46	0,021

Os animais com metástases à distância apresentaram valores superiores de PCNA em relação aos animais sem metástases, porém a análise estatística não mostrou diferença ($p=0,347$). O valor médio de PCNA nos animais com metástases foi $53,66 \pm 25,55\%$, enquanto animais sem metástases a média do PCNA foi $47,1 \pm 25,5\%$.

Os animais com metástases nos linfonodos regionais apresentaram valores superiores de PCNA em relação aos animais sem metástases, porém a análise estatística não mostrou significância ($p=0,690$). O valor médio do PCNA nos animais com comprometimento linfonodal foi $50,66 \pm 23,17\%$, enquanto animais sem infiltração linfonodal a média do PCNA foi $47,99 \pm 25,93\%$.

6.4.6.2 Índice de Ki-67

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos valores de Ki-67 entre os grupos de neoplasias ($p=0,946$). O resultado foi apresentado na tabela 13.

Tabela 13 – Índice de Ki-67 nos diferentes grupos de neoplasias quanto à média, mediana, desvio padrão, valor mínimo e máximo - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

Neoplasia	N	Média ± DP*	Mínimo	Máximo
Epitelial	26	25,91 ± 17,51	0	59
Hematopoética	20	24,24 ± 20,57	0	65,6
Mesenquimal	16	24,47 ± 17,19	0	57

* DP= Desvio Padrão

A avaliação do grau de malignidade das neoplasias em relação ao tipo morfológico e o índice de Ki-67 resultou em diferença estatística nas neoplasias mesenquimais ($p=0,034$). A tabela 14 apresenta esse resultado.

Os animais com grau 3 de malignidade no grupo das neoplasias mesenquimais ($p= 0,034$) e hematopoéticas ($p=0,123$) apresentaram maior imunoexpressão do anticorpo Ki-67 em relação ao grau 2 e 1. Os tumores epiteliais classificados em grau 2 apresentaram maior imunoexpressão do anticorpo Ki-67, quando comparado com as neoplasias grau 1.

Tabela 14 - Imunoexpressão do anticorpo Ki-67 nos grupos de neoplasia graus de malignidade (%) – São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

KI-67	Grau 1	Grau 2	Grau 3	valor de p
Epitelial	23,57	35,72	0	0,128
Hematopoética	19,57	24,89	65	0,123
Mesenquimal	9,98	22,9	34,01	0,034

Os animais com metástases à distância apresentaram valores superiores de Ki-67 em relação aos animais sem metástases, porém a análise estatística não mostrou diferença ($p= 0,386$). O valor médio do Ki-67 nos animais com metástases foi $28,14 \pm 20\%$ e os animais sem metástases a média do Ki-67 foi $23,6 \pm 17\%$.

A avaliação do índice de Ki-67 em relação ao comprometimento linfonodal não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,724$). O valor médio do Ki-67 nos animais com metástases linfonodal foi $23,95 \pm 16\%$ e nos animais sem comprometimento linfonodal.

6.5 ANÁLISE DA SOBREVIDA

A sobrevida foi avaliada em 83% dos casos (52/62). Não foi possível estabelecer o período de sobrevivência em 10 casos (16%) devido à falta de informações no prontuário do animal. A distribuição dos animais quanto à sobrevida foi apresentada tabela 15.

Tabela 15 - Distribuição dos cães com neoplasias GI que foram à óbito e que estão vivos após o diagnóstico - São Paulo - jan. 1998 - dez. 2008

Evolução após diagnóstico	Número de cães	%
Óbito em 12 meses	37	60
Óbito após de 12 meses	11	18
Animais Vivos	4	6,50
Animais Sem informação	10	16
Total	62	100

Em relação ao período de sobrevida considerando todos os casos, 60% dos animais vieram a óbito nos primeiros 12 meses após o diagnóstico (37/62). Esse resultado foi exibido no gráfico 27.

Gráfico 27 - Curva de sobrevida dos cães com neoplasia GI - São Paulo - jan.1998 - dez.2008

A média de sobrevida dos animais do grupo das neoplasias epiteliais foi $13,9 \pm 14$ meses, hematopoéticas foi $11,2 \pm 16,1$ meses e mesenquimais foi $15 \pm 22,6$ meses. O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou maior tempo de sobrevida em relação aos demais grupos, porém não foi observado diferença estatisticamente significativa ($p= 0,738$) utilizando análise de variância e comparações múltiplas de Tukey. No gráfico 28 foram apresentadas as curvas de sobrevida por grupo de neoplasia.

Gráfico 28 - Sobrevida nos diferentes grupos de neoplasias – São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

No grupo das neoplasias epiteliais, as variáveis grau de malignidade (coeficiente de correlação de Spearman = -0,213 e $p = 0,412$), e metástases (coeficiente de correlação de Spearman = - 0,142 e $p = 0,587$), apresentaram correlação inversa com a sobrevida com valores próximo a zero, cujos resultados não foram estatisticamente significativos. Enquanto as variáveis tamanho (coeficiente de correlação de Spearman = 0,277 e $p = 0,283$), bem como os escores de PCNA (coeficiente de correlação de Spearman = 0,025 e $p = 0,932$) e escores de Ki-67 (coeficiente de correlação de Spearman = 0,024 e $p = 0,936$), apresentaram correlação positiva com a sobrevida com os valores próximo a zero, não sendo observado diferença estatisticamente significativa.

No grupo das neoplasias hematopoéticas o tamanho da neoplasia apresentou correlação com período de sobrevida (coeficiente de correlação de spearman = -0,486 e $p = 0,035$), enquanto as variáveis grau histológico de malignidade (coeficiente de correlação de spearman = - 0,148 e $p = 0,546$), e metástases (coeficiente de correlação de spearman = -0,010 e $p = 0,968$), mostraram correlação inversa com a sobrevida com valores próximos a zero, os resultados não foram estatisticamente significativos.

As variáveis infiltração neoplásica nos linfonodos regionais (coeficiente de correlação de spearman = 0,051 e $p = 0,799$), escores de PCNA (coeficiente de correlação de spearman = 0,178 e $p = 0,465$) e escore de Ki-67 (coeficiente de correlação de spearman = 0,049 e $p = 0,858$), apresentaram correlação positiva com a sobrevida, com os valores próximos a zero, não sendo observado diferença estatisticamente significativa.

No grupo das neoplasias mesenquimais as variáveis tamanho (coeficiente de correlação de spearman = -0,306 e $p = 0,249$), bem como o grau histológico de malignidade (coeficiente de correlação de spearman = -0,103 e $p = 0,703$) e os escores de Ki-67 mostraram correlação inversa com a sobrevida, com valores próximos a zero porém os resultados não foram estatisticamente significativos. Metástases (coeficiente de correlação de spearman = -0,285 e $p = 0,285$), escores de PCNA (coeficiente de correlação de spearman = 0,061 e $p = 0,823$) mostraram correlação positiva com a sobrevida com valores próximos a zero.

Os valores do grau de malignidade e escores de PCNA e Ki-67 em função da sobrevida estão expostos na tabela 16

Tabela 16 - Distribuição da sobrevida segundo o grau de malignidade nos diferentes grupo de neoplasias e a média, desvio padrão (DP) - São Paulo – jan. 1998 - dez. 2008

Graus malignidade	Sobrevida					
	Epitelial		Hematopoética		Mesenquimal	
	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*
1	13	14,5 ± 14,5	10	13,3 ± 13,2	5	19,1 ± 25,8
2	4	11,93 ± 16,9	8	9,3 ± 20,6	2	12,7
3	0	0	1	5	9	14,5 ± 24,7
Escores PCNA	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*
1	1	12	5	5,7 ± 10,8	2	30 ± 42,2
2	1	1	7	19 ± 22,4	3	2,3 ± 3,2
3	0	0	5	4,4 ± 3,1	2	21 ± 21
4	12	10 ± 11	2	12,6 ± 16,4	9	15,6 ± 23,4
Escores KI-67	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*	N	Média ± DP*
1	7	18 ± 17,9	10	10,5 ± 18,9	8	16,4 ± 22,6
2	6	13,6 ± 14,9	5	19,9 ± 13,2	1	12,1
3	4	7,1 ± 5	1	0,5	7	15,1 ± 26
4	0	0	3	2,3 ± 2,3	0	0

*DP=Desvio padrão

- Figura 1- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Infiltrado celular homogêneo acometendo a mucosa, submucosa e as camadas musculares. HE, 40 x.
- Figura 2- Fotomicrografia do jejuno cão de com linfoma. Células neoplásicas com núcleos redondos a ovalados e cromatina densa e citoplasma escasso. HE, 100 x.
- Figura 3- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos CD3 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 200 x
- Figura 4- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos PCNA +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x
- Figura 5- Fotomicrografia do jejuno de cão com linfoma. Imunomarcação para linfócitos Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 200x
- Figura 6- Fotomicrografia do reto de cão de com leiomioma. Células mesenquimais fusiformes arranjada em feixes multidirecionais. HE, 40 x.

Figura 7- Fotomicrografia de reto de cão com leiomioma. Células mesenquimais fusiformes com núcleos alongados, bordos e similares a charutos. HE, 100 x.

Figura 8- Fotomicrografia do jejuno de cão com leiomiossarcoma. Proliferação de células mesenquimais fusiformes com núcleos ovalados a alongados que se arranjam em feixes multidirecionais. HE, 100x

Figura 9- Fotomicrografia do jejuno de cão com leiomiossarcoma. Células com citoplasma eosinofílico apresentando limite citoplasmático pouco definido, exibindo, por vezes, vacuolização. O núcleo alongado com bordos retos.moderado pleomorfismo e cromatina frouxa e nucléolo, por vezes, conspícuo e grande. HE, 100 x

Figura 10- Fotomicrografia do jejuno de cão Leiomiossarcoma. Imunomarcação para células de músculo liso Actina de músculo liso +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400x

Figura 11- Fotomicrografia do íleo de cão com Osteossarcoma osteoblástico. Proliferação de células mesenquimais com diferenciação óssea HE, 100 x

Figura 12- Fotomicrografia do íleo de cão com Osteossarcoma osteoblástico. Produção de matriz osteóide parcialmente mineralizada entre células poligonais e alongadas HE, 200 x.

- Figura 13- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. Proliferação de células fusiformes arranjadas em feixes longos densamente celulares, HE, 40 x
- Figura 14- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. Células neoplásicas com citoplasma de limites pouco definidos, núcleo ovalado a alongado com nucléolo evidente, pleomorfismo nuclear elevado e, anisocariose e aumento da relação núcleo: citoplasma. HE, 100 x
- Figura 15- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. HE, 40 x. Imunomarcação para CD117 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x
- Figura 16- Fotomicrografia do jejuno de cão com Gist. HE, 40 x. Imunomarcação para vimentina +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x
- Figura 17- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. Proliferações de células alongadas a fusiformes com citoplasma basofílico conforme HE, 100 x
- Figura 18- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. As células neoplásicas estavam arranjadas em feixes curtos dispostos em diferentes direções e conferiram ao tumor aspecto multilobulado HE, 200 x

- Figura 19- Fotomicrografia do jejuno de cão com Sarcoma pouco diferenciado. Imunomarcção para vimentina +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x
- Figura 20- Fotomicrografia do estômago de cão com Adenocarcinoma de anel de sinete, Proliferação de células poligonais com núcleos ovalados a arredondados, hipercromáticos, deslocados para periferia e o citoplasma claro preenchido por mucina HE, 100x
- Figura 21- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos. Células neoplásicas basofílicas, dilatadas e preenchidas por muco. HE, 40 x
- Figura 22- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma tubular com cistos mucinoso. Adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos. Células neoplásicas basofílicas, dilatadas e preenchidas por muco, HE 100 x
- Figura 23- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma papilífero, HE 40 x
- Figura 24- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma papilífero, HE 100 x

Figura 25- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma papiilífero. Imunomarcção para Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x

Figura 26- Fotomicrografia do reto de cão com Adenocarcinoma sólido. As células neoplásicas poligonais, com citoplasma claro basofílico e núcleo ovalado com nucléolo evidente. HE, 100 X

Figura 27- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma tubular, HE, 100 X

Figura 28- Fotomicrografia do reto de cão com adenocarcinoma tubular. Imunomarcção para Ki-67 +. Estreptavidina-biotina-peroxidase contra corada por Hematoxilina de Harris. IHQ, 400 x

Figura 29- Fotomicrografia do reto cão com adenoma tubular, As células neoplásicas com discreta displasia caracterizada por células colunares ou cubóides, cujo núcleo é ovalado a arredondado com a cromatina homogênea ou granular e nucléolo inconspícuos. As células revestem as estruturas em monocamada e, em alguns focos, observava-se sobreposição nuclear. HE, 100x

7. DISCUSSÃO

Cada vez mais a gastroenterologia veterinária, especialmente as doenças oncológicas que acometem o trato gastrintestinal vem recebendo atenção especial por diversos autores. Entretanto, são poucos os estudos amplos e de associação e destacam-se os registros científicos veterinários que abordam somente questões específicas tais como aspectos clínicos e epidemiológicos, ou isoladamente estudos anatomopatológicos e imuno-histoquímicos das principais neoplasias gastrintestinais. No Brasil existe uma carência de registros e dados epidemiológicos sobre a incidência e prevalência das neoplasias gastrintestinais em cães o que torna premente o rastreamento e a caracterização dessas no nosso contexto.

Assim, as abordagens multidisciplinares envolvendo as informações epidemiológicas, clínico-laboratoriais, anatomopatológicos e imuno-histoquímicas possibilitam o reconhecimento dos principais fatores de risco, caracterização do comportamento biológico, do curso clínico, prognóstico e sobrevida dos cães portadores de neoplasias GI.

Devido aos poucos trabalhos multidisciplinares veterinários disponíveis na literatura, buscamos delinear as principais características dos cães com neoplasia GI em nosso meio.

Quais são as neoplasias gastrintestinais dos cães atendidos no HOVET-FMVZ-USP ?

Estudos com uma casuística numerosa permitem o reconhecimento e mapeamento dos principais fatores de risco, para assim estabelecer medidas preventivas e terapêuticas adequadas. O presente trabalho avaliou 62 animais portadores de neoplasias gastrintestinais com casuística semelhante ou superior a diversos estudos, o que valida assim os resultados encontrados (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; GREENLEE et al., 1990; LA ROCK; GINN, 1997; BETTINI; MORINI; MARCATO, 2003; CERIAEL et al., 2007).

A maioria das neoplasias primárias do TGI em cães é maligna e pouco freqüente quando comparadas às neoplasias de outros sistemas (GUILFORD; STROMBECK, 1996; LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005). Nossos achados estão em concordância

com a literatura, onde as neoplasias gastrintestinais malignas foram as mais comumente diagnosticadas correspondendo 92% dos casos, enquanto que as neoplasias benignas foram 8% . As principais neoplasias benignas observadas foram leiomioma e adenoma.

Bettini, Morini e Marcato (2003) avaliaram 105 neoplasias primárias do trato GI em cães e observaram que as neoplasias epiteliais são as mais comumente observadas em 48% dos casos, seguidos das neoplasias hematopoéticas, 36%, e as neoplasias mesenquimais, 16%. Resultados semelhantes foram observados no nosso estudo, no qual a distribuição das neoplasias foram 42% neoplasias epiteliais, 32% neoplasias hematopoéticas e 26% neoplasias mesenquimais. Os resultados confirmam que as neoplasias gastrintestinais epiteliais e hematopoéticas são mais comuns que as mesenquimais (GUILFORD; STROMBECK, 1996; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002).

