

THAÍS ANDRADE COSTA CASAGRANDE

**Avaliação de indicadores de prognóstico para mastocitoma canino:
estudo clínico-cirúrgico, histológico, imunoistoquímico,
estereológico e de expressão gênica**

**São Paulo
2010**

RESUMO

COSTA-CASAGRANDE, T. A. **Avaliação de indicadores de prognóstico do mastocitoma canino: estudo clínico-cirúrgico, histopatológico, estereológico, imunoistoquímico e de expressão gênica.** [Evaluation of prognostic factors of canine mast cell tumors: clinical-surgical, histopathological, stereological, immunohistochemical and genical expression study.]. 2010. 179 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os indicadores de prognóstico para o mastocitoma canino, na tentativa de melhorar o tratamento oferecido aos animais acometidos por esta neoplasia. Foram analisados os parâmetros clínicos dos animais e do mastocitoma, parâmetros de evolução da doença e parâmetros histológicos, imunoistoquímicos, estereológicos e de expressão gênica. Para isso, 81 cães portadores de mastocitoma cutâneo foram submetidos à intervenção cirúrgica para excisão dos tumores. Após a operação os cães foram acompanhados e avaliados por um período mínimo de 12 meses para a colheita de dados sobre a evolução. Os tumores foram graduados por histopatologia, tiveram seus bordos investigados quando a eficiência da cirurgia e foram submetidos à imunomarcagem com ki-67, *c-kit*. Destes, 20 casos passaram por avaliação estereológica, nos parâmetros volume total do tumor, densidade numérica, número total de mastócitos, volume de célula e de núcleo e a relação núcleo/célula. Além disso, 22 casos tiveram seus tumores quantificados quanto a expressão gênica de *c-kit* e do seu ligante. Os parâmetros clínicos avaliados foram: idade, sexo, raça, localização, tempo de evolução, tamanho do tumor, velocidade de crescimento, presença de ulceração, sangramento, eritema, temperatura, hiperpigmentação, consistência tumoral, base de inserção, abrangência de tecido, aderência a planos profundos, formato, superfície, presença de alopecia, número de tumores, além de investigar a presença de alteração em linfonodos, sinais clínicos e metástases e calcular a taxa de crescimento tumoral. Foram associados a piora do prognóstico os pacientes que apresentaram os parâmetros: animais idosos, presença de eritema, ulceração, aumento de temperatura, presença de aderência, superfície irregular, tumores firmes, crescimento rápido, presença de sinais clínicos e metástases. O diâmetro foi associado a maior taxa de óbito. As demais variáveis clínicas não foram associadas ao prognóstico. O grau histopatológico, a presença de sinais clínicos e metástase

foram considerados marcadores preditivos independentes de recidiva e óbito, pela análise multivariada. Na avaliação por estereologia, as variáveis: volume do tumor e número total de mastócitos neoplásicos também foram associados à redução de sobrevida livre de recidiva, assim como uma maior porcentagem de núcleos imunomarcados com ki-67. A diminuição da expressão do ligante de c-kit, também conhecido como fator de crescimento do c-kit também foi associado aos eventos combinados óbito e recidiva. Os resultados demonstraram que mesmo parâmetros clínicos, de fácil investigação fornecem dados para a interpretação dos mastocitomas de grau intermediário, podendo oferecer melhor tratamento aos animais acometidos. Os parâmetros laboratoriais como imunomarcação com ki-67, parâmetros estereológicos podem ajudar a estabelecer uma nova classificação destes tumores que ficam à margem de classificação. Porém, mais uma vez a graduação preconizada por Patnaik e al. (1984) se mostrou de grande eficiência na previsão da evolução dos mastocitomas. As expressões gênicas de c-kit e seu ligante e a expressão por imunomarcação de c-kit devem ser melhores avaliadas e comparadas a análises de mutação destes genes.

Palavras-chave: Tumor de mastócitos. Graduação histopatológica. Estereologia. C-*kit*. Ki-67. PCR em tempo real.

ABSTRACT

COSTA-CASAGRANDE, T. A. **Evaluation of prognostic factors of canine mast cell tumors: clinical-surgical, histopathological, stereological, immunohistochemical and genical expression study.** [Avaliação de indicadores de prognóstico do mastocitoma canino: estudo clínico-cirúrgico, histopatológico, estereológico, imunoistoquímico e de expressão gênica]. 2010. 179 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The aim of this study was to evaluate prognostic markers for canine mast cell tumors to improve treatment options offered to animals affected by this cancer. We evaluated animals and clinical parameters of the tumors, parameters from clinical outcomes, and histological, immunohistochemical, stereological, and gene expression parameters. To this end, 81 dogs with cutaneous mast cell tumors underwent surgical excision of tumors. After surgery, the dogs were monitored and evaluated for a minimum of 12 months for the collection of outcome data. The tumors were graded histologically, had their surgical margins investigated regarding the efficacy of surgery, and were immunostained with Ki-67 and c-kit. Of these specimens, 20 cases underwent stereological assessment: total tumor volume, numerical density, total number of mast cells, cell and nucleus volume, and the nucleus/cell relationship were investigated. In addition, gene expression of c-kit and its ligand was measured in tumors from 22 cases. Examined clinical parameters included age, sex, breed, location, duration of evolution, tumor size, growth rate, presence of ulceration, bleeding, erythema, temperature, hyperpigmentation, tumor consistency, insertion base, range of tissues, adherence to deep levels, shape, surface, presence of alopecia, and number of tumors. We also investigated the presence of changes in lymph nodes, metastases, clinical signs and metastases. We observed that tumors with erythema, ulceration, increased temperature, adherence, irregular surface, solidity, rapid growth, presence of metastases and clinical signs were associated with worse prognostic. A larger tumor diameter was associated with a higher death rate. The other clinical variables were not associated with the prognosis. A multivariate analysis revealed that the histopathological grade and the presence of clinical signs and metastasis were independent predictive markers of the progression-free survival time. The stereological analysis indicated that a larger tumor volume, a larger total number of neoplastic mast cells, and a higher

