

SANGRAMENTO DIFUSO DE ABDÔMEN APÓS REMOÇÃO DE MASTOCITOMA CUTÂNEO CANINO – RELATO DE CASO

ABDOMEN DIFFUSE BLEEDING AFTER REMOVAL CUTANEOUS MAST CELL TUMORS - CASE REPORT

²SIMONETTI, F.; ¹SALIBA, R.; ¹FAGUNDES, R.; ²CASTRO, L. F. G.; ³BARBOSA, T.H.

¹Docente do Curso de Medicina Veterinária – Faculdades Integradas de Ourinhos-FIO/FEMM

²Discente do Curso de Medicina Veterinária – Faculdades Integradas de Ourinhos-FIO/FEMM

³Médico Veterinário Autônomo – Centro Médico Veterinário de Ourinhos

RESUMO

O mastocitoma é a neoplasia de pele mais comum em cães, sendo que podem se desenvolver em várias localizações. As raças braquicefálicas são as mais atingidas não havendo predisposição sexual. Animais de meia idade a idosos são comumente afetados. Os animais afetados podem apresentar sinais paraneoplásicos. A liberação de heparina por parte dos mastocitomas provoca problemas locais de coagulação que se manifestam como tendência a hemorragias durante a retirada cirúrgica. O diagnóstico é confirmado pelo exame histopatológico utilizando-se a coloração de hematoxilina e eosina (H.E.). O tratamento depende da localização e apresentação do tumor, podendo ser cirúrgico, radioterápico e quimioterápico ou ainda a associação destes. Foi relatado um caso de mastocitoma localizado na região da pálpebra superior esquerda, vulva e região medial do fêmur. Canino, fêmea da raça Labrador, 10 anos de idade, sendo submetida ao tratamento de citorredução, utilizando-se vimblastina (2mg/m²) e prednisona (20mg/m²) seguido de remoção cirúrgica dos nódulos juntamente com o procedimento de ovariosalpingohisterectomia (OSH). O objetivo do presente trabalho foi de relatar os resultados da associação de cirurgias em pacientes oncológicos e avaliação do cálcio ionizado como fator prognóstico.

Palavras-chave: Mastocitoma, Cão, Quimioterapia, OSH.

ABSTRACT

The MCT is the most common skin neoplasm in dogs, and can develop in several locations. The brachycephalic breeds are the most affected with no sexual predisposition. Animals of middle aged and elderly people are commonly affected. Affected animals may show signs paraneoplastic. The release of heparin by mast cell causing local clotting problems that manifest as a tendency to hemorrhage during surgical excision. The diagnosis is confirmed by histological examination using the hematoxylin and eosin (HE). Treatment depends on the location and presentation of the tumor, which can be surgical, radiotherapy and chemotherapy or a combination thereof. We report a case of mast cell tumor located in the upper left eyelid, vulva and medial region of the femur. Dog, Labrador female, 10 years old, being subjected to the treatment of cytoreduction, using vinblastine (2mg/m²) and prednisone (20mg/m²) followed by surgical removal of nodules with the procedure of ovariohysterectomy (OSH). The aim of this study was to report the results of the combination of surgery in cancer patients and evaluation of ionized calcium as a prognostic factor.

Keywords: Mastocytoma, Dog, Chemotherapy, OSH.

INTRODUÇÃO

O mastocitoma cutâneo canino (MTC) é uma neoplasia de grande importância na clínica de animais de companhia devido sua alta incidência, sendo mais comum em animais de meia idade a idosos, raças braquicefálicas (COUTO, 2007), não evidenciando relatos de predileção sexual. (THAMM; VAIL, 2007).

A etiologia e os eventos moleculares e genéticos que contribuem para a gênese da neoplasia durante o desenvolvimento e progressão ainda não está bem elucidada, porém estudos recentes demonstram anormalidades na proteína p53 e super expressão do *c-kit*. (HAYASHI ; INOUE, 2004; TURIN et al., 2006, WEBSTER, et al., 2007). Possui comportamento clínico agressivo e dificuldade de excisão cirúrgica com margens seguras.

Quando encontrada em regiões como lábios, prepúcio, escroto e regiões mucocutâneas, a neoplasia pode estar associada a uma maior agressividade tumoral. (THAMM e VAIL, 2007).