Os linfomas e adenocarcinomas são as neoplasias mais comuns que acometem do trato gastrintestinal dos cães, caracterizados por nós e que está em concordância com outros autores (TRIOLO; LAPPIN, 2005). Outras neoplasias descritas que afetam o trato gastrintestinal são: mastocitoma, fibrossarcoma, leiomioma, leiomiossarcoma, carcinóides, plasmocitoma e GIST (TRIOLO; LAPPIN, 2005).

Embora se acreditasse que os linfomas gastrintestinais primários em cães eram em sua grande maioria de origem de células B, recentes trabalhos mostraram que 75% dos cães com linfoma gastrintestinal são de origem de células T podendo exibir epiteliotropismo (COYLE; STEINBERG, 2004). Em nosso trabalho, a distribuição das neoplasias hematopoéticas foi 75%, linfoma T, os quais somente um caso exibiu epiteliotropismo, e 20%, linfoma B e 5%, mastocitoma.

Linfoma alimentar em cães, em sua grande maioria, foi acompanhado por infiltrado linfoplasmocitário (COUTO et al., 1989). Linfomas alimentares caninos com imunofenótipo T exibindo epiteliotropismo foram sempre associados a quadros de enterites linfoplasmocitárias (FRENCH; SEITZ; VALLI, 1996).

Segundo Triolo e Lappin (2005), a inflamação linfoplasmocitária ocorre em conjunto com linfoma intestinal e a intensidade do infiltrado inflamatório pode ser moderada a grave e podem estar adjacentes ou ocasionalmente distantes do foco neoplásico em 53% dos animais com linfoma intestinal. A região juncional entre o tecido neoplásico e não neoplásico não é facilmente definido e, quase sempre, a mucosa inflamada se sobrepõe a um foco linfomatoso, o que pode dificultar o diagnóstico precoce da neoplasia. A intensidade do processo inflamatório nos segmentos adjacentes

a neoplasia observados neste estudo foi severo com predomínio linfoplasmocitário, em 100%, dos casos de linfomas do tipo T. Na nossa casuística, portanto, foi comum a observação de inflamação associada a linfoma T, o que pode auxiliar o patologista na ocasião do diagnóstico e seja indicativo da necessidade de fragmentos de diferentes segmentos do intestino além da necessária associação de outros métodos diagnósticos, como imuno-histoquímica, com o intuito de afastar ou confirmar a possibilidade de linfoma. Contudo, esta questão ainda está longe de ser resolvida, uma vez que para alguns autores a presença de inflamação nem sempre foi associada à presença de linfoma.

Breitschwerdt et al. (1982) sugeriu que a enterite linfoplasmocítica é uma fase pré-maligna do linfoma alimentar em cães Basenji. Em dois trabalhos que descreveram 37 casos de linfomas T com epiteliotropismo, não foi mencionado inflamação linfoplasmocítica concomitante (STEINBERG et al., 1995; COYLE; STEINBERG, 2004). Portanto, os autores concluíram que o infiltrado linfoplasmocítico pode nem sempre estar associado aos linfomas T.

A reação imuno-histoquímica é o único método confiável para diferenciar infiltrações linfocíticas e linfoplasmocíticas benignas (pseudolinfomatosas) dos linfomas alimentares (SARAGA; HURLIMANN; OZZELLO, 1981; KAHN, MIR, 1984).

O adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos foi observado por nós em 38,5%, dos casos dos animais com neoplasias epiteliais. O resultado está em concordância com a literatura, na qual as neoplasias epiteliais intestinais em cães são predominantemente adenocarcinoma tubular com alguma produção de mucina seja intracelular, extracelular ou com presença de cistos mucinosos (HEAD; CULLEN; DUBIELZIG, 2003).

Dentre as principais neoplasias mesenquimais descritas na literatura, os leiomiossarcomas e os GISTs foram os mais comumente relatados na literatura científica (BETINI; MORINI; MARCATO, 2003; COHEN; POST; WRIGHT, 2003; CERIÉL et al., 2007; RUSSEL et al., 2007). Nossos resultados foram similares aos observados por outros grupos de pesquisa e os principais diagnósticos morfológicos das neoplasias mesenquimais foram: sarcoma pouco diferenciado 25%, leiomiossarcoma 25%, e GIST 19%.

Durante muitas décadas os leiomiossarcomas foram considerados a neoplasia mesenquimal mais comum, compreendendo 10 a 30% de todas neoplasias gastrintestinais em cães (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; CHEN; PARRIS;

PARRIS, 1986; BRUECKER; WITHROW, 1988; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; COHEN; POST, 1999).

Recentemente, com a ampla utilização da técnica de imuno-histoquímica, as neoplasias gastrintestinais passaram por uma nova revisão do sistema de classificação, na qual os trabalhos mais recentes apontaram que o tumor estromal gastrintestinal (GIST) é a neoplasia mesenquimais mais comum do trato gastrintestinal de cães, enquanto o leiomiossarcoma passou a ser considerada a segunda neoplasia mais comumente observada (BETINI; MORINI; MARCATO, 2003; COHEN; POST; WRIGHT, 2003; CERIEL et al., 2007; RUSSEL et al., 2007).

Na literatura veterinária existe uma grande controvérsia em relação à nomenclatura e classificação dos GIST. Em estudos mais antigos alguns autores classificaram todas as neoplasias GI de origem mesenquimal incluindo os leiomiossarcomas como GIST (LA ROCK, GINN, 1997).

Em contrapartida, em seres humanos os GIST e os leiomiossarcomas são considerados entidades distintas baseados nos resultados da marcação imuno-histoquímica para o anticorpo CD117 (MIETTINEN; LASOTA, 200).

A partir destes trabalhos em seres humanos, foram realizados os primeiros trabalhos por autores veterinários a diferenciar e classificar os GIST em cães como uma neoplasia específica e única (BETTIN; MORINI; MARCATO, 2003; CERIEL et al., 2007; RUSSEL et al., 2007).

Dentre as neoplasias de origem mesenquimal, apenas os GISTS são positivos para o anticorpo CD117. As neoplasias que não apresentam imunoreatividade a este marcador podem ser classificadas como leiomiomas, leiomiossarcomas, schwannomas, neoplasias mesenquimal pouco diferenciada de acordo com os critérios imuno-histoquímicos próprios (BETTIN; MORINI; MARCATO, 2003, CERIEL et al., 2007, RUSSEL et al., 2007).

Um diagnóstico pouco freqüente observado neste estudo foi a ocorrência de dois (12,5%) casos de osteossarcoma osteoblástico, cuja localização observada foi no esôfago e jejuno. A ocorrência desta neoplasia neste trabalho, foi similar ao observado por outros autores que classificam os osteossarcomas extra-esqueléticos como uma neoplasia mesenquimal maligna pouco frequente podendo corresponder a 12,6% de todos os casos de osteossarcomas em cães (LAGENBACH et al., 1998).

Pardo et al. (1990) relataram um caso de osteossarcoma primário em jejuno de cão da raça Chow-Chow, no qual o comportamento foi extremamente agressivo

caracterizado por metástases no fígado, pâncreas, peritônio, pulmões, baço e linfonodos regionais. Os animais do presente estudo, não apresentaram metástases no momento do diagnóstico, entretanto apresentaram sobrevida média de 19 dias.

Outro diagnóstico observado pouco freqüente foi o mastocitoma intestinal. O único animal do presente estudo que apresentou mastocitoma apresentou sobrevida de 1 mês sendo que o neoplasma estava localizado no cólon. Os mastocitomas gastrintestinais são raros, sendo que as porções altas do trato gastrintestinal são os locais mais acometidos por mastocitoma e estão associados a um pobre prognóstico (TAKAHASHI et al., 2000; OZAKI et al., 2002).

Osteossarcoma intestinal e mastocitoma são incomuns e devem ser considerados entre os possíveis diagnósticos diferenciais de neoplasias GI em cães.

Durante o período de 1998 a 2008 os principais diagnósticos das neoplasias malignas dos cães atendidos Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo foram adenocarcinomas, linfomas, leiomiossarcomas, tumor estromal gastrintestinal, neoplasia mesenquimal pouco diferenciada, osteossarcomas, mastocitoma, hemangiossarcoma e dentre as neoplasias benignas os adenoas e leiomiomas foram os mais observados, cuja distribuição não difere dos principais centros de estudo e diagnóstico de neoplasias de pequenos animais.

Qual o perfil epidemiológico dos cães com neoplasias gastrintestinais ?

A incidência de neoplasias gastrintestinal aumenta em animais de meia idade e idosos, cuja média de idade é 09 anos (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; THEILEN; MADEWELL, 1987; KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1992; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998; HEAD; ELSE; DUBIELZIG, 2002; SOBRAL et al., 2009).

No que concerne a idade, todos os animais do estudo eram adultos com a média de idade de 9,1 anos. O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou a maior média de idade com 9,4 anos, enquanto os grupos das neoplasias epiteliais e hematopoéticas apresentaram idade inferior com média de 8,8 anos. Tais resultados também foram observados por outros autores (CHURCH; NEHLHAFF; PATNAIK,

1987; COUTO et al., 1989; KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1992; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

As neoplasias localizadas em intestino grosso ocorrem em animais com média de 8 anos para neoformações de origem epitelial e 11 anos para tumores de origem mesenquimal (VALERIUS et al., 1997; TER HAAR; VAN DER GAAG; KIRPENSTEIJN, 1998). Nossos resultados foram similares, no qual as neoformações de origem epitelial em intestino grosso ocorreram com média de 8,5 anos e as formações mesenquimais 11,5 anos.

Existem opiniões conflitantes na literatura em relação à predisposição sexual, porém alguns autores apontam a mesma incidência entre machos e fêmea (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

No presente estudo 58% dos cães portadores de neoplasias gastrintestinais eram machos. Segundo (HOLT; LUCKE, 1985, WOLF et al., 1997), os machos apresentam maior risco de desenvolverem neoplasias gastrintestinais quando comparado às fêmeas. Frost, Lasota e Miettinen (2003); Cohen, Post e Wright (2003) relataram que em 82% dos cães portadores de leiomioma e 76% dos cães com leiomiossarcomas gastrintestinal são machos. Adicionalmente 90% dos cães com linfoma alimentar e 65% dos cães adenocarcinomas são machos (CHURCH et al., 1987; COUTO et al., 1989). Entretanto, outros autores observaram em seu estudo que os adenomas gástricos são mais comuns nas fêmeas (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977). Em contrapartida em nosso estudo observamos que os três animais com adenomas eram machos, com a neoformação localizada no no reto.

Paolini et al. (2002) aponta que as fêmeas apresentam pior prognóstico com o período de sobrevida de 28 dias, enquanto os machos têm um período de sobrevida maior com média de 228 dias, porém estes achados não foram observados em outros estudos.

Nossos achados são similares aos observados por Paolini et al. (2002) no qual as fêmeas apresentaram menor tempo de sobrevida com média de $7,9 \pm 5$ meses enquanto os machos apresentaram sobrevida média de $19,6 \pm 11$ meses, porem tal achado não foi estatisticamente significativo ($p=0,231$).

Diversos autores apontam que os animais portadores de neoplasias gastrintestinais são de médio a grande porte com peso médio de 25 Kg (BRUECKER; WITHROW, 1998, LANGENBACH et al., 1998; SWANN; HOLT, 2002). O porte dos animais do presente estudo variou de cães de pequeno e médio porte em 75,8% (47/62)

dos casos, dentre os quais o peso variou de 3 kg a 65 kg com a média de $16,8 \pm 11,5$ kg (porte médio).

A literatura aponta que os cães de raça pura como West White Highland Terriers, Chow Chow, Collie, Staffordshire, Pastor Alemão, Maltês e Bull terrier são raças predispostas a desenvolver neoplasias gastrintestinais (HOLT; LUCKE, 1985; VALERIUS et al., 1997; WOLF et al., 1997). Em contraste a literatura, no presente estudo os animais sem raça definida foram os mais acometidos, seguida pelas raças Cocker, Pastor Alemão, Shar Pei, Poodle, Labrador, Buldog e Beagle. Em parte isso pode ser decorrente do perfil dos cães atendidos no HOVET-USP, localizado na região oeste da cidade de São Paulo e que atende principalmente cães sem raça definida.

Considera-se que algumas raças são predispostas a desenvolver tipos específicos de neoplasias. Na raça Collie observa-se o carcinoma com maior frequência, enquanto o Pastor Belga é predisposto ao adenocarcinoma mucinoso (SULLIVAN; LEE; FISCHER, 1987; FONDA; GUALTIERI; SCANZIANI, 1989; PENNINCK; MOORE.; GLIATTO, 1998). Raças miniaturas, especialmente os malteses apresentam aparentemente ter maior risco de desenvolver mastocitoma intestinal (OZAKI et al., 2002). Enquanto, Rottweiler e Beagles apresentam neoplasias mesenquimais com maior frequência, como o osteossarcoma extra-esquelético (LAGENBACH et al., 1998; KUNTZ et al., 1998).

Os cães da raça Pastor Alemão do presente estudo foram acometidos principalmente por neoplasias epiteliais e hematopoéticas, similar ao que é descrito na literatura. Assim, o Pastor Alemão é uma raça predisposta a desenvolver predominantemente linfomas e carcinomas no cólon e reto (HOLT; LUCKE, 1985; VALERIUS et al., 1997; WOLF et al., 1997). O único Rotweiler do estudo apresentou neoplasia mesenquimal, enquanto o Collie apresentou neoplasia epitelial. Tais achados são compatíveis com os resultados de outros autores (SULLIVAN; LEE; FISCHER, 1987; FONDA; GUALTIERI; SCANZIANI, 1989; PENNINCK; MOORE.; GLIATTO, 1998; LAGENBACH et al., 1998; KUNTZ et al., 1998).

Os cães SRD apresentaram com maior frequência neoplasias hematopoéticas em 50%, dos casos, seguido pelas neoplasias mesenquimais em 25%, e 21%, apresentaram neoplasias epiteliais.

No presente estudo, 50% dos animais foram alimentados com ração comercial, enquanto 35,5% foram alimentados com ração comercial associada à comida caseira e 12,9%, alimentados somente com comida caseira. Segundo a Associação Nacional dos

Fabricantes de Alimentos para Animais (ANAFAL, 2005), existe atualmente no país cerca de 21 milhões de cães com endereço fixo, a segunda maior população do planeta, atrás apenas dos Estados Unidos. Deste total, 34% recebem alimento industrializado.

A associação neoplasia GI e ingestão de alimentação específica não é clara, contudo nesse estudo animais com neoplasias epiteliais e hematopoéticas foram alimentados com ração comercial com maior frequência, enquanto a maior parte dos animais com neoplasias mesenquimais recebia como dieta ração comercial misturada à comida caseira. Considera-se que entre os muitos fatores prováveis associados com a etiologia do câncer, a dieta possa causar cerca de 20 a 30% de todos os cânceres na espécie humana. Pesquisas em cães que receberam alimentação caseira e apresentaram alta prevalência no desenvolvimento de displasias e neoplasias mamárias, devido à ingestão de carnes em especial de suínos (SOBRAL et al., 2009). Alimentos queimados, defumados, em conserva foram apontados como fatores de risco para as neoplasias de esôfago e estômago (SOBRAL et al., 2009).

Em seres humanos, dietas com alto teor de gordura relacionam-se à elevada incidência de neoplasias do intestino grosso, mama, próstata, endométrio e pâncreas (CASTRONOVO, 2003; RAGHAVAN; KNAPP; BONNEY, 2005; GUNTER; LEITZMANN, 2006; WEETH; FASCETTI; KASS, 2007). No presente estudo não foi possível realizar tal associação.