percentage of nuclei immunostained for Ki-67 were also associated with a reduced survival time and a higher recurrence rate. The reduction of c-kit ligand expression, also called the growth factor c-kit, was also associated with the death and recurrence rates. Our results demonstrate that clinical parameters that are easy to determine can provide useful data for assessing intermediate-grade mast-cell tumors and thereby be useful in determining better treatments for affected animals. Stereological parameters and laboratory parameters such as immunostaining for Ki-67 could help to establish a new classification of those tumors that are at the margin of existing classifications. However, the histopathological classification established by Patnaik et al. (1984) proved very efficient in predicting the evolution of mast-cell tumors. The gene expressions of c-kit and its ligand, and the KIT immunostaining should be further evaluated and compared in order to analyze mutations in these genes.

Keywords: Mast-cell tumor, Histopathological grade, Stereology, C-kit, Ki-67, Real-time PCR.

1 INTRODUÇÃO

A prevalência das neoplasias entre os animais de estimação tem aumentado consideravelmente em decorrência de sobrevida mais longa desses animais (LAVALLE; ARAÚJO; CARNEIRO, 2003). Dentre as neoplasias cutâneas com maior frequência em cães está o mastocitoma compreendendo cerca de sete a 21% dos tumores cutâneos e 11 a 27% das neoplasias malignas (MACY, 1985) e segundo Thamm e Vail (2007) 16 a 21% das neoplasias cutâneas. São tumores potencialmente malignos, com alto poder metastático. Sua graduação é realizada geralmente por aspectos histomorfológicos, baseados na sua malignidade. Esta graduação é utilizada para direcionamento da conduta terapêutica dos animais portadores dessa neoplasia (THAMM; VAIL, 2007).

Apesar de ser um dos tumores cutâneos mais frequentes em cães, permanecem alguns dilemas causados pelo comportamento biológico altamente imprevisível, sendo que algumas neoplasias possuem comportamento benigno, enquanto outros são agressivos e possuem alto potencial metastático (ISHIGURO et al., 2001). Algumas tentativas de previsão do prognóstico do mastocitoma foram realizadas, utilizando critérios como estadiamento clínico, taxa de crescimento tumoral (THAMM; VAIL, 2007), atividade proliferativa (SIMOES et al., 1994) e grau histopatológico (PATNAIK et al., 1984), porém apenas o grau histopatológico consegue ter um parâmetro preditivo para esta neoplasia. No entanto, esta classificação não consegue prever de forma adequada o comportamento biológico das neoplasias de grau intermediário, que se encontram à margem das duas classificações. Este tipo de comportamento leva a falhas de tratamentos (PREZIOSI et al., 2004).

Devido a pouca compreensão do mastocitoma canino, principalmente relacionado aos tumores de grau intermediário de diferenciação, o presente estudo buscou informações sobre o comportamento desta neoplasia, e esclarecer as principais dúvidas e complicações frequentemente associadas e, assim, fornecer subsídios para instituição de regimes terapêuticos específicos, ofertando prognóstico mais preciso.

Na tentativa de encontrar outras formas de prever o prognóstico de cães com quadro clínico de mastocitoma cutâneo, novos indicadores estão sendo testados por

diversos pesquisadores. O objetivo desta pesquisa foi a investigação de indicadores de prognóstico de cães com mastocitoma cutâneo por meio de técnicas já conhecidas e outras que ainda não foram testadas para essa neoplasia. As ferramentas utilizadas para correlacionar com o prognóstico foram graus histológicos; estadiamento clínico da neoplasia; grau de proliferação celular, pela detecção de células marcadas com Ki-67 por imunohistoquímica; expressão da proteína do KIT por imunohistoquímica e expressão da proteína KIT e do seu ligante por reação em cadeia da polimerase em tempo real; avaliação estereológica do mastocitoma, sendo utilizados os parâmetros: volume total do tumor (V_{ref}), densidade numérica (N_v), número total de mastócitos neoplásicos (N), volume médio celular do mastócito neoplásico ($V_n \text{ cell}$), volume médio dos núcleos ($V_n \text{ núcleo}$) e a relação núcleo/célula ($V_n \text{ núcleo}/V_n \text{ cell}$).

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados expostos podemos concluir que:

- ✓ os parâmetros clínicos: idade, velocidade de crescimento, presença de eritema, sangramento, aumento de temperatura, dimensões, ulceração e abrangência mostraram-se eficazes para indicação de prognóstico, mas não de forma independente;
- ✓ a presença de metástase e sinais clínicos sistêmicos se apresentaram como indicadores preditivos independentes para sobrevida livre de recidiva e para óbito e recidiva;
- ✓ o estadiamento clínico do tumor foi relacionado com o tempo de sobrevida livre de recidiva;
- ✓ o grau histológico e a quantidade de núcleos marcados por Ki-67 foram associados ao prognóstico, sendo a graduação um parâmetro preditivo independente para óbito e recidiva;
- ✓ os dados estereológicos, como volume total do tumor e número total e células, resultaram em bons indicadores de prognóstico e foram bem relacionados com os graus histopatológicos;
- ✓ a marcação com ki-67 teve forte associação com a graduação histopatológica e com a previsão de evolução do mastocitoma;
- ✓ os padrões de marcação do KIT não puderam ser correlacionados com o prognóstico;
- ✓ a expressão gênica de *c-kit* não se mostrou eficaz para a predição de óbito e recidiva, porém a diminuição da expressão gênica do ligante de *c-kit* foi associada a menor tempo de sobrevida livre de recidiva.