O envolvimento sistêmico desta neoplasia leva a sinais clínicos como êmese, hematêmese, anorexia, melena e anemia. O MTC geralmente ocorre como nódulos solitários, entretanto, de 10 a 15% dos cães apresentam tumores múltiplos (LONDON,2003).

Um mastocitoma típico é uma lesão dermo epidérmica, em forma de cúpula, alopecica e eritematosa; entretanto, raramente possui aparência típica. O sinal de Darier, que consiste em eritema e formação de erupção após pequeno traumatismo do tumor é uma característica clínica que pode auxiliar no diagnóstico de um mastocitoma. (NELSON ; COUTO, 2001; THAMM; VAIL, 2007).

Os cães com MTC podem ser tratados através de procedimentos cirúrgicos, radioterapia, quimioterapia ou com uma combinação destas. As duas primeiras opções de tratamento são potencialmente curativas, ao passo que a quimioterapia é apenas paliativa (NELSON; COUTO, 2001).

O diagnóstico geralmente é estabelecido através de exame citológico, histopatológico e sinais clínicos (JOHNSON et al., 2002, RECH et al., 2004).

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é vantajosa, pois é um método pouco invasivo, com poucos riscos para o paciente, reduz a agressão ao processo neoplásico e auxilia bastante no diagnóstico desta neoplasia. (GOLDSCHMIDT ; HENDRICK, 2002; ILAVALLE, et al, 2003).

Geralmente, há relação da citologia com a histopatologia, porém nos mastocitomas indiferenciados (grau III) esta relação nem sempre é possível de ser realizada. (ILAVALLE, et al, 2003).

A PAAF pode indicar o grau de malignidade, porém, a histopatologia é mais indicada para a classificação. (SUEIRO et al., 2002).

Torres Neto (2008) adaptou a classificação histopatológica estabelecida por Partnaiket al. (1984) para o diagnóstico citopatológico. Nessa graduação considera-se a quantidade de grânulos citoplasmáticos e núcleo atípico, onde o grau I é considerado bem diferenciado, ou seja, mastócitos com elevado número de grânulos metacromáticos, núcleo pequeno, arredondado e uniforme; o grau II, moderadamente diferenciados, onde apresenta variação de tamanho, forma nuclear e menor quantidade de grânulos; o grau III corresponde a tumores pouco diferenciados, com variação do núcleo em relação a tamanho e forma, com pouco ou nenhum grânulo citoplasmático, presença de células binucleadas, multinucleadas e figuras de mitoses atípicas que também podem ser visualizadas. Para um diagnóstico diferencial e prognóstico acurado, é necessário avaliar o grau histopatológico pelo método de rotina da hematoxilina-eosina (HE), com auxílio de colorações especiais como azul de toluidina e região organizadora nucleolar argirofílica (AgNOR).

O objetivo do presente trabalho foi de relatar os resultados da associação de cirurgias em pacientes oncológicos e avaliação do cálcio ionizado como fator prognóstico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

RELATO DE CASO

Foi atendido no Centro Médico Veterinário de Ourinhos, um cão, fêmea, da raça Labrador, 10 anos de idade apresentando aumento de volume localizado em região de pálpebra superior esquerda, de aproximadamente, 2cm de diâmetro, nódulo em região de vulva, de aproximadamente, 3cm de diâmetro e em região medial externa do fêmur, de aproximadamente, 7cm de diâmetro. Foi solicitado ao Serviço de Patologia Veterinária, exame complementar de rotina PAAF. Realizou-se o esfregaço do material, em seguida, algumas lâminas foram coradas pelo método de Panótico Rápido, as restantes realizou-se a coloração por Giemsa.

Posteriormente, foi utilizado microscópio óptico para a avaliação, constatando-se o diagnóstico presuntivo de mastocitoma de grau I.

Foi realizado o tratamento inicial de citorredução com vimblastina (2mg/m²), pela via intravenosa (IV), a cada 7 dias consecutivos e prednisona (20mg/m²) por via oral (VO) a cada 24h por três sessões. Após o tratamento inicial, realizou-se a remoção cirúrgica dos nódulos juntamente com o procedimento de ovariosalpingohisterectomia (OSH). Seguido desse procedimento, foi coletado sangue, através da veia jugular, para a realização do método de rotina de gasometria, eletrólitos e hemograma completo do paciente (Tabela 1 e 2). Após três horas do procedimento cirúrgico, o paciente apresentou aumento de volume abdominal e queda de hematócrito (Ht) de 33% para 18% (Tabela 2), caracterizando sinais de hemorragia abdominal, constatados através do exame de rotina de paracentese abdominal. O paciente foi encaminhado, novamente, ao centro cirúrgico para a realização da laparotomia exploratória, sendo constatado sangramento difuso na cavidade abdominal. Seguido deste procedimento foi, novamente, realizado a coleta de material sanguíneo para efetuar o exame de rotina de gasometria onde observou-se também, maior alteração nos valores de cálcio ionizado (Tabela 1).