Adicionalmente, estudos experimentais apontaram que ratos expostos a carcinógeno químico e dieta gordurosa mostraram um aumento significativo de lesões pré-cancerosas no cólon, duas vezes maior que os animais com uma dieta padrão (GETER et al., 2004). Nos casos dos cães desconhecem-se os possíveis carcinógenos envolvidos com o desenvolvimento de câncer colorretal. Mas no homem, fatores como estresse oxidativo, déficit de metilação e desequilíbrio dos ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 estão ligados ao aumento do risco de desenvolvimento de câncer (CASTRONOVO, 2003; RAGHAVAN; KNAPP; BONNEY, 2005; GUNTER; LEITZMANN, 2006; WEETH; FASCETTI; KASS, 2007) e ainda, há evidências que a obesidade no ser humano influencie a gênese do câncer colorretal, no esôfago, pâncreas, vesícula biliar, mama, endométrio, ovário, cérvix, fígado, próstata e algumas neoplasias hematopoéticas (GIOVANNUCCI et al., 1995).

Assim, são necessários mais estudos prospectivos para afirmar que o emprego das rações comerciais e o uso de conservantes são realmente um fator de risco para o desenvolvimento das neoplasias gastrintestinais em cães. Todavia, o aumento da

causuística no câncer gastrointestinal pode estar associado ao fato da população geral, apresentar maior tempo de vida e maior exposição aos agentes carcinogênicos, como possivelmente presentes em dietas comerciais ou em ambientes poluídos.

Não existem estudos que associem ou afirmem que a poluição ambiental seja um dos fatores que participam na etiologia das neoplasias gastrintestinais em cães, entretanto sugere-se que os animais podem ser utilizados como indicadores de poluição ambiental na identificação de efeitos genotóxicos, decorrentes de vários tipos de poluentes (BACKER et al., 2001).

Um estudo recente avaliou os índices de poluição atmosférica nas diferentes regiões de São Paulo e o risco de desenvolvimento de neoplasias respiratórias em cães. A zona Leste e a zona Oeste apresentaram maior índice de material particulado atmosférico e os animais destas regiões apresentaram maior lesão de DNA no epitélio pulmonar em comparação com os cães da zona Sul (menor índice material particulado atmosférico) (KIMURA, 2006). Em nosso estudo 63% dos animais viviam na zona Oeste e zona Leste.

Os cães acometidos por neoplasia gastrointestinal no nosso contexto foram cães adultos com idade média de 9 anos, porte pequeno a médio, machos, com predominância da raça SRD que recebem dieta comercial.

Como suspeitar de neoplasias gastrintestinais a partir dos sinais e sintomas clínicos ?

Os principais sinais e sintomas clínicos de animais com neoplasias gastrintestinais descritos na literatura são: perda de peso, êmese, diarreia, prostração e anorexia (TRIOLO; LAPIN, 2005). Os sinais costumam ser progressivos e pouco responsivos à terapia sintomática (TRIOLO; LAPIN, 2005). Tais alterações clínicas também foram relatadas no nosso estudo.

Os sinais podem, entretanto, direcionar o clínico para uma região particular do trato gastrointestinal. Observamos no presente estudo que os animais que apresentaram anorexia, perda de peso, prostração e êmese em maior frequência, apresentaram comprometimento neoplásico nas porções altas do trato gastrointestinal, principalmente em esôfago, estômago, e intestino delgado o que está em concordância com a literatura, a qual aponta que êmese crônica, melena, perda de peso, anorexia, caquexia são os

principais sinais e sintomas clínicos observados em animais com neoplasia gástrica. Hematoêmese ocorre em mais de 50% dos cães com neoplasias gástricas e tal sintomatologia muitas vezes são decorrentes da ulceração da mucosa, hemorragia, estenose e quadros obstrutivos localizados no corpo gástrico e piloro (SAUTTER; HANLON 1975; DARGENT, 1999; LEIBMAN; GUALTIERI et al., 1999; EASTON, 2001; LARSON; OGILVIE, 2005).

Os animais com neoplasias localizadas em intestino delgado podem apresentar perda de peso, êmese, melena, distensão abdominal, prostração e anorexia (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1992; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998; COHEN; POST; WRIGHT, 2003). Êmese pode ser frequentemente associado a neoplasias localizadas em duodeno e jejuno, enquanto perda de peso e diarreia estão relacionadas principalmente em processos neoplásicos no jejuno e íleo (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; CERIEL, et al., 2007).

Observamos que os animais com disquesia e hematoquesia apresentaram neoplasias preferencialmente nos trechos finais do trato gastrointestinal, especificamente em transição íleo-ceco-cólica e toda porção do intestino grosso. As lesões neoplásicas em reto e válvula íleo-ceco-cólica foram responsáveis pela alta frequência de tenesmo e prolapso de reto. Esses resultados estão em concordância com a literatura específica (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; VALERIUS et al., 1997; LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005).

Anorexia, a depressão e letargia podem acompanhar neoplasias em qualquer localização do trato gastrointestinal como foi relatado nos casos estudados e também descritos na literatura (LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005).

Outros sinais e sintomas descritos na literatura são: ascite, dor abdominal e peritonite secundária a ruptura intestinal. Neoplasias mesenquimais como os leiomiomas, leiomiossarcomas e GIST costumam ser frequentemente localizados em ceco comprometendo toda sua camada, causando hematoquesia, obstrução e peritonite séptica consequência a ruptura intestinal (KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1991). Ceriel et al. (2007) observaram que animais com neoplasias localizadas em ceco apresentam maior chance de desenvolver ruptura intestinal ($p=0,002$) e peritonite séptica ($p=0,017$) em comparação a neoplasias em intestino delgado. Em 60% dos animais com neoplasias mesenquimais do presente estudo, apresentaram comprometimento neoplásico em todas camadas do trato gastrointestinal, localizados principalmente em

jejuno, entretanto neste grupo não foi observado ruptura intestinal e peritonite secundária.

Não houve diferença estatisticamente significativa na apresentação dos principais sintomas clínicos entre os grupos, entretanto os animais com neoplasias hematopoéticas apresentaram anorexia, êmese, perda de peso, diarreia, hematoquesia, disquesia, prolapso de reto, prostração e tenesmo com maior frequência quando comparado aos demais grupos. De forma similar já foi descrito por Couto et al. (1989) que avaliaram 20 animais com linfoma gastrintestinal e observaram prostração em 90%, (18/20), êmese, 85%, (17/20), anorexia, 70%, (14/20), diarreia, 65%, (13/20), perda de peso, 50%, (10/20) e tenesmo, 5%, (1/20) como as alterações clínicas mais frequentes.

Acreditamos que razão pela qual tais sinais e sintomas são os mais observados em animais com linfoma gastrintestinal se deve ao fato que 68,7% dos animais do grupo das neoplasias hematopoéticas apresentaram comprometimento neoplásico em todas as camadas do trato intestinal. Os linfomas alimentares podem apresentar como características anatomopatológicas um infiltrado difuso acometendo a lâmina própria e submucosa, podendo se estender ao lúmen, chegando até a serosa causando má absorção, perda de peso, esteatorreia e diarreia (COUTO et al., 1989). No intestino grosso a infiltração difusa da mucosa e ulceração leva os animais a terem quadros de diarreia, melena e hematoquesia (RICHTER, 1992). Outra característica anatomopatológica observada nos linfomas são as formas nodulares, onde ocorre um espessamento segmentar do intestino, mais frequentemente na região íleo-cecocolica causando estreitamento luminal e obstrução intestinal parcial (JONES; HUNT; KING, 2000).

Os sinais e sintomas clínicos nos forneceram pouca indicação em relação à origem histomorfológica da neoplasia e se caracterizam por serem alterações gastrintestinais, como êmese, diarreia, hematoêmese, hematoquesia e sintomatologia inespecíficas como anorexia e prostração. Contudo, a sintomatologia apresentada pelo animal foi diretamente correlacionada com a localização do neoplasma no trato gastrintestinal.

Como suspeitar de neoplasias gastrintestinais a partir de exames laboratoriais ?

As alterações laboratoriais dos animais com neoplasias gastrintestinais geralmente são secundárias a quadros obstrutivos, perda de sangue crônica, inflamação, má absorção e má digestão.

Anemia é a alteração laboratorial mais comum, acometendo 33% dos animais com neoplasias gastrintestinais, tal alteração é secundária a focos hemorrágicos dentro do lúmen intestinal e pela evolução e cronicidade da doença (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998). Estes animais geralmente desenvolvem anemia microcítica hipocrômica devido à perda sanguínea crônica (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998). No presente trabalho observamos que 32,3% dos animais estavam anêmicos, dos quais 50% eram portadores de neoplasias mesenquimais. A anemia mais frequente foi normocítica e normocrômica. Não houve relação estatisticamente significativa ($p=0,762$) entre a presença de hemorragia e anemia nos animais avaliados.

O grupo dos animais com neoplasias mesenquimais apresentaram valores inferiores do hematócrito e hemoglobina e valores superiores do número de leucócitos totais quando comparado aos demais grupos. O tipo de anemia observado neste grupo foi 50% anemia normocítica normocrômica e 50% anemia normocítica hipocrômica. Estes resultados são semelhantes aos observados por (RUSSEL et al., 2007) que avaliou 42 animais com neoplasias mesenquimais e constatou que 66,5% dos animais apresentam anemia, 47,5% leucocitose e 19% trombocitopenia. Em contrapartida 46,2% dos cães com neoplasias mesenquimais do presente estudo exibiram trombocitose com valores acima de 700.000 mm^3 .

Outros autores avaliaram o perfil laboratorial dos animais com neoplasias mesenquimais, e constataram que anemia está presente em 63,3% dos casos com hematócrito médio 19,9% (variação 13,7-33%), hipoglicemia em 54,4% concentração de glicose média 58.5mg/dL (variação 38-64mg/dL), leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda em 40%, hipoproteinemia, azotemia e aumento sérico da enzima fosfatase alcalina (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998; COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

A leucocitose está associada à ulceração da mucosa decorrente do quadro de bacteremia secundária à ulceração e necrose tumoral (COUTO et al., 1985). No presente

estudo os animais com ulceração apresentaram aumento do número de leucócitos totais quando comparado aos animais sem ulceração, porém tal resultado não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Nos casos que se observa diminuição do número de neutrófilos, leucocitose com desvio à esquerda, neutrófilos degenerativos ou neturófilos tóxicos podem ser indicativos de ruptura intestinal, especialmente nos animais com leiomiomas (COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

Hipoalbuminemia foi observada principalmente no grupo das neoplasias mesenquimais em 28,5% dos casos porém não foi observado diferença estatística. Na literatura as principais anormalidades bioquímicas dos animais com neoplasias mesenquimais incluem hipoproteïnemia devido à perda proteica gastrointestinal ou diminuição da síntese de proteína devido à falência hepática por infiltração neoplásica ou sepse (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998; COHEN; POST; WRIGHT, 2003).

No grupo das neoplasias hematopoéticas 66% apresentaram anemia normocítica normocrômica, 33,3% anemia microcítica hipocrômica e 45,5% trombocitopenia. Não foram observadas outras alterações hematológicas nos animais com neoplasias hematopoéticas, embora estes pacientes possam desenvolver anemia de leve à moderada, decorrente da liberação de fatores neoplásicos que deprimem a eritropoese ou devido a infiltração neoplásica da medula óssea. Outras formas de anemia são também descritas, dentre elas: anemia hemolítica auto-imune, anemia hemorrágica e anemia das doenças crônicas (FIGHERA, 2001). Hipereosinofilia periférica foi recentemente descrito como um achado laboratorial em cães e seres humanos com linfoma intestinal do tipo T (MARCHETTI et al., 2000). Hipereosinofilia pode ser a primeira indicação da presença ou evolução de um quadro neoplásico maligno, todavia em alguns casos a doença pode aparecer anos após o reconhecimento inicial da eosinofilia (MARCHETTI et al., 2000).

Os valores médios de creatinina foram superiores nos animais do grupo das neoplasias hematopoéticas, embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa em comparação aos demais grupos. Este aumento do valor médio de creatinina pode estar associado à hipercalcemia e hipercalcúria presentes na síndrome paraneoplásica gerando disfunção tubular renal e urolitíase já descrita nessas neoplasias (MEUTEN; ARMSTRONG, 1992).

Segundo (COUTO et al., 1998) animais com neoplasias hematopoéticas apresentam aumento das aminotransferases hepáticas em 30% dos casos, tal fato se deve

a infiltração neoplásica no fígado. Em nosso estudo observamos que os animais do grupo da neoplasia hematopoética apresentou os maiores níveis de ALT em 73,3% e fosfatase alcalina em 38,4% quando comparado aos demais grupos. Hiperbilirrubinemia, hipoproteinemia, hipocolesterolemia e hipoalbuminemia são outras alterações freqüentemente listadas em animais com linfoma alimentar (COUTO et al., 1998).

Os achados laboratoriais no grupo dos animais com neoplasias epiteliais gastrintestinais foram inespecíficos, mas o aumento de uréia pode ser secundário ao quadro de azotemia pré-renal decorrente da desidratação. No grupo dos animais com neoplasias epiteliais 75% apresentaram anêmica normocítica normocrômica, enquanto 25% anemia microcítica hipocrômica.

Os adenocarcinomas são invasivos localmente e de crescimento lento e ocorrem primariamente em pacientes idosos e podem ter características infiltrativas, podendo desenvolver hipocloridemia, hipocalemia, hiponatremia e alcalose metabólica decorrente de quadros de êmese e diarreia profusos (STEVE; CROW; 1985; RIVERS; WALTER; JOHNSTON, 1997).

Os achados hematológicos e bioquímicos nos cães com neoplasias gastrintestinais foram similares aos observados na literatura, entretanto não houve nenhum exame laboratorial específico que caracterize a existência ou a evolução de uma neoplasia gastrintestinal no cão.

A localização e o tamanho das neoplasias podem auxiliar no diagnóstico ?

O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou o maior tamanho de tumor com média de 7 cm e estavam principalmente localizadas no jejuno em 37% dos casos. Nossos achados foram similares a literatura a qual caracteriza as neoplasias mesenquimais como freqüentemente localizadas no jejuno e ceco e por serem grandes formações irregulares que variam de 2,5 cm a 30 cm de diâmetro comprometendo principalmente a camada muscular e mucosa (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; BRUECKER; WITHROW, 1987; JASS; SOBIN, 1989; PARDO et al., 1990; KAPATKIN; MULLEN; MATTHISEN, 1992; LANGENBACH et al., 1998; MIETTINE; LASOTA, 2000; COHEN; POST; WRIGHT, 2003; CERIEL et al., 2007; RUSSEL et al., 2007).

No grupo dos animais com neoplasias epiteliais, 63,5% das neoplasias estavam localizadas no reto e 13% no duodeno, sendo estes achados similares aos observados na literatura (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1977; PATNAIK, HURVITZ; JOHNSON, 1980; HOLT; LUCKY, 1985; LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2005; BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; GIBBS; PEARSON, 1986; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998) A localização primária das neoplasias do intestino delgado pode ser variada. Os carcinomas primários acometem principalmente jejuno e íleo terminal, enquanto, na maioria das vezes, as neoplasias do duodeno são secundárias a infiltração de neoplasias localizadas em pâncreas, ducto biliar e fígado (STEVEN; CROW, 1985; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998; GIBBS; PEARSON, 2008; DALECK et al., 2009).

Holt e Lucky (1985) observaram que os tamanhos das neoformações epiteliais no reto podem variar de 0,8 cm a 7 cm com média de 3 cm. Estes achados são similares aos observados no presente estudo, no qual o grupo das neoplasias epiteliais foi o que apresentou menor tamanho com média de 3,2 cm.

O linfoma alimentar pode ocorrer em qualquer local do trato gastrointestinal (GUILFORD; STROMBECK, 1996). No grupo dos animais com neoplasias hematopoéticas o reto foi o principal local observado em 40% dos nossos casos.