REFERÊNCIAS

ABADIE, J. J.; AMARDEILH, M. A.; DELVERDIER, M. E. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 11, p. 1629-1634, 1999.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. London: W.B. Saunders, 2000. 553 p.

AL-SARRAF, R.; MAULDIN, G. N.; PATNAIK, A. K.; MELEO, K. A. A prospective study of radiation therapy for the treatment of grade 2 mast cell tumors em 32 Dogs. **Journal of the Veterinary Internal Medicine**, v. 10, n. 6, p. 376-378, 1996.

BALDI, A.; COLLOCA, E.; SPUGININI, E. P. Lomustine for the Treatment of Gastrointestinal Mast Cell Tumours in a Dog. **Journal of the Small Animal Practice**, v. 47, n. 8, p. 465-467, 2006.

BEDDELEY, A. J.; GUNDERSEN, H. J. G.; CRUZ-ORIVE, H. J. G. Estimation of surface area from vertical sections. **Journal of Microscopy**, v. 142, n. 3, p. 259-276, 1986.

BOSTOCK, D. E. Neoplasm in the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **British Veterinary Journal**. v. 142, n. 1, p. 1-19, 1986.

BOSTOCK, D. E. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 14, n. 1, p. 27-41, 1973.

BROCKS, B. A. W.; NEYENS, I. J. S.; TESKE, E.; KIRPENSTEINJN, J. Hypotonic water as adjuvant therapy for incompletely resected canine mast cell tumors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Veterinary Surgery**, v.37, n. 5, p. 472-478, 2008.

CAHALANE, A. K.; PAYNE, S.; BARBER, L. G.; DUDA, L. E.; HENRY, C. J.; MAULDIN, G. E.; FRIMBERGER, A. E.; COTTER, S. M.; MOORE, A. S. Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 225, n. 3, p. 401-408, 2004.

-
- CAMPS-PALAU, M. A.; LEIBMAM, N. F.; ELMSLIE, R.; LANA, S. E.; PLAZA, S.; McKNIGHT, J.A.; RISBON, R.; BERGMAN, P.J. Treatment of canine mast-cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997-2004). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 5, n. 3, p. 156-167, 2007.
- CHAFFIN, K.; THRALL, D. E. Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 43, n. 4, p. 392-395, 2002.
- COOPER, M.; TSAI, X.; BENETT, P. Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.7, n. 3, p. 196-206, 2009.
- COSTA, R. M. G.; MATOS, E.; REMA, A.; LOPES, C.; PIRES, M. A.; GÄTNER, F. CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers. **BMC Veterinary Research**, v. 3, n. 19, p.1-7, 2007.
- COSTA-CASAGRANDE, T. A., ELIAS, D. S., MELO, S. R., MATERA, J. M. Estudo retrospectivo do mastocitoma canino no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais – Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 3, p. 206-213, 2008.
- CULLEN, J. M.; PAGE, R.; MISDORP, W. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis, and management. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. p. 3-27.
- DAVIES, D. R.; WYATT, K. M.; JARDINE, J. E.; ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J. Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 2, p. 124-130, 2004.
- DOBSON, J. M.; SCASE, J. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 8, p. 424-431, 2007.
- ELLING, H.; UNGEMACH, F.R. Sexual hormone receptors in canine mast cell tumor cytosol. **Journal of Comparative Oncology**, v. 92, n. 4, p. 629-630, 1982.

-
- ELSTON, L. B.; SUEIRO, F. A. R.; CAVALCANTI, J. N.; METZE, K. The importance of mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 2, p. 362-365, 2009.
- FOX, E. L. Mast Cell Tumors. In: MORRISON, B.W. Cancer in dogs and cats medical and surgical management. 1. ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1998. p. 479-488.
- FOX, L. E.; ROSENTHAL, R. C.; TWEDT, D. C.; DUBIELZIG, R. R.; MACEWEN, E. G.; GRAUER, G. F. Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.4, n.5, p. 242-246, 1990.
- FRIEMBERG, A. E.; MOORE, A. S.; LARUE, S. M.; GLIATTO, J. M.; BENGSTON, A. E. Radiotherapy of incompletely resected, moderately differentiated mast cell tumor in the dog: 37 dogs (1989-1993). **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 33, n. 4, p. 320-324, 1997.
- GERRITSEN, R. J.; TESKE, E.; KRAUS, J. S.; RUTTEMAN, G. R. Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. **The Veterinary Quarterly**, v. 10, n. 1, p. 28-31, 1998.
- GIEGER, T.; NORTHRUP, N.; WALL, M. Clinical management of mast cell tumors in dogs. **Compendium on Continuing Education of the Practicing Veterinarian**, v. 27, n. 1, p. 56-67, 2005.
- GILFILLAN, A. M.; TKACZYK, C. Integrated signaling pathways for mast-cell activation. **Nature reviews. Immunology**, v. 6, n. 3, p. 218-203, Mar. 2006.
- GINN, P. E.; FOX, L. E.; BROWER, J. C.; GASKIN, A.; KURZMAN, I. D.; KUBILIS, P. S. Immunohistochemical detection of p53 tumor-suppressor protein is a poor indicator of prognosis for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 1, p. 33-39, 2000.
- GLEIXNER, K. V.; MAYERHOFER, M.; AICHBERGER, K. J.; DERDAK, S.; SONNECK, K.; BÖHM, A.; GRUZE, A.; SAMORAPOOMPICHIT, P.; MANLEY, P. W.; FABBRO, D.; PICKL, W. F.; SILLABER, C.; VALENT, P. PKC412 inhibits in vitro growth of neoplastic human mast cells expressing the D816V-mutated variant of KIT: comparison with AMN107, imatinib, and cladribine (2CdA) and evaluation of cooperative drug effects. **Blood**, v. 107, n. 2, p. 752-759, 2006.