Foi realizado a administração de cálcio (1 ml/Kg) diluído em solução de cloreto de sódio 0,9% (IV) associando-se uma bolsa de sangue total (IV) em vias separadas.

Tabela 1. Resultados obtidos através de amostra sanguínea venosa de gasometria.

Data/Hora	PCO ₂	Po ₂	tHb	Hct	iCa	cHCO ₃	ctCO ₂ (B)	ctCo ₂ (P)
11-03-2011/ 19h26min	25.1 mmHg	41.9 mmHg	15.2 g/dl	33.1%	1.125 mmol/L	12.2 mmol/L	10.9 mmol/L	13.0 mmol/L
11-03-2011/ 22h05min	24.1 mmHg	33.6 mmHg	13.9 g/dL	31.4%	1.086 mmol/L	11.6 mmol/L	10.6 mmol/L	12.3 mmol/L
12-03- 2011/00h33min	25.1 mmHg	41.9 mmHg	10.2 g/dl	18.5%	0.409 mmol/L	14.0 mmol/L	13.3 mmol/L	14.9 mmol/L
12-03-2011/ 01h20min	21.5 mmHg	34.1 mmHg	14.5 g/dl	28.3 %	0.807 mmol/L	13 mmo/L	11.5 mmol	13.7 mmol/L
12-03-2011/ 02h24min	27.4 mmHg	35.3 mmHg	14.8 g/dl	31.6%	1.021 mmol/L	14.2 mmol/L	12.7 mmol/L	15 mmol/L
12-03- 2011/03h23min	19.7 mmHg	52.2 mmHg	16 g/dl	32 %	1.102 mmol/L	15.2 mmol/L	13.1 mmol/L	16.0 mmol/L

O paciente respondeu adequadamente ao tratamento, recebendo alta após quatro dias de hospitalização e, recomendação de mais três sessões semanais de quimioterapia, com vimblastina e prednisona na mesma dosagem.

Tabela 2. Resultados obtidos através de sangue venoso de hemograma.

	Data/Hora			
	12-03-2011/ 09h43min	12-03-2011/ 10h51min	13-03-2011/ 07h47min	14-03-2011/ 10h02min
Leucócitos (x10³/μL)	8.6	5.3	6.4	15.5
Hemácias (x10⁶/μL)	5.26	4.22	4.63	4.54
Hemoglobulina (g/dl)	11.8	9.4	10.3	10.1
Hematócrito (%)	35.0	28.2	31.0	30.4
VGM (fL)	66.5	66.8	67.0	67.0
HGM (pg)	22.4	22.3	22.2	22.2
CHGM (g/dL)	33.7	33.3	33.2	33.2
Plaquetas (x10³/μL)	215	170	183	205
Linfócitos Absoluto (%)	5.8	10.2	4.8	4.7
Neutrófilos Absoluto (%)	77.8	75.5	86.0	92.7
Eosinófilos Absoluto (%)	16.4	14.3	9.2	2.6
Linfócitos Relativo (x10³/μL)	0.5	0.5	0.3	0.7
Neutrófilos Relativo (x10³/μL)	6.7	4.0	5.5	14.4
Eosinófilos Relativo (x10³/μL)	1.4	0.8	0.6	0.4

Nos cães, os MTCs surgem freqüentemente na derme e tecidos subcutâneos (THAMM ; VAIL, 2007), com 50% dos tumores localizados no tronco ou períneo, 40% nas extremidades e 10% nas regiões da cabeça e pescoço(COUTO, 2007), no qual, no presente relato, apresentaram-se nódulos na região palpebral esquerda, região medial de fêmur e proximal de vulva.