Coyle, Steinberg, (2004) avaliaram 44 cães com linfoma alimentar e observou que 29 animais apresentam comprometimento neoplásico em intestino delgado, 18 animais em estômago e apenas seis tinham neoplasias em intestino grosso. Couto et al. (1989) avaliaram a localização primária de 15 animais com linfoma alimentar e constatou que o intestino delgado e o estômago foram os principais locais acometidos, diferindo dos nossos resultados.

O conhecimento do tamanho e localização das neoplasias gastrintestinais é de suma importância para que médico veterinário possa adotar condutas terapêuticas prévias. Por exemplo, o cirurgião ao se deparar com um animal SRD, apresentando diarreia crônica, espessamento segmentar importante em jejuno, com aumento significativo do linfonodo mesentérico e da cadeias sub-lombar durante uma consulta e possuindo o conhecimento das principais características clínicas e macroscópicas das neoplasias gastrintestinais nos cães, não deveria indicar intervenção cirúrgica imediata neste paciente, pois este animal apresenta grande possibilidade de ter uma neoplasia hematopoética e a confirmação do diagnóstico pode ser realizado por meio menos invasivo. Destaca-se que com exceção dos linfomas alimentares, a ressecção cirúrgica é

o tratamento de escolha para o tratamento das neoplasias mesenquimais e epiteliais (PHILIPS, 2001). Neste ponto, ainda se ressalta que a mortalidade no período pós-operatório dos linfomas ocorre em 30 a 50% dos casos, devido a peritonite, sepse e eutanásia durante o trans-cirúrgico devido a impossibilidade de ressecção cirúrgica do neoplasma, e nestas condições a quimioterapia é o tratamento de escolha (PHILIPS, 2001).

Neste sentido, a identificação da localização do tumor gastrointestinal aliado a caracterização do tamanho podem auxiliar no diagnóstico e melhor indicação do tratamento de uma neoplasia gastrointestinal em cães

Quais são os fatores anatomopatológicos que interferem na sobrevida dos cães portadores de neoplasias gastrintestinais ?

Cerca de 60% dos animais com neoplasias gastrintestinais do presente estudo vieram a óbito nos primeiros 12 meses após o diagnóstico inicial e tratamento instituído.

Resultados semelhantes foram observados por outros autores que avaliaram a sobrevida dos cães com neoplasias gastrintestinais, e encontraram sobrevida média de 12 meses (BRUECKER; WITHROW, 1988; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; COHEN; POST; WRIGHT, 2003). Segundo relato de literatura 40% dos cães com neoplasias intestinais apresentaram 1 ano de sobrevida média (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

O grupo das neoplasias mesenquimais foi o que apresentou maior tempo de sobrevida em relação aos demais grupos porém não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p= 0,738$). A sobrevida média foi $15 \pm 22,6$ meses. Segundo alguns autores, as neoplasias mesenquimais estão associadas a prognósticos favoráveis com sobrevida média de 12 a 21,3 meses (COHEN; POST; WRIGHT, 2003; HAAR; VAN DER GAAG; KIRPENSTEIJN, 1998).

Animais com leiomiossarcomas apresentaram período de sobrevida longo, o qual pode variar de 1,1 anos a 2 anos (COHEN; POST; WRIGHT, 2003; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992). Os quatro casos de leiomiossarcomas estudados por nós apresentaram sobrevida média de 30 meses.

Estudos avaliando comportamento das principais neoplasias mesenquimais em seres humanos constataram que a agressividade do tumor pode estar muitas vezes relacionada ao tamanho do neoplasma. Formações maiores têm prognóstico reservado, enquanto as lesões menores apresentam melhor evolução e melhores índices de sobrevivência (LEE, 1983).

Em seres humanos, as neoplasias mesenquimais com tamanho maior que 5 cm podem apresentar comportamento maligno e metástases com frequência, mesmo quando exibem números reduzidos de mitoses por campo (MIETTINEN; SARLOMORIKALA; LASOTA, 1998; FLETCHER, BERMAN, CORLESS, 2003).

Em cães, o diâmetro da neoformação é uma importante variável no que diz respeito ao prognóstico, corroborando com os achados na literatura humana, nas quais formações grandes combinadas com elevado índice mitótico são os indicadores prognósticos desfavoráveis apontado menor período de sobrevivência (FLETCHER; BERMAN; CORLESS, 2003; CERIEL et al., 2007). Em nosso estudo não foi observado diferença estatisticamente significativa em relação à variável tamanho do neoplasma e a sobrevida em nenhum grupo de neoplasia.

Outros estudos veterinários também não viram relação entre tamanho do neoplasma e sobrevida. Lagenbach et al. (1998) apontaram que animais com neoplasias menores que 5 cm apresentam período médio de sobrevida de 93 dias, neoplasias com 5-15 cm sobrevida de 240 dias e formações maiores que 15 cm tem alta taxa de mortalidade no momento do diagnóstico.

As neoplasias mesenquimais em cães costumam apresentar índices mitóticos elevados e extensas áreas de necrose. Frost, Lasota, e Miettinen (2003) observaram que 65% dos animais com neoplasias mesenquimais apresentaram 1 a 19 mitoses em 10 campos de 400x e 43% apresentaram áreas de necrose por coagulação. Em 50% dos animais com neoplasias mesenquimais do presente estudo foram constatadas elevado índice mitótico, focos extensos de necrose e pouca diferenciação tecidual e, assim, foram classificados como grau 3 dentro dos critérios de malignidade pré estabelecidos.

Mesmo com critérios morfológicos desfavoráveis os animais classificados com neoplasias com grau 3 de malignidade apresentaram período de sobrevida superior em relação aos animais com graus inferiores com média de $15,2 \pm 22,6$ meses, com a mediana igual a 5 meses.

Em seres humanos, a presença de necrose na neoformação determina pior prognóstico quando comparado às lesões que não apresentam áreas de necrose, com

redução significativa da sobrevivência demonstrada por diversos autores (LEE, 1983; FARRUGIA et al., 1992; LINDSAY et al., 1981). Outros parâmetros adotados para mensurar a sobrevida pós-operatória de pacientes humanos é o índice mitótico. Pacientes com LMS e baixo índice mitótico apresentaram sobrevida média de 98 meses, em contrapartida pacientes com alto índice tem média de 25 meses de sobrevida (OWEN, 1980).

A presença de células epitelióides nas neoplasias mesenquimais de células fusiformes nos cães também mostrou ser um fator que influencia a evolução clínica destas neoplasias, sendo que a proporção elevada de células epitelióides em relação às fusiformes determina um comportamento maligno (FARRUGIA et al., 1992; MIETTINEN; SARLOMO-RIKALA; LASOTA, 1998). Em nosso estudo não foi observado em nenhum caso a presença de células epitelióides e, portanto, não foi um fator considerado para analisar a sobrevida.

A profundidade da lesão em relação ao comprometimento da parede do segmento de intestino também está diretamente relacionada ao prognóstico da doença, sendo que quando há invasão da serosa, observa-se significativa redução nos índices de sobrevivência em 5 anos para os seres humanos (LEE, 1983; FARRUGIA et al., 1992).

As neoplasias mesenquimais em cães costumam apresentar comportamento agressivo localmente e são mais propensos a resultar morte no período peri-operatório, decorrente da invasão da serosa e consequentemente perfuração da parede gastrointestinal, peritonite e sepse, porém quando são ressecados com margens limpas apresentam melhor prognóstico em longo prazo (RUSSEL et al., 2007).

Nos animais do presente estudo 60 % apresentaram comprometimento em todas as camadas do trato gastrointestinal, porém não foi observada correlação estatística entre comprometimento neoplásico das camadas com ruptura intestinal, peritonite e diminuição do período de sobrevida.

A localização das neoplasias é outro fator que influencia a sobrevida. Cohen, Post e Wright (2003) relataram que a sobrevida de animais com neoplasia mesenquimal com origem de musculatura lisa localizada no ceco apresentam menor tempo de sobrevida, cuja média foi 7,5 meses, quando comparada às neoplasias localizadas no estômago, jejuno e duodeno, nos quais o período de sobrevida foi 1,1 anos (KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992). Ceriel et al. (2007) observaram que animais com neoplasias localizadas no ceco apresentaram maior chance de desenvolver

ruptura intestinal e peritonite séptica em comparação às neoplasias no intestino delgado, de modo que estes animais apresentaram sobrevida inferior.

Um dos resultados mais interessantes do nosso estudo foi que apesar das neoplasias mesenquimais apresentaram maior tamanho, grau 3 de malignidade histológica e elevados índices de proliferação celular (Ki-67 e PCNA), não apresentaram menor sobrevida. Tal resultado está associado ao fato de cães com neoplasias cuja morfologia é muito agressiva podem apresentar longo período de sobrevida no caso da excisão cirúrgica ser completa independente do diagnóstico morfológico do neoplasma (CERIEL et al., 2007). Em nosso estudo não foi possível obter informações a respeito da macroscopia e avaliação das margens cirúrgicas, e compara-lá com a sobrevida mas consideramos que possivelmente estas estivessem livres e com isso influenciaram no período de sobrevida observado.

A média de sobrevida dos animais do grupo das neoplasias epiteliais foi $13,9 \pm 14$ meses. Tal resultado foi similar ao observado na literatura, que pontua a sobrevida dos animais com neoplasias gastrintestinais epiteliais variando entre 0 e 10 meses (SWANN; HOLT, 2002). Bichard, Couto e Johnson (1986) relataram que animais com neoplasias epiteliais apresentaram menor tempo de sobrevida quando comparado às neoplasias mesenquimais. Estes autores observaram que animais submetidos à excisão cirúrgica de carcinomas localizados no intestino delgado apresentaram sobrevida média de 55 dias, enquanto animais com leiomiossarcomas foi 182 dias. Crawshaw, Berg e Sardinas (1998) observaram que cães com adenocarcinoma, o tempo médio de sobrevida foi 10 meses, enquanto cães com leiomiossarcoma, o tempo médio de sobrevida foi 12 meses. Wolf et al. (1997) observou que a sobrevida média para cães com adenocarcinoma colorretal foi 15 meses sem tratamento, enquanto os animais que foram submetidos ao tratamento cirúrgico apresentaram sobrevida adicional de 7 a 9 meses.

No nosso estudo, o grupo das neoplasias epiteliais foi o que apresentou menor tamanho em média (3 cm) e 80,8% dos casos foram classificados como grau 1 dentro os critérios de malignidade histológicos. Tais achados anatomopatológicos, como neoplasia pequena aliada aos critérios histopatológicos favoráveis deveriam ser fatores associados ao melhor prognóstico e sobrevida maior. O comportamento e sobrevida das neoplasias epiteliais malignas parecem estar correlacionados não com suas características histológicas mais sim com sua localização, comportamento local, características macroscópicas e grau de invasão tecidual adjacente e, portanto, das margens cirúrgicas livres ou não.

O grau de invasão tecidual é também um importante fator prognóstico. Animais que tiveram diagnóstico clínico precoce e foram submetidos prontamente ao tratamento médico e cirúrgico, puderam em 40 a 60% dos casos não apresentar recidiva e essa condição foi associada à maior sobrevida (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998).

Em seres humanos a presença de bordas tumorais infiltradas vem sendo reportada como fator independente de mal prognóstico e de predileção de metástases hepáticas (UENO; MURPHY; JASS, 2002). A sobrevida em 5 anos, para pacientes com carcinoma colorretal, quando não existe infiltração nos tecidos adjacentes é 87%, porém quando existe cai para 50% (UENO; MURPHY; JASS, 2002). A infiltração do tumor além da camada muscular da mucosa aumenta 8,9 vezes a chance de desenvolver metástases hepáticas, além de conferir sobrevida menor (COMPTON, 2006).

Em nosso estudo não foi possível obter informações a respeito da macroscopia e avaliação das margens cirúrgicas, e a associação com a sobrevida e o prognóstico. Como se trata de um trabalho retrospectivo dos últimos 10 anos, muitas vezes as informações encontravam-se incompletas nos prontuários médicos e laudos referentes às características macroscópicas além da ausência dos blocos de parafina que avaliaram as margens cirúrgicas. Neste contexto, ressaltamos ao patologista e ao cirurgião a importância da avaliação destes critérios associados às características anatomopatológicas e clínicas para traçar um melhor prognóstico e a melhor conduta médica. Aproximadamente 42,7% dos animais com de neoplasias epiteliais do presente estudo apresentou comprometimento neoplásico principalmente da camada muscular e ulceração da mucosa, acarretando comprometimento mural e estenose. As neoplasias gastrintestinais epiteliais malignas em cães se caracterizaram por serem altamente invasivas localmente, apresentaram crescimento lento e podem estar em estágios muito avançado para ressecção cirúrgica com sucesso. Existem três padrões de comprometimento local descritos para os adenocarcinomas colorretais e cada um com prognóstico distinto: cães com carcinomas anulares colorretais têm um período de sobrevida muito mais curto de 1,6 meses, em comparação com cães que têm um único e pedunculado tumor polipóide nesta localização cuja sobrevida é 32 meses (CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK, 1987; BRODEY et al., 2006). Neoplasias que se distribuem em múltiplos nódulos pela mucosa apresentaram 12 meses de sobrevida média (CHURCH; MEHLHAFF; PATNAIK, 1987; BRODEY et al., 2006).

Estudo mostrou que cães com adenoma e carcinoma *in situ* localizados no retoapresentaram longo período de sobrevida, quando comparado aos carcinomas invasivos (WOLF et al., 1997). Animais com neoplasias colorretais e margens cirúrgicas limpas podem apresentar sobrevida média de 20,6 meses, enquanto animais com margens comprometidas apresentaram sobrevida média de 15 meses (WOLF et al., 1997).

Outro comportamento desfavorável relatado nas neoplasias epiteliais, que pode estar relacionado ao curto período de sobrevida, é a transformação maligna de lesões benignas como os pólipos adenomatosos para formas mais agressivas como carcinomas *in situ* ou carcinomas invasivos. Valerius et al. (1997) avaliaram 34 pólipos adenomatosos no cólon e reto de cães e observaram que 18% destes animais apresentaram esta progressão maligna, embora sejam desconhecidos os mecanismos desta progressão.

O linfoma constitui aproximadamente 90% das neoplasias hematopoéticas descritas nos cães de forma geral (SOBRAL, 2009). No nosso estudo 95% dos animais com neoplasias hematopoéticas GI foram linfomas.

O tempo de sobrevida dos animais com linfoma é variável. Diversos autores apontam sobrevida média de 250 a 300 dias (COTTER, 1983; CARTER; HARRIS; WITHROW, 1987; ROSENTHAL; MACEWEN, 1990; TESKE et al., 1990). Em nosso estudo o grupo das neoplasias hematopoéticas apresentou sobrevida média de $11,2 \pm 16,1$ meses, sendo este resultado similar ao observado na literatura. Geralmente, os seguintes fatores são considerados indicadores prognósticos nos cães portadores de linfoma: localização anatômica, imunofenotipo, resposta inicial à quimioterapia e presença de hipercalemia (SOBRAL, 2009).

Os linfomas mediastinais, linfomas cutâneos e linfomas alimentares estão relacionados com pior prognóstico, menor taxa de remissão e menor sobrevida (VAIL et al., 2001).

Considera-se difícil prever o comportamento dos linfomas caninos baseado apenas na histomorfologia. Os cães apresentam, com maior frequência, linfomas de médio e alto grau, independente do sistema de classificação histológica empregado (KIUPEL; TESKE; BOSTOCK, 1999).

Observamos que 52,6% (10/19) dos linfomas foram de baixo grau, e 38,8% (7/19) grau intermediário através da classificação Working Formulation (1982). No nosso estudo, além disto, cerca de 50% dos cães foram classificadas como grau 1 de

malignidade histológica, nos quais 17 casos (17/19) apresentaram baixo índice mitótico o qual variou de 0 a 9 figuras mitóticas/ campo de 400x e em 11 casos foram observadas extensas áreas de necrose.