GLEIXNER, K. V.; REBUZZI, L.; MAYERHOFER, M.; GRUZE, A.; HADZIJUSUFOVIC, E.; SONNECK, K.; VALES, A.; KNEIDINGER, M.; SAMORAPOOMPICHIT, P.; THAIWONG, T.; PICKL, W. F.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; SILLABER, C.; WILLMANN, M.; VALENT, P. Synergistic antiproliferative effects of KIT tyrosine kinase inhibitors on neoplastic canine mast cells. **Experimental Hematology**, v. 35, n. 10, p. 1510–1521, 2007.

GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Iowa: Iowa State Press. 2002. p. 105-107.

GOVIER, S. M. Principles of treatment for mast cell tumors. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p.103-106, 2003.

GRANT, I. A.; RODRIGUEZ, C. O.; KENT, M. S.; SFILGOI, K. G.; DAVIS, G. G.; LORD, L.; LONDON, C. A. A phase II clinical trial of vinorelbine in dogs with cutaneous mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p. 388-393, 2008.

GUNDERSEN, H. J. G.; BAGGER, P.; BENDTSEN, T.; EVANS, S. M.; KORBO, L.; MARCUSSEN, N.; MOLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAARD, J. R.; PAKKENBERG, B.; SORENSEN, F. B.; VESTERBY, A.; WEST, M. J. The new stereological tools:disector, fractionator, nucleator and point sample intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **APMIS**, v. 96, n. 10, p. 857-881, 1988.

GUNDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B. Stereological estimation of the volume-weighted mean volume of arbitrary particles observed on random sections. **Journal of Microscopy**, v. 138, n. pt2, p. 127-142, 1985.

HAHN, K. A.; OGILVIE, G.; RUSK, T.; DEVAUCHELLE, P.; LEBLANC, A.; LEGENDRE, A.; POWERS, B.; LEVENTHAL, P. S.; KINET, J. P.; PALMERINI, F.; DUBREUIL, P.; MOUSSY, A.; HERMINE, O. Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1301-1309, 2008.

HOSOYA, K.; KISSEBERTH, W. C.; ALVAREZ, F. J.; LARA-GARCIA, A.; BEAMER, G.; STROMBERG, P. C.; COUTO, G. C. Adjuvant CCNU (Lomustine) and prednisone chemotherapy for dogs with incompletely excised grade 2 mast cell tumors. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 45, n. 1, p. 14-18, 2009.

HOWARD, C. V.; REED, M. G. **Unbiased Stereology. Three-dimensional measurement in microscopy.** Oxford Bios Scientific Publishers, 2005.

ISHIGURO, T.; KADOSAWA, T.; MORI, K.; TAKAGI, S.; OKUMURA, M.; FUJINAGA, T. Establishment and characterization of a new canine mast cell tumor cell line. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 63, n. 9, p. 1031-1034, Sep. 2001.

ISOTANI, M.; ISHIDA, N.; TOMINAGA, M.; TAMURA, K.; YAGIHARA, H.; OCHI, S.; KATO, R.; KOBAYASHI, T.; FUJITA, M.; FUJINO, Y.; SETOGUCHI, A.; ONO, K.; WASHIZU, T.; BONKOBARA, M. Effect of Tyrosine Kinase Inhibition by Imatinib Mesylate on Mast Cell Tumors in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 985-988, 2008.

JAFFE, M. H.; HOSGOOD, G.; TAYLOR, H. W. Immunohistochemical and clinical evaluation of P53 in canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 1, p. 37-40, 2000.

JOHNSON, T. O.; SCHULMAN, F. Y.; LIPSCOMB, T. P.; YANTIS, L. D. Histopathology and biologic behavior of pleomorphic cutaneous mast cell tumors in fifteen cats. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 4, p. 452-457. Jul. 2002.

JUNG, D-I.; KIM, H – J.; PARK, C.; KIM, J –W.; KANG, B-T.; LIM, G. Y.; PARK, E – H.; SUR, J-H.; SEO, M-H.; HAHM, D-H.; PARK. H –M. Long-term chemotherapy with lomustine of intracranial meningioma occurring in a miniature Schnauzer. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n. 4, p. 383-386, Apr. 2006.

KHANNA, C.; GORDON, I. Catching cancer by the tail: new perspectives on the use of kinase inhibitors. **Clinica Cancer Research**, v. 15, n. 11, p. 3645-3647, 2009.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 4, p. 371-377, 2004.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; MILLER, R. A.; KANEENE, J. B. Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. **Journal of Veterinary Medical and Physiological Pathological Clinical Medicine**, v. 52, n. 6, p. 280-286, 2005.