Os mastocitomas oscilam entre, relativamente, benignos a extremamente agressivos, levando à metástase e eventual morte por doença sistêmica (LONDON, 2003). O potencial de metástase de tumores bem diferenciados é baixo, menor que 10 %, e paratumores indiferenciados, oscilam entre 55% e 96%. (THAMM ; VAIL , 2007).

Tumores na área prepucial/inguinal e em locais muco cutâneos, incluindo a cavidade oral e períneo, sendo geralmente tumores indiferenciados que metastizam precocemente durante o curso da doença (THAMM ; VAIL, 2007), fato não observado no caso, não apresentando sinais de metástase tumoral, mesmo após prolongado espaço de tempo, desde a primeira observação da massa tumoral.

A avaliação de um cão com suspeita de MTC deve incluir o diagnóstico de PAAF das áreas acometidas. (NELSON ; COUTO, 2001). A massa tumoral do cão relatado, contudo foi diagnosticada através da citologia, podendo então ser estabelecida a conduta terapêutica. A maioria dos cães com mastocitoma apresenta hemograma normal, embora, eosinofilia, basofilia, mastocitemia, neutrofilia, trombocitose e/ou anemia possam estar presentes. (NELSON ; COUTO, 2001), (Tabela 2).

Segundo Thamm e Vail (2007), anormalidades da coagulação podem ocorrer geralmente devido a liberação de heparina dos grânulos dos mastócitos. Enquanto a evidência clínica de hemorragia não é tipicamente associada a esse fenômeno, hemorragia localizada no momento da cirurgia devido à degranulação, seguida da manipulação do tumor pode ser uma complicação séria, mesmo na presença de parâmetros de coagulação normais no pré-cirúrgico. Isto foi evidenciado nesse caso, já que houve uma grande hemorragia difusa, após a associação da remoção dos nódulos com o procedimento de OSH.

Atraso na cicatrização da ferida, no local da remoção do mastocitoma, tem sido atribuído aos efeitos locais de enzimas proteolíticas e aminas vasoativas liberadas pelo tumor. (THAMM ; VAIL, 2007).

Os mastócitos presentes no tecido conjuntivo contêm principalmente heparina em seus grânulos, enquanto os localizados na mucosa do trato digestivo contêm condroitino-sulfato. Os mastócitos de mucosa liberam histamina para facilitar a ativação das células parietais do estômago para produção de ácido clorídrico. (GARTNER ; HIATT, 2003).

O excesso de histamina visto em mastocitomas estimula receptores H2 gástricos, levando a secreção ácida gástrica, que em combinação com dano vascular (THAMM ;VAIL, 2007), explica o fato dos cães com tumores de mastócitos ocasionalmente apresentarem úlceras gástricas, no qual, no caso relatado, o paciente não apresentou esses sintomas.

A excisão cirúrgica é indicada quando o tumor é solitário e o tratamento de escolha para MTCs de grau I e II. Mastocitomas de grau III ou metastáticos são melhores tratados com quimioterapia e/ou terapia paliativa (MOORE , 2005). No caso relatado, apresentava a neoplasia de grau I, não apresentando sinais metastáticos, realizando-se o tratamento inicial de citorredução com quimioterápicos, seguido da remoção cirúrgica indicada, repetindo após o procedimento três sessões de quimioterapia, buscando melhores resultados.

Considerações cirúrgicas incluem margens amplas com remoção de pelo menos 3 cm de pele, aparentemente normal, ao redor do tumor, quando possível.

A recomendação de 3 cm é uma orientação e pode não ser viável quando o tumor está localizado na face, extremidades de membros ou região inguinal. A maioria dos mastócitos se estende, lateralmente, aos tecidos adjacentes, ao invés de profundamente aos músculos. (OGILVIE, 2006).

Conforme observado nesse caso, as margens de segurança foram corretamente respeitadas, devido o auxílio da citorredução, realizada pelos quimioterápicos.

Segundo Mc Gavin (2009), os sinais paraneoplásicos, como a hipercalcemia, é observada em tumores funcionais da glândula paratireóide, que produz o paratormônio (PTH) em excesso, o principal regulador dos níveis de cálcio no corpo, o que não foi observado neste relato. Na grande maioria dos casos, no entanto, a hipercalcemia de malignidade é decorrente da produção ectópica de PTH e de proteínas relacionadas ao paratormônio em tecidos neoplásicos, incluindo ampla variedade de carcinomas e sarcomas.