Geralmente, cães com linfoma de baixo grau ou indolentes vivem por mais tempo. Já, os linfomas de alto grau de malignidade, que costumam apresentar menor período de sobrevida (LUCAS, 2000).

Estudos revelaram que a sobrevida dos animais acometidos por linfomas gastrintestinais de células T é menor devido ao comportamento clínico mais agressivo em comparação as neoplasias de células B (FISHER; NAYADAN; WERNER, 1995; GREENLEE et al., 1990; KIUPEL; TESKE; BOSTOCK, 1999). Aproximadamente 75% dos casos de linfomas avaliados por nós foram imunofenótipo T e com apresentação difusa. O linfoma intestinal difuso sustenta um pior prognóstico quando comparado às formações nodulares (LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2006).

Observamos no presente estudo que o tamanho da neoplasia apresentou correlação com período de sobrevida. O prognóstico de cães com diagnóstico de linfoma é sempre reservado. O estadiamento clínico é essencial para se estabelecer o prognóstico de um cão, além do mais as classificações cito-histológicas utilizadas também são de grande importância prognóstica, visto que os diferentes tipos de linfoma apresentam comportamento, por vezes, distinto, podendo influenciar o prognóstico e a escolha e terapêutica. Outros fatores que influenciam a sobrevida dos cães portadores de linfoma alimentar são a localização, imunofenótipo e comprometimento difuso dos múltiplos segmentos do trato gastrintestinal. Nenhum destes pode ser excluído da avaliação e todos devem ser avaliados conjuntamente quando se desejam caracterizar o prognóstico e a sobrevida destes cães.

A presença de metástases à distância e linfonodal definem o prognóstico das neoplasias gastrintestinal em cães ?

As neoplasias gastrintestinais em cães costumam apresentar metástases intra-abdominais (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998). Observamos que 23,5% dos casos estudados apresentaram metástases à distância, enquanto 36,5% dos casos apresentaram metástases nos linfonodos regionais.

O tempo de sobrevida dos cães com neoplasias gastrintestinais é variável, a presença ou ausência de metástases é um fator importante para determinação do prognóstico. Ausência de metástases está associada a maior sobrevida de cães com neoplasia gastrintestinal (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Metástases são consideradas um importante fator prognóstico para cães com adenocarcinoma intestinal. Cães com doença metastática apresentaram sobrevida média de 3 meses, com taxa de sobrevivência em 1 ano de 20% dos casos. Enquanto, os animais que não apresentaram metástases tiveram sobrevida média de 15 meses, com taxa de sobrevivência em 1 ano de 66,7% (CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Metástases são observadas em 43,5% das neoplasias epiteliais. Os sítios mais comuns para a ocorrência de metástases incluem os linfonodos regionais (duodenal, mesentérico e colônico) e o fígado. Infiltração transcolônica e metástases à distância para pulmão, pele, baço, ossos, útero, ovários, testículos e rins já foram relatadas nos cães (SOBRAL et al., 2009).

A frequência de metástases abdominais em fígado, mesentério, aliado a metástases nos linfonodos regionais em animais com neoplasias epiteliais excedem 58% dos casos (PATNAIK; HURVITZ; JOHNSON, 1980; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Segundo vários autores, o linfonodo mesentérico é o principal sítio metastático, acometendo 50% dos animais com adenocarcinomas, enquanto nos animais com leiomiossarcomas observa-se metástase principalmente no fígado e linfonodo mesentérico (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Em seres humanos a frequência de metástases nos linfonodos regionais é alta, correspondendo a 77% dos casos de pacientes com adenocarcinomas no duodeno, enquanto que menos de 15% dos pacientes com leiomiossarcomas apresentaram

comprometimento linfonodal (COIT, 1993). A principal causa na falha no tratamento de pacientes humanos com leiomiossarcoma são metástases hepáticas e peritoneal (EH; POLLACK; ROMSDAHL, 1992).

Em nosso estudo, não observamos correlação estatisticamente significativa entre metástases e período de sobrevida nas neoplasias epiteliais. O fígado e o linfonodo mesentérico foram os principais sítios metastáticos observados nos animais com neoplasias epiteliais sendo estes achados similares aos descritos na literatura.

No momento do diagnóstico, 16 a 37,5% dos cães com neoplasias mesenquimais têm metástase intra-abdominal e destaca-se que o fígado, peritônio, mesentério e o linfonodo mesentérico são os locais mais acometidos descritos na literatura (BICHARD; COUTO; JOHNSON, 1986; GIBBS; PEARSON, 1986; KAPATKIN; MULLEN; MATTHIESEN, 1992; BRUECKER; WITHOW, 1998; CRAWSHAW; BERG; SARDINAS, 1998).

Nossos resultados foram semelhantes aos observados pela literatura, no qual 25%, animais com neoplasias mesenquimais apresentaram metástases à distância e infiltração neoplásica nos linfonodos regionais. Os locais mais comumente observados foram: linfonodos mesentérico e ilíacos, e o baço.

Os animais com neoplasias hematopoéticas foi o grupo que mais apresentou comprometimento à distância em 35%, (7/20), e infiltração nos linfonodos regionais em 65%, (13/20), e menor período de sobrevida, sendo o fígado e o linfonodo mesentérico os principais sítios comprometidos.

A razão pela qual as neoplasias hematopoéticas apresentarem com maior frequência comprometimento dos linfonodos regionais e de órgãos à distância se deve ao fato que o linfoma foi o principal diagnóstico morfológico observado. O linfoma embora possa ser diagnosticado em qualquer segmento do trato gastrointestinal, está geralmente associado com a doença sistêmica multicêntrica (LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2006). Em um estudo com 144 cães com linfoma multicêntrico, 6,9% tinham envolvimento gastrointestinal (LEIBMAN; LARSON; OGILVIE, 2006).

O fator mais importante relacionado ao aumento da sobrevida dos pacientes com neoplasias gastrointestinais epiteliais e mesenquimais é o alcance de margens cirúrgicas livres de células neoplásicas e ausência de metástases (SOBRAL et al., 2009).

O acometimento de linfonodos e metástase à distância foram observados nos três tipos morfológicos de neoplasia gastrointestinal nos cães, mas os animais que exibiram esse comprometimento não apresentaram menor sobrevida.

O índice de proliferação celular é uma importante ferramenta na determinação do prognóstico das neoplasias gastrintestinais ?

Inúmeros trabalhos correlacionaram aumento da taxa de proliferação celular com fatores prognósticos diversos. O presente estudo é o primeiro a associar índice de proliferação celular utilizando PCNA e Ki-67 na avaliação do prognóstico de neoplasias gastrintestinais de cães. Pesquisas em seres humanos apontaram que o índice de proliferação celular ainda têm resultados divergentes na literatura na comparação entre as amostras de carcinomas colorretais primários e suas respectivas metástases. Oshima et al., (2005) encontraram correlação entre a menor sobrevida e o aumento do índice proliferativo em 89 carcinomas colorretais em seres humanos. Kaneko et al. (2007) estudaram 214 carcinomas colorretais que infiltravam a submucosa e encontraram associação entre a elevada imuno-expressão do anticorpo Ki-67 e a presença de metástase linfonodal. Allegra et al. (2003) estudaram o valor prognóstico da imuno-expressão do Ki-67 em 291 carcinomas colorretais em humanos e encontraram maior sobrevida nos pacientes que tinham tumores com elevados índices de Ki-67.

Palmqvist et al. (1999) estudando a proliferação celular na margem tumoral infiltrada de 56 carcinomas colorretais de pacientes humanos encontraram associação entre a presença de baixa proliferação tumoral com pior prognóstico. De forma não esperada, também já foram publicados trabalhos nos quais a taxa de proliferação celular não foi correlacionada com fatores prognósticos favoráveis ou desfavoráveis. Hoos et al. (2002) estudaram 100 neoplasias retais e não encontraram associação entre a taxa de proliferação celular e recorrência tumoral e menor sobrevida em pacientes humanos.

Nas neoplasias mamárias em cães foi observado aumento de PCNA e Ki-67 principalmente nas neoplasias benignas e displasias mamárias (PEÑA et al., 1998). Já nos casos de animais com neoplasias mamárias malignas os índices de PCNA e KI-67 apresentaram correlação positiva com o grau histológico, porém o aumento dos valores de imuno-expressão de PCNA não apresentou correlação com a presença de metástase e diminuição no período de sobrevida, portanto não foi considerado um bom marcador prognóstico (PEÑA et al., 1998). Já o aumento dos valores de Ki-67 apresentou correlação positiva e estatística entre a presença de metástases e diminuição da sobrevida e, assim, foi considerado um bom marcador para predizer o comportamento e prognóstico destas neoplasias (PEÑA et al., 1998).

Os mastocitomas também apresentaram prognósticos diversos. Segundo vários autores que avaliaram o índice de PCNA em mastocitomas cutâneos em cães e apontaram o PCNA como um indicador confiável quanto ao prognóstico, à sobrevida e à recidiva (PATNAIK; EHLER; MACEWEN, 1984). Outros autores observaram que o índice de PCNA foi maior nos animais que vieram a óbito em função do mastocitoma em comparação aos que sobreviveram, apesar disso, não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa quando os casos foram agrupados com bases nos graus histopatológicos, nem em relação ao tempo de sobrevida (ABADIE; ARMADEILH; DELVER, 1999; SCASE et al., 2006).

Entretanto, STREFEZZI (2007) não observaram diferença estatisticamente significativa entre os animais que morreram ou não em função do grau de mastocitoma. No caso de mastocitoma GI não existe graduação histológica em associação ao prognóstico e no caso estudado a sobrevida foi curta.

Nenhum dos marcadores PCNA e Ki-67 utilizados na presente pesquisa foram considerados como um fator de risco estatisticamente significativo para a ocorrência de metástases, infiltração linfonodal e diminuição da sobrevida média. Embora, animais com escore máximo (escore 4) para Ki-67 ($p=0,544$) apresentaram o menor período de sobrevida média com $2,3 \pm 2,3$ meses.

A imuno-expressão do PCNA ($p=0,141$), foi maior nas neoplasias de maior grau de malignidade (grau 3), embora não tenha sido observada diferença estatística, enquanto a expressão do marcador Ki-67 também foi superior em neoplasias grau 3 sendo observado diferença estatística quando comparado aos demais graus ($p=0,032$). Os animais com metástases apresentaram valores superiores de PCNA ($p=0,690$) e Ki-67 ($p=0,386$) em relação aos animais sem metástases, porém a análise estatística não mostrou diferença significativa.

Os índices de PCNA ($p=0,690$) foram superiores nos animais com metástases nos linfonodos regionais em relação aos sem comprometimento linfonodal para qualquer grupo de neoplasia. Curiosamente, o índice médio do Ki-67 ($p=0,724$) nos animais com metástases nos linfonodos regionais foi inferior quando comparado aos animais sem metástases. Acreditamos que o motivo possível para este resultado seja devido estarmos trabalhando com 3 grupos distintos de neoplasias e, portanto, com comportamento e prognósticos distintos.

Os índices de proliferação celular PCNA e Ki-67, determinados pela primeira vez em neoplasias GI em cães, não foram eficazes para prever o comportamento

biológico das neoplasias gastrintestinais em cães no que diz respeito à sobrevida, infiltração linfonodal e metástases à distância no nosso estudo e isto está em acordo com os estudos no homem e mostram limitação na utilização destes como fatores prognósticos nos cães.

Acreditamos que são necessários mais estudos com uma população maior para avaliar a eficácia, ou não, destes marcadores em cães com neoplasias gastrintestinais. A investigação de novos marcadores, que sejam capazes de determinar o prognóstico das neoplasias é uma busca contínua de diversos pesquisadores.

8. CONCLUSÕES

A associação de informações epidemiológicas, clínicas, laboratoriais, anatomopatológicas e imuno-histoquímicas são de suma importância, pois nos permite concluir que:

1. Os cães acometidos por neoplasia GI em nosso meio são na maioria machos, adultos com idade média de 9 anos, sem raça definida de pequeno a médio porte e com peso médio de $16,8 \pm 11,5$ kg, reproduzindo o perfil epidemiológico em outros centros de investigação.
2. Os sinais e sintomas clínicos se caracterizam por alterações crônicas gastrintestinais e extra-gastrintestinais inespecíficas, as quais estão diretamente associadas com a localização do tumor no TGI. Assim, as alterações clínicas auxiliam no diagnóstico clínico, mas não no diagnóstico histomorfológico.
3. As alterações laboratoriais hematológicas caracterizaram anemia não regenerativa normocítica normocrômica e microcítica hipocrômica condizentes com doenças de evolução crônica e não específicas de neoplasia GI.
4. As alterações bioquímicas - função hepática, renal, proteína total e albumina- são inespecíficas e variáveis nos quadros de neoplasia GI e não ajudam no diagnóstico de processo neoplásico localizado no TGI.
5. As neoplasias GI em cães foram 92% malignas e sua distribuição foi 42% epiteliais, 32%, hematopoéticas e 26%, mesenquimais e essa casuística é similar às relatadas por outros centros diagnósticos.

6. Nas neoplasias epiteliais, o adenocarcinoma tubular com cistos mucinosos medindo $3,24 \pm 2,46$ cm foi o diagnóstico morfológico mais freqüente e estas características representam importante ferramentas para o diagnóstico cirúrgico e anatomopatológico.
7. O linfoma T alimentar, CD3+, medindo $4,25 \pm 3,66$ cm, correspondeu a 75% das neoplasias hematopoiéticas o que está em concordância com outros grupos de pesquisa.
8. Os sarcomas intestinais de células fusiformes são tumores grandes, com $7,91 \pm 5,11$ cm, e se caracterizam por morfologia similar o que dificulta o diagnóstico microscópico. Assim, essas neoplasias necessitam de métodos complementares como a reação de imuno-histoquímica já que podem ser leiomiossarcomas (vimentina +, SMA +, desmina +/-), tumor estromal gastrointestinal (vimentina +, CD117+) e sarcomas indiferenciados (vimentina +, S100-, CD117-, SMA-, desmina -).
9. Osteossarcoma intestinal e mastocitoma são incomuns e devem ser considerados entre os possíveis diagnósticos diferenciais de neoplasias GI em cães.
10. As neoplasias epiteliais e hematopoiéticas GI nos cães se localizam principalmente no reto, enquanto as mesenquimais, no jejuno o que fornece subsídios para o diagnóstico clínico e cirúrgico.
11. Os linfonodos mesentéricos e o fígado são os principais sítios metastáticos, indicando a importância da investigação desses locais nos casos de neoplasia GI em cães.
12. Os cães portadores de neoplasias GI apresentam média de sobrevida igual a 12 meses após o diagnóstico e tal resultado é similar a literatura.