KIUPEL, M.; WEBSTER, J. D.; MILLER, R. A.; KANEENE, J. B. Impact of tumors depth, tumors location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine

cutaneous mast cell tumors. **Journal of Veterinary Medicine Series A. Physiology, Pathology and Clinical Medicine**, v. 52, n. 6, p. 280-286, aug., 2005.

KOBIE, K.; KAWABATA, M.; HIOKI, K.; TANAKA, A.; MATSUDA, H.; MORI, T.; MARUO, K. The tyrosine kinase inhibitor imatinib (sti571) induces regression of xenografted canine mast cell tumors in SCID mice. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 239-241, 2007.

KODRE, V.; CEMAZAR, M.; PECAR, J.; SERSA, G.; CÖR, A.; TOZON, N. Eletrochemotherapy Compared to Surgery for Treatment of Canine Mast Cell Tumours. **In Vivo**, v. 23, n.1, p. 55-62, 2009.

KRICK, E. L.; BILLINGS, A. P.; SHOFER, F. S.; WATANABE, S.; SORENMO, K. U. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 2, p. 130–138, 2009.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins e cotran – patologia – bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 1592.

LADEKARL, M. Choice of methodology for quantifying cancer structures in tissue sections. A comparison of 2- and 3-dimensional estimators of mitotic activity, cellularity and nuclear size in breast cancer. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v. 26, n. 2, p. 97-104, 2004.

LADEKARL, M.; JENSEN, V.; NIELSEN, B. Total number of cancer cell nuclei and mitoses in breast tumors estimated by optical disector-analytical and quantitative. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v. 19, n. 4, p. 329-337, 1997.

LANGENBACH, A.; McMANUS, P. M.; HENDRICK, M. J.; SHOFER, F. S.; SONREMO, K. U. Sensitivity and specificity of methods for assessing the regional lymph nodes in dogs and cats with solid tumors. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 9, p. 1424-1428, 2001.

LANGFORD, L. A.; COOKSLEY, C. S.; DEMONTE, F. Comparasion of MIB-1 (Ki-67) antigen and bromodeoxyuridine proliferation indices in meningiomas. **Human Pathology**, v. 27, n. 4, p. 350-354, 1996.

LAVALLE, G. E.; ARAÚJO, R. B.; CARNEIRO, R. A. Tratamento clínico e cirúrgico de mastocitomas em cães. **A Hora Veterinária**, v. 22, p. 06-14. 2003.

LAVALLE, G. E.; CARNEIRO, R. A.; PEREIRA, L. C. Punção aspirativa por agulha fina para diagnóstico de mastocitoma em cães. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 4, p. 500-502, Aug. 2003.

LEMARIÉ, R.; LEMARIÉ, S.; HEDLUND, C. Mast cell tumors: clinical management. **Compendium on Continuing Education of the Practicing Veterinarian**, v. 17, p. 1085-1101, 1995.

LETARD, S.; YANG, Y.; HANSSENS, K.; PALMÉRINI, F.; LEVENTHAL, P. S.; GUÉRY, S.; MOUSSY, A.; KINET, J. P.; HERMINE, O.; DUBREUIL, P. Gain of function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine cancer tumor. **Molecular Cancer Research**, v. 6, n. 7, p. 1137-1145, 2008.

LEVINE, R. A.; FLEISCHLI, M. A. Inactivation of p53 and retinoblastoma family pathways in canine osteosarcoma lines. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 1, p. 54-61, 2000.

LIN, T. Y.; BEAR, M.; DU, Z.; FOLEY, K. P.; YING, W.; BARSOUM, J.; LONDON, C. The novel HSP90 inhibitor STA-9090 exhibits activity against Kit-dependent and -independent malignant mast cell tumors. **Experimental Hematology**, v. 36, n. 10, p. 1266-1277, 2008.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEIN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the 2^{-Delta DeltaC(T)} method. **Methods**, v. 4, n. 25, p. 402-408, Dec. 2001.

LONDON, C. A.; GALLI, S. J.; YUUKI, T.; HU, Z. Q.; HELFAND, S. C.; GEISLER, E. N. Spontaneous canine mast cell lines. **Veterinary Pathology**, v. 27, p. 689-697, 1999.

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

LONDON, C. A.; HANNAH, A. L.; ZADOVOSKAYA, R.; CHIEN, M. B.; KOLLIAS-BAKER, C.; ROSENBERG, M.; DOWNING, S.; POST, G.; BOUCHER, J.; SHENOY, N.; MENDEL, D.B.; MCMAHON, G.; CHERRINGTON, J.M. Phase I Dose-Escalating Study of SU11654, a Small Molecule Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, in Dogs with Spontaneous Malignancies. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. 7, p. 2755-2768, Jul. 2003.

LONDON, C. A.; KISSEBERTH, W. C.; GALLI, S. J.; GEISLER, E. N.; HELFAND, S. C. Expression of stem cell factor receptor (c-kit) by the malignant mast cell from spontaneous canine mast cell tumors. **Journal of Comparative Pathology**, v. 115, n. 4, p. 399-414, 1996.

LONDON, C. A.; MALPAS, P. B.; WOOD-FOLLIS, S. L.; BOUCHER, J. F.; RUSK, A. W.; ROSENBERG, M. P.; HENRY, C. J.; MITCHENER, K. L.; KLEIN, M. K.; HINTERMEISTER, J. G.; BERGMAN, P. J.; COUTO, G. C.; MAULDIN, G. N.; MICHELS, G. M. Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. **Clinical Cancer Research**, v.15, n. 11, p. 3856-3865, 2009.

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

MADEWELL, B. R. Cellular proliferation in tumors: a review of methods, interpretation, and clinical applications. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15; n. 4; p. 334-340, July-Aug., 2001.