13. O tamanho do neoplasma não exibe correlação linear com a sobrevida nos cães com neoplasias epiteliais e mesenquimais, mas exibem correlação inversa nos casos de neoplasia hematopoética. Este resultado caracteriza a dificuldade e controvérsia na determinação do tamanho do tumor como fator de prognóstico de cães com neoplasias GI a exemplo do que ocorre em outros centros diagnósticos.
14. A correlação entre sobrevida, o grau histológico de malignidade e ocorrência de metástases nas neoplasias GI é fraca e sem significância estatística na nossa casuística, o que difere de outros estudos e pode ser um viés decorrente da qualidade das informações relacionadas à evolução dessas neoplasias após o diagnóstico.
15. Os índices de proliferação celular PCNA e Ki-67, determinados pela primeira vez em neoplasias GI em cães, não apresentam correlação com sobrevida nos cães estudados e isto está em acordo com os estudos no homem e mostram limitação na utilização destes como fatores prognósticos nos cães.
16. Os índices de proliferação celular, PCNA e Ki-67, foram maiores, sem diferença e correlação estatística nos casos com metástases em qualquer grupo de neoplasia GI. Este resultado caracteriza que estes índices não são potencialmente indicativos para a ocorrência de metástases nos diferentes tipos de neoplasias GI em cães na nossa casuística.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ABADIE, J. J.; AMARDEILH, M. A.; DELVERDIER, M. E. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors cell tumors from dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 11, p. 1629-1634, 1999.
- ABBAS, A. K.; LINCHTMAN, A. H.; POBER, J. S. Celular and molecular immunology. 4. ed. London: w.b. Saunders. 2000, p. 553.
- ADAMU, D. Pathomorphological assessment and classification of spontaneous neoplasms in the dog. **Medycyna Veterinaryjna**, v. 48, p. 200-201, 1992.
- ALLEGRA, C. J.; PAIK, S.; COLONUELO, L. H, PARR, A. L.; KIRSCH, I.; KIM, G. Prognostic value of thymidy synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes'B and C colon cancer: a Nationa Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. **Journal Clinical Oncology**, v. 21, n. 2, p. 241-250, 2003.
- ANDERSON, D. Mechanisms of mutagenicity and tumor formation. In Arinç, E.; SCHENKMAN, J.B.; HOSGSON, E. Molecular Aspectas of Oxidative drug metabolizing enzymes: their significance in environmental toxicology, chemical carcinogenesis and health. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg-Nato ASI Series**, v. 90, p. 261-302, 1995.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS.[S.L:SN], 2005.
- BACKER, L. C.; GRINDEM, C. B.; CORBETT, W. T.; CULLINS, L.; HUNTER, J. L. Pet dogs as sentinels for environmental contamination. **Science Total Environmental**, v. 274, n.1-3, p. 161-169, 2001.
- BAGLEY, R. S.; LEVY, J. K.; MALARKEY, D. E. Hypoglycemia associated with intra-abdominal leiomyoma and leiomyosarcoma in six dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, p. 69-71, 1996.
- BAIN, B. J. Tumors of the hematopoietic system. In: FLETCHER, C. D. **Diagnostic Histopathology of tumors**. London : Churchill Livingstone, P. 1768, Cap.22, p. 929-957. 1995.
- BEAUDRY, D.; KNAPP, D.W.; MONTGOMERY, G.T. Hypoglicemia associated in four dogs with smooth muscle tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.9, p. 415-418, 1995.
- BELLAH, J. R.; GINN, P. E. Gastric leiomyosarcoma associated with hypoglycemia in a dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 165, p. 449-450, 1996.

BETTINI, G.; MORINI, M.; MARCATO, P. S. Gastrointestinal spindle cell tumours of the dog: histological and immunohistochemical study, **Journal of Comparative Pathology**, v.129, p.283–293, 2003.

BICHARD, S. J, COUTO, C. G, JOHNSON, S. Nonlymphoid intestinal neoplasia in 32 dogs and 14 cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 22, p. 533-537, 1986.

BOSTOCK, D. E.; CROCKER, J.; HARRIS, K.; SMITH, P. Nucleolar organizer regions as indicators of post surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumors. **British Journal of Cancer**, v. 59, p. 915-918, 1989.

BREITSCHWERDT, E.B.; WALTMAN, C.; HAGSTAD, H.V.; OCHOA, R.; MCCLURE, J.; BARTA, O. Clinical and epidemiologic characterization of a diarrheal syndrome in Basenji dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 180, p. 914–920, 1982.

BRODEY, R. S.; COHEN, D. An epizootologic and clinicopathologic study of 95 cases of gastrointestinal neoplasms in the dog. In Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, **101**, [sl].**Proceedings**, 1964. p.54.

BROWN, C. C.; BAKER, D. C, BARKER, L. K. Alimentary system. In. JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C, PALMER, N. C. **Pathology of Domestic Animals**, 4 ed. London: w.b Saunders Elsevier, 2007, v. 2, p.117-128.

BRUECKER, K.A.; WITHOROW, S.J. Intestinal leiomyosarcoma in six dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 24, p. 45-53, 1998.

CARTER, R. F.; HARRIS, C. K.; WITHROW, S. J. Chemotherapy canine lymphoma with histopathological correlation: doxorubicin alone compared to COP as first treatment regimen. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 23, p. 587-596, 1987.

CASTRONOVO, V. Nutrition and cancer. **Revue Méd. Liège**, v.58, n.4, p.231-239, 2003.

CATTORETTI, G.; BRECKER, M.H.G.; KEY, G.; DUCHROW, M.; SCHLUTER, C.; GALLE, J.; GERDES, G. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave – processed formalin – fixed paraffin sections. **Journal Pathology**, v. 168, p. 357-363, 1992.

CERELLI, L.; WICK, M. Immunohistochemistry of soft tissue and osseous neoplasms. In: ZORAB, R. Ed, **Diagnostic Immunohistochemistry**. New York: Churchill Livingstone. 2002, p. 72-102.

CERIEL P. H. J. M.; TER HAAR, G.; VAN DER GAGA, I; KIRPENSTEIJN, J. Reclassification of small intestinal and cecal smooth muscle tumors in 72 Dogs: clinical, histologic, and immunohistochemical evaluation. **Veterinary Surgery**, v. 36, p.302–313, 2007.

CHULADA, P. C.; THOMPSON, M. B.; MAHLER, J. F.; DOYLE, C. M.; GAUL, B. W.; LEE, C. Genetic disruption of Ptg-1, as well as Ptg-2, reduces intestinal tumorigenesis in min mice. **Cancer research**, v. 60, p. 4705-4708, 2000.

CHUNG, E. B.; ENZINGER, F. M. Extraskelatal osteosarcoma. **Cancer**, v.60, p. 1132-1142, 1987.

CHURCH, E. M.; MEHLHAFF, C. J.; PATNAIK, A. K. Colorectal adenocarcinoma in dogs: 78 cases (1973-1984). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 191, n. 6, p. 727-730, 1987.

COHEN, B.; POST, G. S. Nephrogenic diabetes insipidus in a dog with intestinal leiomyosarcoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, p. 1818-1820, 1999.

COHEN, M.; POST, G. S.; WRIGHT, J. C. Gastrointestinal leiomyosarcoma in 14 dogs. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 17, p. 107-110, 2003.

COIT, D. G. Cancer of the small intestine. In: Devita, In: V. T.; HELLMAN, S.A.; ROSENBERG, S.A. **Cancer: principles & practice of oncology**. Philadelphia: JB Lippincott, 1993, p.281-284.

COMPTON, C. Prognostic factors in cancer. 3 ed, Jonh Wiley & Sons, 2006.

COTCHIN, E. Some tumors in dogs and cats of comparative veterinary an human interest. **Veterinary Record**, v. 71, p. 1040-1054, 1959.

COTTER, S.M. Treatment of lymphoma and leukemia with cyclophosphamide, vincristine and prednisone: treatment of dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 19, p. 159-165, 1983.

COUTO, C. G.; RUTGERS, H. C.; SHERDING, R. G.; ROJKO, J. Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.3, p. 73–78, 1989.

COUTO, C.G. Moléstias dos linfonodos e baço. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**, 3.ed, São Paulo, Manole, 1992, Cap.115, p.2328-2348.

COYLE, K .A.; STEINBERG, H. Characterization of lymphocytes in canine gastrointestinal lymphoma. **Veterinaty Pathology**, v. 41, n. 2, p. 141–146, 2004.

CRAWSHAW, J.; BERG, J.; SARDINAS, J. C. Prognosis for dogs with nonlymphomatous, small intestinal tumors treated by surgical excision. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.34, p. 451-456, 1998.

DARGENT, F. Particularités de la cancérologie animale Etude rétrospective de 50 cas de pathologie tumorale digestive spontanée du chien. **Acta endoscopica**, v 29, n.5, p. 585-591, 1999.

DAY, M. J.; BILZER, T.; MANSELL, J.; WILCOCK, B.; HALL, E. J.; JERGENS, A.; MINAMI, T.; WILLARD, M.; WASHABAU, R. Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of comparative Pathology**, v. 138, p.1-43, 2008.

DORFMAN, R. F. Letter. Classification of non-Hodgkin's lymphomas. **Lancenet**, v.1, n.7869, p. 1295-1296, 1974.

DUCAN, J. R.; PRASSE, K. W. Cytology of canine cutaneous round cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 16, n. 6, p. 673-679, 1979.

EASTON, S. A. A retrospective study into the effects of operator experience on the accuracy of ultrasound in the diagnosis of gastric neoplasia in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 42, p. 47-50, 2001.

EBERHART, C. E.; COFFEY.; RADHIKA, A.; GIARDIELLO.; F. M, FERRENBACH, S.; BUBOIUS, R.N. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. **Gastroenterology**, v. 107, p. 1183-1188, 1994.

FARMER, E.; SARMA, D.S.R. Hepatocarcinogenesis: a dynamic cellular perspective. **Laboratory Investigation**, v.56, n.1, p. 4-22, 1987.

FARRUGIA, G.; KIM, C. H.; GRANT, C. S.; ZINSMEISTER, A. R. Leiomyosarcoma of the stomach: determinants of long-term survival. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 67, p. 544-536, 1992.

FEARON, E. R.; GRUBER, S. B. Molecular abnormalities in colon and rectal cancer. In MENDELSON, J.; HOWLEY, P. M, ISRAEL, M. A.; LIOTTA, L. A. **The molecular basis of cancer**. W.B Saunders Company, 2001, p.289-312.

FEARON, E. R.; VOIGEISTEIN, B. A. genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, v. 61, p.759- 767, 1990.

FIGHERA, R.A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria : O autor, 2001. 214p. Cap.7: Anemias por insuficiência medular: p.145-158.

FIGHERA, R.A. **Leucemia em medicina veterinária**. Santa Maria : O autor, 2000. 47p. Cap.6: Linfoma: p.32-38.

FINLAY, C. A.; HINDS, P. W.; LEVINE, A. J. The p53 protooncogene can act as a suppressor of transformation. **Cell**, v. 57, p.1083-93, 1989.

FISHER, D. J.; NAYADAN, D.; WERNER, L. L. Immunophenotyping lymphomas in dogs: a comparison of results from fine-needle aspirate and needle biopsy samples. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 24, p. 118-123, 1995.

FLETCHER, C. D.; BERMAN, J. J.; CORLESS, C. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. **Human Pathology**, v. 33, p. 459-465, 2002.

FONDA, D.; GUALTIERI, M.; SCANZIANI, E. Gastric carcinoma in the dog: a clinicopathological study of 11 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 30, p. 353-360, 1989.

FOURNEL-FLEURY, C.; MAGNOL, J.P.; BRICAIRE, P.; FELDMAN, P. Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparasion with human non-hodgking's lumphoma. **Journal of Comparative Pathology**, v.117, p.35-39, 1997.

FOURNEL-FLEURY, C.; PONCE, F.; FELMAN, P.; BLAVIER, A.; BONNEFONT, L.; CHABANNE, L.; MARCHAL, T.; CADORE, J. L.; GOY-THOLLOT, I.; LEDIEU, D.; GHERNATI, I.; MAGNOL, J.P: Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological, and clinical study of 46 new cases, **Veterinary Pathololy**, v. 39, p. 92–109, 2002.

FRANCHI, A.; CMIN, C. E.; SANTUCCI, M. Submicroscopic and immunohistochemical profile of surface osteosarcomas. **Ultrastruct Pathologic**, v. 23, p. 233-240, 1999.

FRANKS, L.M. **Introdução à biologia celular e molecular do câncer**.São Paulo, Roca, 1990, p.1-22.

FRENCH, R.A; SEITZ, S.E; VALLI, V.E.: Primary epitheliotropic alimentary T-cell lymphoma with hepatic involvement in a dog. **Veterinary Pathology**. v. 33, p.349–352, 1996.

FROST, D.; LASOTA, J., MIETTINEN, M. Gastrointestinal Stromal Tumors and Leiomyomas in the dog: A histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 42-54, 2003.

GARRITY, M. M.; BURGART, L. J.; MAHOEY, M. R.; WINDSCHIT, H. E.; SALIM, M.; WIESENFELD, M. Prognostic value of, apoptosis, defective DNA mismat mismatch repair, ande p53 overexpression in patients with resected Dukes' B or C colon cancer. A North Central Cancer Treatment Group Study. **Journal Clinical Oncology**, v. 22, n. 9, p. 1572-1582, 2004.

GERDES, J.; LERNKE, H.; BAICSH, H.; WACKER, H.H.; SCHWAB, U.; STEIN, H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. **Journal Immunology**, v. 233, p. 1710-1715, 1984.

GERDES, J.; LI, L., SHLUTER, C. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation – associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. **American Journal of Pathology**, v. 138, p. 867-873, 1991.

GERDES, J.; SCHWAB, U.; LERNKE.; STEIN, H. Producion of a maouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation, **Journal Cancer**, v. 131, p. 13-20, 1983.

GETER, D. R.; GEORGE, M. H.; MOORE, T.M.; KILBURN, S.R.; HUGGINS-CLARK, G.; DEANGELO, A.B. The effects of a high animal fat diet on the induction of aberrant crypt foci in the colons of male F344/N rats exposed to trihalomethanes in the drinking water, **Toxicology**, v. 147, n. 3, p. 245-252, 2004.

GIBBS, C.; PEARSON, H. Localized tumors of the canine small intestine: A report twenty cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 27, p. 507-519, 1986.

GIOVANNUCCI, E.; ERGAN, K.M.; HUNTER, D.J.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.A.; WILLETT, W. C. Aspirin and the risk of colorectal cancer in woman. **New England journal Medicine**, v. 333, p. 609-164, 1995.

GREENLEE, P. G.; FILIPPA, D. A.; QUIMBY, F. W.; PATNAIK, A. K.; CALVANO, S. E.; MATUS, R. E.; KIMMEL, M.; HURVITZ, A. I.; LIEBERMAN, P. H. Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinical study. **Cancer**, v. 66, n.3, p. 480-90, 1990.

GROGAN, T. M.; LIPPMAN, S. M.; SPIER, C. M.; SLYMEN, D. J.; RYBSKI, J. A.; RANGEL, C. S.; RICHTER, L. C.; MILLER, T. P. Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. **Blood**, v. 71, p. 1157-1160, 1988.

GROW, S. E. Tumors of the alimentary tract. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.15, p. 577-596, 1985.

GUALTIERI, M.; MONZEGLIO, M.G.; SCANZIANI, E. Gastric neoplasia. **Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 29, p. 415-440, 1999.

GUILFORD, W. G, STROMBECK, D. R. Neoplasms of the gastrointestinal tract. In: STROMBECK, D. R., WILLIAMS, D. A.; MEYER, D. J. **Strombeck's small animal gastroenterology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996, p.519-531.

GUNTER, M.J.; LEITZMANN, M.F. Obesity and colorectal: epidemiology, mechanisms and candidaes genes. **Journal of. nutritional. biochemistry**, v. 17, n.3, p.145-156, 2006.

HAJDU, S. I. Extrasketeal bone tumor. In: **Pathology of soft tissue tumors**, ed. Hajdu SI. Philadelphia, Lea & Febiger, 1979, p. 483-507.

HALL, P. A.; WOODS, A. L. Immunohistochemical markers of cellular proliferation achievements, problems and prospects. **Cell Tissue Kinet**, v. 23, p. 505-522, 1990.

HANSEN, T. P.; FENGER, C.; KRONBORG, O. The expression of p53, Ki-67 and urokinase plasminogen activator receptor in colorectal adenomas with true invasion and pseudoinvasion. **Acta pathologica microbiológica et immunologica scandinavica**, v. 107, p. 689-694, 1999.