MAGLENNON, G. A.; MURHY, S.; ADAMS, V.; MILLER, J.; SMITH, K.; BLUNDEN, A.; SCASE, T. J. Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 4, p. 268–274, 2008.

MAIOLINO, P.; CATALDI, M.; PACIELLO, O.; RESTUCCI, B.; DE VICO, G. Nucleomorphometric analysis of canine cutaneous mast cell tumours. **Journal of Comparative Pathology**, v. 133, n. 2-3, p. 209–211, 2005.

MARCONATO, L.; BETTINI, G.; GIACOBONI, C.; ROMANELLI, G.; CESARI, A.; ZATELLI, A.; ZINI, E. Clinicopathological Features and Outcome for Dogs with Mast Cell Tumors and Bone Marrow Involvement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22 , n. 22, p. 1001-1007, 2008.

MARCONATO, L.; MARCHETTI, V.; FRANCIONE, D.; MASSERDOTTI, C.; GREGORI, M.; LEOTTA, R.; ABRAMO, F. Morphometrical approach for predicting

regional lymph node micrometastatic load in canine mast cell tumours: preliminary results. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 3, p. 167-170, 2008.

MATSUDA, K.; SAKAGUCHI, K.; KOBAYASHI, S.; TOMINAGA, M.; HIRAYAMA, K.; KADOSAWA, T.; TANIYAMA, H. Systemic candidiasis and mesenteric mast cell tumor with multiple metastases in a dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71, n. 2, p. 229-232, 2009.

MATTFELDT, T.; TRIJIC, D.; GOTTFRIED, H. W., KESTLER, H. A. Incidental carcinoma of the prostate: clinicopathologica, stereological and immunohistochemical findings studied with regression and self-organizing feature maps. **BJU International**, v. 93, n. 3, p. 284-290, 2004.

MAYER, A. N. Radiation therapy for canine mast cell tumors. **Canadian Veterinary Journal**, v.47, n. 3, p. 263-265, 2006.

MAYHEW, T. M.; GUNDERSEN, H. J. G. "If you assume, you can make an ass out of u and me": a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. **Journal of Anatomy**, v. 188, n. pt1, p. 1-15, 1996.

MAYHEW, T. M.; OLSEN, D. R. Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. **Journal of Anatomy**, v. 178, p. 133-144, 1991.

McCAW, D. L.; MILLER, M. A.; BERGMAN, P. L.; WITHROW, S. T.; MOORE, A. S.; KNAPP, D. W.; FOWLER, D.; JOHNSON, J. C. Vincristine therapy for canine mast cell tumor: 41 cases (1992-1997). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 6, p. 375-378, 1997.

MICHELS, G. M.; KNAPP, D. W.; DENICOLA, D. B.; GLICKMAN, N.; BOONEY, P. Prognosis following surgical excision of canine cutaneous mast cell tumors with histopathologically tumor-free versus nontumor-free margins: a retrospective study of 31 cases. **Journal of American Animal Hospital Association**, n. 38, n. 5, p. 458-466, Sep-Oct. 2002.

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

MIYOSHI, N.; TOJO, E.; OISHI, A.; FUJIKI, M.; MISUMI, K.; SAKAMOTO, H.; KAMEYAMA, K.; SHIMIZU, T.; YASUDA, N. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein (PGP) and multidrug resistance-associated protein (MRP) in canine cutaneous mast cell tumors. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 6, p. 531-533, 2002.

MULLINS, M. N.; DERNELL, W. S.; WITHROW, S. J.; EHRHART, E. J.; THAMM, D. H.; LANA, S. E.. Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998–2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 1, p. 91–95, 2006

MURPHY, S; SPARKES, A. H.; BLUNDEN, A. S.; BREARLEY, M. J.; SMITH K. C. Effects of stage and number of tumors on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. **Veterinary Records**, v. 158, n. 4, p. 287-291, 2006.

MURPHY, S; SPARKES, A. H.; SMITH K. C.; BLUNDEN, A. S.; BREARLEY, M. J. Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumors in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. **Veterinary Record**, v. 154, n. 24, p.743-746, 2004.

NASIR, L.; BURR, P. D.; McFARLANE, S. T.; GAULT, E.; THOMPSON, H.; ARGYLE, D. J. Cloning sequence analysis and expression of the cDNAs encoding the canine and equine homologues of the mouse double minute 2 (mdm2) proto-oncogene. **Cancer Letters**, v. 152, n.1, p. 9-13, 2000.

NASIR, L.; RUTTERMAN, G.R., REID, S.W.J.; SCHULZE, Ch.; ARGYLE, D.J. Analysis of P53 mutational events and mdm2 amplification in canine soft-tissue sarcomas. **Cancer Letters**, v.174, n.1, p. 83-89, 2001.

NEDERGAARD, B. S.; LADEKARL, M.; NYENGAARD, J. R.; NIELSEN, K. A comparative study of cellular immune response in patients with stage IB cervical carcinoma squamous cell carcinoma. Low numbers of several immune cell subtypes are strongly associated with relapse of disease within 5 years. **Gynecology Oncology**, v. 8, n. 1, p. 106-111, 2008.

NEDERGAARD, B. S.; LADEKARL, M.; THOMSEN, H. F.; NYENGAARD, J. R.; NIELSEN, K. Low density of CD3+, CD4+ and CD8+ cells is associated with increased risk of relapse in squamous cell cervical cancer. **British Journal of Cancer**, v. 97, n. 8, p. 1135-1138. 2007.