HANSEN-PETRIK, M.; MCENTEE, M.F.; CHIU, C.H.; WHELAN, J. Antogonism of arachidonic acids is linked to the anti-tumorigenic effect of eicosapentaenoic acid in Apc mice. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1153-1158, 2000.

HARRIS, N.F.; JAFFE, E.S.; STEIN, H.; BANKS, P.M.; CHAN, J.K, CLEARLY, M.L. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. **Blood**, v. 84, n. 5, p.131-192, 1994.

HASEGAWA, T.; YANG, P.; KAGAWA, N.; HIROSE, T.; SANO, T. M. CD34 expression by inflammatory fibroid polyps of the gastrointestinal tract. **Modern pathology**, v.10, p. 451-456, 1997.

HEAD, K. W.; CULLEN, J. M.; DUBIELZIG, R.R. Histological classification of tumors of the intestines in domestic animals. In: HEAD, K.W.; CULLEN, J. M.; DUBIELZIG, R.R (eds) **Histological classification of tumors of the alimentary system of domestic animals**, Washington DC; Armed Forces Institute of Pathology, 2003, v. 10, p 87-100.

HEAD, K.; ELSE, R.W.; DUBIELZIG, R.R. Tumors of the alimentary Tract. In: Meuten JD. **Tumors in domestic animals**. 4nd ed. Iowa State Press, 2002, p.470-478.

HENDRICK, M. J.; MAHAFFEY, E. A.; MOORE, F. M.; VOS, J. H.; WALDER, E. J. Histological classification of mesenchymal tumors of skin and soft tissues of domestic animals. In: **World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals**, Vol. 2, 2nd series, F. Y. Schulman, Ed. Washington DC; Armed Forces Institute of Pathology, 1998, v.2, p. 67-98.

HENRY, K.; BENNETT, M.H.; FARRER-BROWN, G. Morphological classification of non-hodgkin's lymphoma. **Recent Results Cancer Research**, v. 64, p. 38-56, 1978.

HIRAKAWA, K.; FUCHIGAMI, T.; NAKAMURA, S.; DAIMARU, Y.; OHSHIMA, K.; SAKAI, Y.; ICHIMARU, T. Primary gastrointestinal T-cell lymphoma resembling multiple lymphomatous polyposis. **Gastroenterology**, v. 111, p. 778-782, 1996.

HIS, E. D.; YEGAPPAN, S. Lymphomas immunophenotyping: a new era in paraffinsection immunohistochemistry. **Advances in anatomic pathology**, v. 8, n. 4, p. 218-239, 2001.

HOLLSTEIN, M. C.; SIDRANSKI, D.; VOGELSTEIN, B.; HARRIS, C.C. P53 mutations in human cancers. **Science**, v. 253, p. 49-53, 1991.

HOLT, P.E.; LUCKE, V.M. Rectal neoplasia in the dog: a clinicopathologic review of 31 cases. **Veterinary Record**, v.116, p.400-405, 1985.

HOSS, A.; NISSAN, A.; STOJADINOVIC, A.; SHIA, J.; HEDVAT, C. V.; LEUNG, D. H. Tissue microarray molecular profiling of early, node-negative adenocarcinoma of the rectum: a comprehensive analysis. **Clinical Cancer Research**, v. 8, n. 12, p. 3841-3849, Dec. 2002.

HSU, S. M.; RAINE, L. The use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in imunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. **Journal Histochemistry and Citochemistry**, v. 29, p. 577-580, 1981.

HULL, M.A.; BOOTH, J.K.; TISBURY, A. SCOTT, N.; BONIFER, C.; MARKHAN, A.F. Cyclooxygenase-2 is up-regulated and localized to macrophages in the intestine of min mice. **British journal of câncer**, v. 79, p. 1399-1405, 1999.

IONOV, Y.; PEINADO, M.A.; MALKHOSYAN, S.; SHIBATA, D.; PERUCHO, M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. **Nature**, v. 363, p. 558-561, 1993.

ISAACSON, P.G.; MACLENNAN, K. A.; SUBBUSWAMY, S.G. Multiple lymphomatous polyposis of the gastrointestinal tract. **Histopathology**, v. 8, p.641-656, 1984.

JAFFE, E. S.; HARRIS, N.; STEIN, H.; VARDIMAN, J.W. **Pathology and genetic of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues**. Lyon: IARC Press, 2001.

JASS, J. R.; SOBIN, L. H. (eds). **Histological typing of intestinal tumours**. 2. ed. Berlin, Springer-Verlag, 1989.

JEGLUM, K. A. Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant monoclonal antibody. **Veterinary Clinics of North of America**, v.26, n.1, p.73-85, 1996

JEN, J.; POWELL, S .M.; PAPADOPOULOS, N.; SMITH, K. J.; HAMILTON, S. R.; VOGELSTEIN, B. Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. **Cancer research**, v. 54, p. 5523-526, 1994.

JEONG, D.; DO, S. H.; HONG, I. H.; YANG, H. J.; YUAN, D. W.; CHOI, D. H.; JEONG, K. S. Multiple intestinal lymphomatous polyposis in a Jindo dog. **Journal of veterinary science**. v. 7, n.4, p.401-403, 2006.

JONES, T. C., HUNT, R. D., KING, N. W. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2000, Cap. 23, p.1063-1130.

KAHN, C. R. The riddle of tumor hypoglycemia revisited. **Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 9, p. 355-360, 1980.

KANEKO, I.; TANAKA, S.; OKA, S.; YOSHIDA, S.; HIYAMA, T.; ARIHIRO, K. Immunohistochemical molecular markers as predictors of curability of endoscopically resected submucosal colorectal cancer. **World journal gastroenterology**, v. 13, n. 28, p. 3829-3835, 2007.

KAPATKIN, A. S.; MULLEN, H.S.; MATTHIESEN, D. T. Leiomyosarcoma in dogs: 44 cases (1983-1988). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 201, n. 7, p. 1077-1079, 1992.

KAYASELÇUK, F.; ZORLUDEMIR, S.; GUMURDULU, D.; ZEREN, H.; ERMAN, T. PCNA e Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological type and grade. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 57, p. 115-121, 2002.

KIMURA, K.C. **Avaliação morfológica e de biomarcadores em epitélio respiratório e olfatório de cães da cidade de São Paulo e sua relação com índice de material particulado (PM10) no ar atmosférico**. 2006. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo 2006.

KINDBLOM, L.G.; REMOTTI, H.E.; ALDENBORG, F.; MEIS-KINDBLOM, J.M. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT). Gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. **American journal of Pathology**, v. 15, p. 1259-1269, 1998.

KITAMURA, Y.; HIROTA, S.; NISHIDA, T. Molecular pathology of c-kit proto-oncogene and development of gastrointestinal stromal tumors. **Annales chirurgiae gynaecologicae**, v. 87, p. 282-286, 1998.

KIUPEL, M.; TESKE, E.; BOSTOCK, D. Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. **Veterinary Pathology**, v. 36, p. 292-300, 1999.

KOHOUTOVA, M.; STEKROVA, L.; SULOVA, M.; ZIDKOVA, K.; VANDROVCOVA, J. Hereditary forms of colorectal adenomatous polyposis. **Casopis lekaru Ceskych**, v. 145, n. 6, p. 475-479, 2006.

KRAVIS, L. D.; VAIL, D. M.; KISSEBERTH, W. C.; OGILVIE, G. K.; VOLK, L. L. M. Frequency of argyrophilic organizer region in fine-needle aspirates and biopsy specimens from mast cell tumors in dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 8, p. 1418-1420, 1996.

KUNTZ, C.H.; DERNELL, W.S.; POWERS, B.E.; WITHROW, S. Extraskelatal osteosarcoma in dogs: 14 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v. 34, p. 26-30, 1998.

KUSHI, L.; GIOVANUCCI, E. Dietary fat and cancer. **American Journal of Medicine**, v. 113, n. 19, p. 63-70, 2002.

LA ROCK, P.G.; GINN, P. E. Immunohistochemical staining characteristics of canine stromal tumors. **Veterinary Pathology**, v. 34, p. 303-331, 1997.

LADIGES, W. C.; KEAST, M.; APPELBAUM, F.; STORB, R. Phenotypic characterization of canine lymphoma, using monoclonal antibodies and a microlymphocytotoxicity assay. **American journal veterinary research**, v. 49, p. 870-872, 1988.

LANDES, C.; SANDERSLEBEN, J.V. Primäre Neoplasien und Schleimhauthyperplasie in Malignomen des Hundes. **Tierärztliche Praxis Suppl**, v. 1, p. 139-158, 1985.

LANGENBACH, A.; ANDERSON, M.A.; DAMBACH, D.M.; SORENSEN, K.U.; SHOFER, F.D. Extra-skeletal osteosarcomas in dogs: a retrospective study of 169 cases

(1986-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 34, n. 2, p. 113-120, 1998.

LAVERGNE, A.; BROULAND, J.P.; LAUNAY, E.; NEMETH, J.; RUSKONE FOURMESTRAUX, A.; GALIAN, A. Multiple lymphomatous polyposis of the gastrointestinal tract. An extensive histopathologic and immunohistochemical study of 12 cases. **Cancer**, v. 74, p. 3042-3050, 1994.

LEE, Y. T. N. M. Leiomyosarcoma of the gastrointestinal tract: general pattern of metastasis and recurrence. **Cancer treatment reviews**, v. 10, p. 91-101, 1983.

LEIBMAN, N. F.; LARSON, V. S.; OGILVIE, G. K. Oncology diseases gastrointestinal trac. In: TAMS, **Handbook of small Animal Gastroenterology**- 2 ed: Elsevier Science, 2005, p 385-392.

LENNERT, K.; STEIN, H.; KAISELING, E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. **British journal of cancer**,. v. 31, p. 29-43, 1975. Suplemento 2.

LIEBERMAN, D. A.; WEISS, D. G.; BOND, J. H.; AHNEN, D. J.; GAREWAL, H.; CHEJFEC, G. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. **New England journal of medicine**, v. 20, n. 3, p. 162-168, 2000.

LINDSAY, P. C.; ORDONEZ, N.; RAAF, J. H. Gastric leiomyosarcoma: clinical and pathological review of fifty patients. **Journal Surgery Oncological**, v. 18, p. 399-421, 1981.

LONDON, C.A.; SEGUIN, B. Mast cell tumors in the dog. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Praticce**, v. 33, n. 3, p. 473-789, 2003.

LOWNFELDS, A.B. Why are small-bowel tumours so rare. **Lancenet**, v.1, p.24-26,1973.

LUCAS, S.R.R. **Avaliação do uso de uma microemulsão associada ao quimioterápico 1,3 bis (2-cloroetil)-1-nitrosuréia (BNCU) em protocolo terapeutico combinado para tratamento de cães (Canis familiares, LINNAEUS, 1758) com linfoma**. 2000. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo 2000.

LUKES, R.J. The immunologic approach to the pathology of malignant lymphomas, **American journal of clinical**, v.72, p.657-669, 1979.Suplemento 4.

LYNCH, H. T.; DE LA CHAPELLE, A. Hereditary colorectal cancer. **New England journal of medicine**, v. 348, n.10, p. 919-932, 2003.

LYNCH, H.T.; LYNCH, J.F. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. **Seminars in Surgical Oncology**, v.18, p. 305-313, 2000.

MA CK AMIN, M.B.; KINTANAR, E.; LINDEN, M.D.; ZARBOR, R.J. Immunohistologic characterization of gastrointestinal stromal tumors: study 82 cases compared whit 11 cases leiomyomas. **Modern Pathology**, v.6, p.139-144, 1993.

MACY, D.W. Canine mast cell tumors. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.15, n.4, p. 783-803, 1985.

MADEWELL, B.R.; MUNN, R. J.; PHILLIPS, L. K. Ultrastructure of canine, feline and bovine mast cell neoplasms. **American Journal of Veterinary Research**, v.15, n.4, p.334-340, 2001.

MARCHETTI, V.; BENETTI, C.; CITI, S.; TACCINI, V. Paraneoplastic hypereosinophilia in a dog with intestinal T-cell lymphoma, **Veterinary clinical pathology**. v. 34. p.259–263, 2005.

MARRA, G.; BOLAND, R. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes and historical perspectives. **Journal of the national cancer institute**, v. 87, p.1114-11125,1995.

MATHE, G.; RAPPAPORT, H.; O'CONOR, G.T. **Histological and cytological typing of neoplastic diseases of hematopoietic and lymphoid tissues**. In: WHO International Histological Classification of Tumors. n.14. Geneva: World Health Organization, 1976.

MEUTEN, D.J.; ARMSTRONG, P.J. Moléstias da paratiróide e metabolismo do cálcio. In: ETTINGER, S.J. **Tratado demedicina interna veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1992, Cap.94, p.1683-1705.

MIETTINEN, M.; LASOTA, J. Gastrointestinal stromal tumors. Review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis. **Archives of pathology and laboratory medicine**, v. 130, p. 1466-1478, 2006.

MIETTINEN, M.; LASOTA, J. Gastrointestinal stromal tumors- definition, clinical, histological, immunohistochemical, and Molecular genetic features and differential diagnosis. **Virchows Archive**, v. 43, p. 1-12, 2000.

MIETTINEN, M.; SARLOMO-RIKALA, M.; LASOTA.J. Gastrointestinal stromal tumors. New findings on their biology. A review. **Human pathology**. v. 23, p. 1209-1220, 1999.

MIETTINEN,M.; SARLOMO-RIKALA, M.; LASOTA, J. Gastrointestinal tumors. **Annales. chirurgiae. gynaecologicae**, v .87, p. 278-281, 1998.

MIKAEL, A. L.; BACCHI, C. E.; ZARBO, R. J.; MA CK.; GROW, A. M. CD34-expression in stromal tumors of the gastrointestinal tract. **Applied imunohistochemistry**, v.2, p.89-93, 1994.

MONIHAN, J. M.; CARR, N. J.; SOBIN, L. H. CD34. Immunoexpresion in stromal tumors of gastrointestinal tract and mesenteric fibromatoses. **Histopathology**, v. 25, p. 469-473, 1994.

MOULTON, J.E.; HARVEY, J.W. Tumors of the lymphoid and hematopoetic tissues. In: MOULTON, J.E. **Tumors in domestic animals**, 3. ed. Berkeley: Univ California Press, 1990, p.231-307.

E. H; POLLACK, R. E.; ROMSDAHL, M. M. Prognostic implications of patterns of failure for gastrointestinal leiomyosarcoma. **Cancer**, v. 69, p. 1334-1341, 1992.

O'KEEFE, D. A. Canine mast cell tumors. **Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 1105-1115, 1990.

OLIVEIRA, A. E.; NASCIMENTO, A. G. Grading in soft tissue tumors: principles and problems. **Skeletal Radiology**, v. 30, p. 543-559, 2001.

OSHIMA, C. T.; IRIYA, K.; FORNES, N. M. Ki-67 as a prognostic marker in colorectal cancer but not in gastric cancer. **Neoplasma**, v. 52, n. 5, p. 420-424, 2005.

OSHIMA, M.; DINCHUK, J.E.; KARGMAN, S. L.; OSHIMA, H.; HANCOCK, B. Suppression of intestinal polyposis in Apc knouckout mice by inhibition of ciclooxigenase-2 (COX-2). **Cell**, v. 87, p. 803-809, 1996.

OWEN, L.N. **TNM classification of tumors in domestic animals**. 1st ed. Geneva: World Health Organization, 1980.

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

PAGE, R. L. Hematologia oncologia. In BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Clínica de pequenos animais**. 1. ed, São Paulo, Roca, 1998, p.166-164.

PALMQVIST, R.; SELLBERG, P.; OBERG, A.; TAVELIN, B.; RUTTEGARD, J.N. Low tumors cell proliferation at the invasive margin is associated with a poor prognosis in Duke's stage B colorectal cancer. **British journal of cancer**, v. 79, p. 577-581, 1999.

PAOLINI, M.; PENNINCK, D.G.; MOORE, A. S. Ultrasonographic and clinicopathologic findings in 21 dogs with intestinal adenocarcinoma. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 43, n. 6, p. 562-567, 2002.

PARDO, A. D.; ADAMS, W. H.; McCracken, M. D.; LEDENDRE, A. M. Primary jejunal osteosarcoma associated with surgical sponge in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n .6, p. 935-938, 1990.

PASQUINELLI, G.; SEVERI, B.; MARTINELLI, G.N.; SANTINI, D.; GELLI, M.C.; TISON, V. Gastro-intestinal stromal tumors: an ultrastructural reinterpretation of thr clear

cell component. J, Submicrosc. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, v. 27, n. 2, p. 251-257, 1995.

PATERLINI, P.; SUBERVILLE, A.M.; ZINDY, F. Cyclin – A expression in human hematological malignancies: a new marker of cell proliferation. **Cancer research**, v. 53, p. 235-238, 1993.

PATNAIK, A. K. Canine extraskeletal osteosarcoma and chondrosarcoma: a clinicopathologic study of 14 cases. **Veterinary Pathology**, v. 27, p.46-55, 1990.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; JONHSON, G. F. Nonlymphoid intestinal neoplasia in 32 dogs and 14 cats. **Veteterinary Pathology**, v. 14, p.547-555, 1977.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A.I.; JONHSON, G. F. Canine gastrointestinal neoplasms **Veterinary Pathology**, v. 13, p. 1-10, 1976.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ.; A. I, JOHNSON, G. F. Canine intestinal adenocarcinoma and carcinoid. **Veterinary Pathology**, v. 17, p. 149-163, 1980.

PATNAIK, A.K.; HURVITZ, A.I.; JONHSON, G. F. Canine gastric adenocarcinoama. **Veteterinary Pathology**, v. 15, p. 600-604, 1978.

PEÑA, L. L.; NIETO, A. I.; PEREZ-ALENZA, D.; CUESTA, P.; CASTANO. Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathologic variables. **Journal of the veterinary diagnostic investigation**, v. 14, p. 547–555, 1998.

PENNINCK, D.G.; MOORE, A.S.; GLIATTO, J. Ultrasonographt of canine gastric epithelial neoplasia. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 39, p.342-343, 1998.

PHILIPS, B.S. Tumors of the intestinal tract. In: WITHROW, S.J, MACEWEN, E.G. **Small animal clinical oncology**, 3. ed, Philadelphia, PA, ed Saunders, 2001, p. 335–346.

PITOT, H .C.; FRAGAN, Y. P.; TEEGUARDEN, J.; HSIA, S.; CAMPBELL, H. Quantitation of multistage carcinogenesis in rat liver. **Toxicology Pathology**, v. 24, n. 1, p. 119-128, 1996.

PITOT, H. C. Progression: the terminal stagfe in carcinogenesis. **Japanese. journal of the. cancer. research.** v.80, n.7, p.559-607, 1989.

PITOT, H. C. The molecular biology carcinogenesis, v. 72, n. 3, p. 962-970, 1993.

POHL, C.; HOMBACH, A.; KRUIS, W. Chronic inflammatory bowel disease and cancer. **Hepatogastroenterology**, v. 47, n. 31, p. 57-70, 2000.

PONCE, F.; MAGNOL, J.P.; LEDIEU, D.; MARCHAL, T.; TURINELLI, V.; CHALVET-MONFRAY, K.; FOURNEL-FLEURY, C. Prognostic significance of morphological

subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. **Veterinary journal**, v. 167, n. 2, p.158-66, 2004.

POWERS, B. E.; HOOPES, P. J.; EHRHART, E. J. Tumor diagnosis, grading, and staging. **Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v. 10, p. 158–167, 1995.

PRALL, F.; OSTWALD, C.; NIZZE, H.; BARTEN, M. Expression profiling of colorectal carcinomas using tissue microarrays: cell cycle regulatory proteins p21, p27 and p53 as immunohistochemical prognostic markers in univariate and multivariate analysis. **Applied Immunohistochemistry molecular morphology**, v. 12, n. 2, p.111-121, 2004.

RAGHAVAN, M.; KNAPP, D.W. Evaluation of the effect of dietary vegetable consumption on reducing risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 1, p.94-100, 2005.

RANCE, M.; GAMBLIN, D. V. M.; JOHN, E.; SAGARTZ, D. V. M.; GUILLERMO COUTO, D. V.M. Overexpression of p53 tumor suppressor protein in spontaneously arising neoplasms of dogs. **American journal veterinary research**, v. 58, n. 8, p. 857-863, 1997.

RAPAPORT, S.I. **Hematologia introdução**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1990, Cap.19, p.264-275.

RAPPAPORT, H. **Tumors of the hematopoietic system**. In: ATLAS OF TUMOR PATHOLOGY, SECTION. Washington, D.C: Us Armed Forces Institute of Pathology, 1966.Seção 3.Fasciculo 8.

RIBEIRO, J. R.; FINKEISTEIN, S. D.; SAFATLE-RIBEIRO, A. V. p53 sequence analysis predicts treatment response and outcome of patients with esophageal carcinoma. **Cancer**, v. 83, p. 7-18, 1998.

RICHTER, K. P. Moléstias do intestino grosso. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3.ed. São Paulo : Manole, 1992, Cap.87. p.1462-1486.

RIVERS, B. J.; WALTER, P. A.; JONHSTON, G. R. Canine gastric neoplasia: utility of ultrasonography in diagnosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 33, p. 144-155, 1997.

ROELS, S.; TILMANT, K.; DUCATTELLE, R. PCNA and Ki67 proliferation markers as criteria for prediction of clinical behaviour of melanocytic tumours in cats and dogs. **Journal of comparative Pathology**, v. 121, p. 13-24, 1999.

ROGERS, K. S. Common questions about diagnosis and treating canine mast cell tumors. **Veterinary Medicine**, v. 88, n. 3, p. 246-250, 1993.

ROSENTHAL, R. C.; MACEWEN, E. G. Treatment of lymphoma in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, p. 774-781, 1980.

ROY, M.; SOMMERS, S.C. Metastatic potential of gastric leiomyosarcoma. **Pathology Research Practice**, v. 184, p. 874-877, 1989.

RUBIN, B. P. Gastrointestinal stromal tumors: an update. **Histopathology**, v. 48, p. 83-96. 2006.

RUSSEL, K. R.; MEHLER, S. J.; SKORUPSKI, K. A.; BAEZ, J. F.; SHOFER, F. S.; GOLDSCHIMIDT, M. H. Clinical and immunohistochemical differentiation of gastrointestinal stromal tumors from leiomyosarcomas in dogs: 42 cases (1990-2003). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 9, 2007.

SAKAI, H.; NODA, A.; SHIRAI, N.; IIDAKA, T.; YANAI, T.; MASEGI, T. Proliferative activity of canine mast cell tumours evaluated by bromodeoxyuridine incorporation and Ki-67 expression. **Journal of Comparative Pathology**, v. 127, p. 233-238, 2002.

SAKURAI, S.; FUKASAWA, T.; CHONG, J. M.; TANAKA, A.; FUKAYAMA, M. Embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (SMemb/MHC-B) in gastrointestinal stromal tumor and interstitial cells of Cajal. **The American journal of pathology**, v. 54, n. 1, p. 23-8, 1999

SARAGA, P.; HURLIMANN, J.; OZZELLO, L. Lymphomas and pseudolymphomas of the alimentary tract: Na immunohistochemical study with clinicopathologic correlations. **Human Pathologic**, v. 12, p.713-723, 1981.

SARLOMO-RIKALA, M.; KOVATICH, A.; BARUCEVICIUS, A.; MIETTINEN, M. A sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that more specific than CD34 . **Modern pathology**, v. 11, p. 728-734, 1998.

SARLOMO-RIKALA, M.; MIETTINEN, M. Gastric schwannoma clinicopathology analysis of six cases. **Histopatolgy**, v. 27, p. 335-340, 1995.

SATO, T.; YOSHINAGA, K.; OKABE, S.; OKAWA, T.; HIGUSHI, T.; MASAYUKI, E. Cyclooxygenase-2 expression in colorectal adenomas. **Diseases of the colon and rectum**, v. 46, p. 786-792, 2003.

SAUTTER, J. H.; HALON, G. F. Gastric neoplasms in the dog: a report of 20 cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 166, p. 691-696, 1975.

SCANZIANI, E.; GIUSTI, A.M.; GUALTIERI, F.K. Gastric carcinoma in the Belgian Shepherd dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 32, p. 465, 1993.

SCASE, T. J.; EDWARDES, D.; MILLER, J.; HENLEY, W.; SMITH, K.; BUNDEN, A.; MURPHY, S. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n.7, p. 151-158, 2006.

SCHENA, C. J.; STICKLE, R. L.; DUNSTAN, R. W.; TRAPP, A. L.; REIMANN, K. A.; WHITE, J. V.; KILLINGSWORTH, M. S.; HAUPTMAN, J. G.; Extraskelatal osteosarcoma

in two dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 10, p. 1452-1456, 1989.

SELTING, K. A. Cancer of the Gastrointestinal Tract. In: WITHROW, W.; MACEWEN'S. **Small animal Clinical Oncology**, Kim Saunders, Inc, 2007, p. 491-493.

SEQUEIRA, J. L.; FRANCO, M. Características anatomo-clínicas dos linfomas caninos. **Anatomic. Pathology**, v. 7, n. 2, p. 06-08, 1992.

SILVEIRA, L. M.; CUNHA, F. M.; BIASI, C.; SILVA, P. T. D.; KOLER, M.; FERRIGNO, C. R.A. Osteossarcoma extra-esquelético no tecido subcutâneo de um cão: relato de caso. **Clínica Veterinária**, n. 64, p. 89-90, 2006.

SIMÕES, J. P. C.; SCHONING, P.; BUTTINE, M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. **Veterinary Pathology**, v.31, n.6, p.637-647, 1994.

SOBRAL, R. A.; DALECK, R. D.; RODASKI, S.; DE NARDI, A. B.; PASCON, J. P.E. Neoplasias do sistema digestório. In DALECK, R. D.; RODASKI, S.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 1. ed. São Paulo, Rocca, 2009, p.317- 324.

SORDILO, P. P.; HAJDU, S. I.; MAGILL, G. B.; GOLBEY, R. B. Extraosseous osteogenic sarcoma: a review of 48 patients. **Cancer**, v. 51, p.727-734, 1983.

STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R.R.; THOMSON, J.; DZATA. G. Primary gastrointestinal lymphosarcoma with epitheliotropism in three Shar-pei and one boxer dog. **Veterinary Pathology**, v. 32, p.423-426, 1995.

STEVEN, E.; CROW, D.V.M. Tumors of the Alimentary Tract. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 15, n. 3, 1985.

STRAW, R. C: Tumors of the intestinal tract. In WITHROW SJ, MACEWEN EG. **Small animal clinical oncology**. 2. ed. Philadelphia: WB Sauders, 1996.

STREFEZZI, R. F. **Indicadores prognósticos para mastocitomas: estudo morfológico e imunoistoquímico**. 2007. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo 2007.

SUEIRO, F. A. R.; ALESSI, A. C.; VASSALLO, J. Canine Lymphomas: a morphological and immunohistochemical study of 55 cases, with observations on p53 immunoexpression. **Journal of Comparative Pathology**, v.131, p. 207-213, 2004.

SULLIVAN, M.; LEE, R.; FISCHER, E.W. A study of 31 cases of gastric carcinoma in dogs. **Veterinary Record**, v. 120, p. 79-83, 1987.

SWANN, H. M.; HOLT, D. E. Canine gastric adenocarcinoma and leiomyosarcoma: a retrospective study of 21 cases (1986-1999) and literature review. **Journal of the American animal Hospital Association**, v. 38, p. 157-164, 2002.

SYNGAL, S.; FOX, E. A.; ENG, C.; KOLODNER, R. D, GARBER, J. E. Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. **J Med Gent**, v. 37, n. 9, p. 641-645, 2000.

TAKAHASHI, T.; KADOSAWA, T.; NAGASE, M.; MATSUNAGA, S.; MOCHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; SASAKI, S. Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n.2, p.222-226, 2000.

TER HAAR, G.; VAN DER GAAG I.; KIRPENSTEIJN J. Canine intestinal leiomyosarcoma. **Veterinary Quaterly**, v.20, p.111-s112, 1998.Suplemento 1.

TESKE, E. Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-hodgkin's lymphoma. **Veterinary Quaterly**, v. 16, n.4, p.209-219, 1994.

THEILEN, G.H.; MADEWELL, B. R. Tumors of the digestive tract. **Veterinary Cancer Medicine**. v. 4, p. 499-534, 1987.

TRIOLO, A.; LAPPIN, M. R. Oncology diseases gastrointestinal trac. In:TAMS, TODD R. **Handbook of small animal gastroenterology**, 2. Ed. Elsevier Science, 2005, p 191 245.

UENO, H.; MURPHY, J.; JASS, J. R. Tumor " budding" as an index to estimate the potential of agressiveness in rectal cancer. **Histopatology**, v. 40, p. 127-132, 2002.

VAIL, D. M.; MACEDWEN, E. G.; TOUNG, K. M. Canine lymphoma and lymphoid leukemias. In: WITHOROW, S. J.; MacEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**. 3. ed. Filadelfia: Saunders, p. 558-590, 2001.

VALERIUS, K. D.; POWERS, B. E.; MCPHERRON, M. A. Adenomatous Polyps and carcinoma in situ of the canine colon and rectum: 34 cases (1982-1994). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 33, p. 156-160, 1997.

VAN DE RIM, M.; HENDRICKON, M, R.; ROUSE, R. V. The CD34 expression by gastrointestinal stromal tumors. **Human Pathology**, v. 25, p. 766-771, 1994.

WEETH, L. P.; FASCETTI, A. J.; KASS, P. H. Prevalence of obese dogs in a population of dogs with cancer. **American Journal Veterinary Research**, v. 68, n. 4, p. 389-398, 2007.

WEST, R. B, CORLESS, C. L, CHEN, X. The novel marker, DOG 1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of kit or PDGFRA mutation status. **American Journal Pathology**, v. 165, p.107-113, 2004.

WILLETT, W.C. Diet and cancer: one view at the start of the millennium. **Cancer epidemiology biomarkers and prevetion**, v. 10, n. 1, p. 3-8, 2001.

WILLIAMS, C.S.; BUBOIS, R. N.; Prostaglandin endoperoxide synthase: Wht two isoformas. **American journal of physiology: gastrointestinal and liver physiology**, v. 270, p. 393-400,1996.

WILLIAMS, G. T. Metaplastic (hyperplastic) polyps of the large bowel: benign neoplasms after all. **Gut**, v. 40, p. 691-692, 1997.

WINAWER, S. J.; ZAUBER, A. G.; FLETCHER, R. H.; STILLMAN, J. S.; O'BRIEN, M. J.; LEVIN, B. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society. **Cancer journal**, v. 56, n. 3, p.143-159, 2006.

WOLF, J. C.; GINN, P. E.; HOMER, B. Immunohistochemical detection of p53 tumor suppressor gene protein in canine epithelial colorectal tumors. **Veterinary Pathology**, v. 34, p. 393-404, 1997.

YANGER, J. A.; SCOTT, D. W. The skin and Appendages. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. (Ed.). **Pathology of domestic animals**. 4. ed. California: Academic Press, 1993. v.1, p.531-738.