NEWMAN, S. J.; MRKONJICH, L.; WALKER, K. K.; ROHRBACH, B. W. Canine subcutaneous mast cell tumors: diagnosis and prognosis. **Journal of Comparative Pathology**, v.136, n. 4, p. 231-239, 2007.

NORTHRUP, N. C.; HOWERTH, E. W.; HARMON, B. G.; BROWN, C. A.; CAMICHEAL, K. P.; GARCIA, A. P.; LATIMER, K. S.; MUNDAY, J. S.; RAKICH, P. M.; RICHEY, L. J.; STEDMAN, N. L.; GIEGER, T. L. Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 6, p. 561-564, Nov., 2005.

O'BRATE, A.; GIANNAKAKOU, P. The importance of P53 location:nuclear or cytoplasmic zip code? **Drug Resistance Updates**, v. 6, n. 6, p. 561-564, 2005.

OHMORI, K.; KAWARAI, S.; YASUDA, N.; TANAKA, A.; MATSUDA, H.; NISHIMURA, R.; SASAKI, N.; TSUJIMOTO, H.; MASUDA, K. Identification of *c-kit* mutations-independent neoplastic cell proliferation of canine mast cell. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 126, n. 1-2, p. 43-53, 2008.

OGILVIE, G. K.; MOORE, A. S. Mast Cell Tumors. In: OGILVIE, G. K.; MOORE, A. S. **Managing the Veterinay Cancer Patient: A Practice Manual**. 1. ed. New Jersey: Veterinary Learning Systems, 1995. p. 503-510.

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

ORDEIX, L.; FONDEVILA, D.; DE MORA, F.; FONDATI, A.; FERRER, L. Assessment of proliferative activity of canine dermal mast cells by Bromodeoxyridine and proliferating cell nuclear antigen labelling. **Veterinary Dermatology**, v. 12, n. 6, p. 321-325, Dec. 2001.

OZAKI, K.; YAMAGAMI, T.; NOMURA, K.; NARAMA, I. Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 5, p. 557-564, 2002.

OZAKI, K.; YAMAGAMI, T.; NOMURA, K.; NARAMA, I. Prognostic significance of surgical margin, Ki-67 na cyclin D1 protein expression in grade II canine cutaneous mast cell tumor. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 69, n. 11, p. 1117-1121, Nov. 2007.

PATNAIK, A.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumor: Morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, v.21, n.5, p. 469-474, 1984.

PREZIOSI, R.; MORINI, M.; SARLI, G. Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 6, p. 554-561, Nov. 2004.

PREZIOSI, R.; SARLI, G.; PALTRINIERI, M. Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 3, p. 287-296, 2007.

PRYER, N.; LEE, L. B.; ZADOVASKAYA, R.; YU, X.; SUKBUNTHERNG, J.; CHERRINGTON, J. M.; LONDON, C. A. Proof of target for SU11654: inhibition of KIT phosphorylation in canine mast cell tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. 15, p. 5729-5734, 2003.

PULLEY, L. T.; STANNARD, A. A. Skin and soft tissues. In: MOULTON, J. E. **Tumors in domestic animals**. 3. ed. Los Angeles: University of California Press, 1990. p. 38-44.

QUINN, C. M.; WRIGTH, N. A. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumors: evaluation of methods and application as prognostic variables. **Journal of Pathology**, v. 160, n. 2, p. 93-102, 1990.

RASSNICK, K. M.; BAILEY, D. B.; FLORY, A. B.; BALKMAN, C. E.; KISELOW, M. A.; INTILE, J. L.; AUTIO, K. Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumours. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1390-1396, 2008.

RASSNICK, K. M.; MOORE, A. S.; WILLIAMS, L. E.; LONDON, C. A.; KINTZER, P. P.; ENGLER, S. J.; COTTER, S. N. Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (Lomustine). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 6, p. 601-605, 1999.

RECH, R. R.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; SALLIS, E. S. V.; RAFFI, M. B.; GARMATZ, S. L. Mastocitoma cutâneo canino. Estudo de 45 casos. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 4, p. 441-448, 2004.

REGUERA, M. J.; RABANAL, R. M.; PUIGDEMONT, A.; FERRER, L. Canine mast cell tumors Express stem cell factor receptor. **Amerian Journal of Dermatopathology**, v. 22, n. 1, p. 49-54, 2000.

RIVA, F.; BRIZZOLA, S.; STEFANELLO, D.; CREMA, S.; TURIN, L. A study of mutations in the c-kit gene of 32 dogs with mastocytoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 4, p. 385-388, 2005.

ROMANSKI, E. M.; REILLY, C. M.; KASS, P. H.; MOORE, P. F.; LONDON, C. A. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 44, n.3, p. 335-341, 2007.

SAKAI, H.; NODA, A.; SHIRAI, N.; IIDAKA, T.; YANAI, T.; MASEGI, T. Proliferative activity of canine mast cell tumors evaluated by bromodeoxyuridine incorporation and Ki-67 expression. **Journal of Comparative Pathology**, v. 127, n. 4, p. 233-238, 2002.

SCASE, T.; EDWARDS, D.; MILLER, J.; HENLEY, W.; SMITH, K.; BLUNDEN, A.; MURPHY, S. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 1, p. 115-158, 2006.

SÉGUIN, B.; LEIBMAN, N. F.; BREGAZZI, V. S.; OGILVE, G. K.; POWERS, B. E.; DERNELL, W. S. D.; FETTMAN, M. J.; WITHROW, S. J. Clinical outcome of dogs with grade ii mast cell tumors treated with surgery alone: 55 cases (1996-1999). **Journal of Veterinary Medicine Association**, v. 218, n. 7, p. 1120-1123, 2001.

SETOGUSHI, A.; OKUDA, M.; NISHIDA, E.; YAZAWA, M.; ISHIZAKA, T.; HONGS, S.H.; HISASUE, M.; NISHIURA, R.; YOSHIKAWA, Y. MASUDA, K.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H. Results of hyperamplification of centrosomes in naturally developing tumors of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n.7, p. 1134-1141, 2001.

SIMOES, J. P.; SCHONING, P.; BUTINE, M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. **Veterinary Pathology**, v. 31, n. 6, p. 637-647, Nov. 1994.

SIMPSON, A. M.; LUDWIG, L. L.; NEWMAN, S. J.; BERGMAN, P. J.; HOTTINGER H. A.; PATNAIK, A. K.. Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 2, p. 236-240, 2004.

STEFANELLO, D.; VALENTI, P.; FAVERZANI, S.; BRONZO, V.; FIORBIANCO, V.; PINTO DA CUNHA, N.; ROMUSSI, S.; CANTATORE, M.; CANIATTI, M. Ultrasound-

guided cytology of spleen and liver: a prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 5, p. 1051-1057, 2009.

STERIO, D. C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the dissector. **Journal of Neuroscience Research**, v. 69, p. 745-749, 2007.

SFILIGOI, G.; RASSNICK, K. M.; SCARLETT, J; M; NORTHRUP, N. C.; GIEGER, T. L. Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous location:124 cases (1990-2001). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 8, p. 1368-1374, 2005.

STREFEZZI, R. F.; XAVIER, J. G.; CATÃO-DIAS, J. L. Morphometry of cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 3, p. 268-275, 2003.

STREFEZZI, R. F. S. **Indicadores de prognóstico para mastocitomas: Estudo morfométrico e imunoistoquímico**. 2007. 93 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SUEIRO, F. A. R.; DALECK, C. R.; ALESSI, A. C. Ultra-estrutura dos mastócitos de diferentes tipos histológicos de mastocitoma em cães. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n.3, p.255-258. Jun. 2002 .

TAKAHASHI, T.; KADOSAWA, T.; NAGASE, M.; MATSUNAGA, S.; MACHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; SASAKI, N. 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.

TAYLOR, F.; GEAR, R.; HOATHER, T.; DOBSON, J. Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 6, p. 284-289, 2009.

THAMM, D. H., MAULDIN, E. A.; VAIL, D. M. Prednisone and vinblastine chemotherapy canine mast cell tumour: 41 cases (1992-1997). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 491-497, 1999.

THAMM, D. H.; TUREK, M. M.; VAIL, D. M. Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vimblastine chemotherapy for highrisk canine mast cell tumors: 61 cases. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, p. 581-587, 2006.

THAMM, D. H.; VAIL, D. M. Mast cell tumors. In: WITHROW, S. J.; MacEWEN'S, E. G. **Small animal clinical oncology**. 4. ed. St. Louis, MO: Saunders Elsevier, 2007. p. 402-424.

TIZARD, I. R. Cómo se Activa la Inflamación. TIZARD, I. R. **Introducción a La Inmunología Veterinaria**. 8. ed. Barcelona: Elsevier Saunders. 2009. p. 11-27.

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

VEDEL-JENSEN, E. B.; GUNDERSEN, H. J. G. The rotator. **Journal of Microscopy**, v. 170, p. 35-44, 1993.

VICKERY, K. R.; WILSON, H.; VAIL, D. M.; THAMM, D. H. Dose-escalating vinblastine for the treatment of canine mast cell tumour. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 2, p. 111-119, 2008.

WALTER, J. H. Cytokeratins in the canine epidermis. **Veterinary Dermatology**, v. 12, n. 2, p. 81-87, 2001.

WEBSTER, J. D.; KIUPEL, M.; YUZHASIYAN-GURKAN, V. Evaluation of the kinase domain of c-KIT in canine cutaneous mast cell tumors. **BMC Cancer**, v. 6, n. 85, p. 1-8, 2006.

WEBSTER, J. D.; YUZHASIYAN-GURKAN, V.; KANEENE, J. B.; MILLER, R. A.; RESAU, J. H.; KIUPEL, M. The role of c-KIT in tumorigenesis: evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. **Neoplasia**, v. 8, n. 2, p. 104-111, 2006.

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

WEBSTER, J. D., YUZHASIYAN-GURKAN, V.; THAMM, D. H.; HAMILTON, E.; KIUPEL, M. Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. **BMC Veterinary Research**, v. 4, n. 32, p. 1-8, 2008.

WELLE, M.M.; BLEY, C. R.; HOWARD, J.; RÜFENACHT, S. Canine mast cell Tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. **Journal of Veterinary Oncology**, v. 19, n. 6, p. 321-339, 2008.

WU, H.; HAYASHI, T.; INOUE, M. Immunohistochemical expression of p27 and p21 in canine cutaneous mast cell tumors and histiocytomas. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 3, p. 296-299, 2004.

ZAVODOVSKAYA, R.; CHIEN, M. B.; LONDON, C. A. Use of kit internal tandem duplications to establish mast cell tumor cClonality in 2 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 6, p. 915-917, 2004.

ZEMKE, D.; YAMINI, B.; YUZBASIYAN-GURKAN, Y. Mutations in the juxtamembrane domain of c-Kit are associates with higher grade mast cell tumors in dogs. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 5, p. 529-535, 2002.