Holowaychuk(2009), relatou em um estudo crítico sobre hipocalcemia ionizada (IHCA), em cães associado à seres humanos doentes e observou-se a queda dos valores normais de cálcio ionizado (iCa), após procedimentos cirúrgicos.

Avaliando-se cães e gatos saudáveis, também, foi confirmada a queda dos valores de iCa em pós operatório, assim como, foi observado no presente relato. O mesmo autor citou, que dos cães que foram encaminhados para a UTI após

qualquer procedimento cirúrgico, foram posteriormente excluídos do estudo, o que pode ter mascarado a população de cães potencialmente apresentando maior incidência de IHCA.

A utilização da terapia com a conduta terapêutica de glicocorticóide, freqüentemente, resulta em parcial ou, ocasionalmente, completa remissão de mastocitomas caninos (OGILVIE, 2006), presumivelmente, como resultado dos efeitos antiinflamatórios em conjunto com a inibição de células neoplásicas (BAKER-GABB, 2003). Receptores de glicocorticóides foram encontrados, recentemente, no citoplasma de mastócitos neoplásicos caninos. Os glicocorticóides inibem a proliferação de mastócitos neoplásicos e, aparentemente induzem a apoptose das células tumorais (THAMM ; VAIL, 2008). A resistência do tumor pode ser causada pela emergência de mastócitos com menor número de receptores ou com receptores inefetivos. (OGILVIE, 2006).

A dose de prednisona pode ser 0,5 mg/kg uma vez ao dia (OGILVIE, 2006) ou variando de 2mg/kg/dia por uma semana e reduzida para 1mg/kg/dia e até 1mg/kg acada 48 horas (THAMM ; VAIL, 2007). Conforme observado por Stanclift (2008), o tratamento com prednisona neoadjuvante parece ser útil na indução da redução de mastocitomas e pode facilitar a ressecção quando margens cirúrgicas adequadas não podem ser, confiavelmente, alcançadas por causa da localização da massa ou tamanho ou ambos. O cão descrito recebeu dose de vimblastina (2mg/m²) (IV) e prednisona (20mg/m²) (VO) previamente à cirurgia, sendo observada a diminuição aparente dos nódulos, facilitando dessa forma, a remoção cirúrgica.

De acordo com programa de tratamento, recomendado por Couto (2007), um cão com mastocitoma avançado deve ser tratado com prednisona, com ou sem cimetidina e/ou sucralfato. Se não for observada resposta dentro de uma ou duas semanas, deve ser iniciada a quimioterapia com lomustina; se este tratamento falhar, podem ser usadas ciclofosfamida, prednisona e vimblastina.

CONCLUSÃO

O tratamento prévio com vimblastina e prednisona associada obtiveram bons resultados, esperando-se citorredução da neoplasia, juntamente com a remoção cirúrgica da mesma. Porém, a associação de técnicas cirúrgicas distintas e remoção de tumores, não responderam com sucesso, devido à fatores biológicos das células de mastócitos neoplásicos e a alta depressão de cálcio ionizado, no pós operatório.

A avaliação constante de cálcio ionizado durante o tratamento de neoplasias e pós-cirúrgico, sem dúvida, é um fator importante como fator prognóstico. Dessa forma, pacientes portadores de neoplasias, devem receber atenção especial e cuidados em relação a condutas no tratamento, associação de procedimentos cirúrgicos e especialmente procedimento pós-operatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUTO GC. Mast cell tumors in dogs. 56° Congresso Internazionale Multisala SCIVAC, Rimini, Italy, 2007.

GARTNER, L.P; HIATT, J.L. **Tratado de histologia: em cores**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 94-96.

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.

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

HOLOWAYCHUK, M. K.; HANSEN, B. D.; DE FRANCESCO, T. C.; MARKS, S. L. Ionized Hypocalcemia in Critically Ill Dogs. **J Vet Intern Med**; v. 23, p. 509–513. 2009.

I-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, Aug, 2003.

JOHNSON, T.O., SCHULMAN, F.Y., LIPSCOMB, T.P. ; YANTIS, L.D. Histopatology And Biologic Behavior of Pelomorphic Cutaneous Mast Cell Tumors in Fifteen Cats. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 452-457. 2002.

LONDON, C.; SÉGUIN, B. Mast cell tumors in the dog. **Vet Clin North Pract.**, v. 33, n. 3, p. 473-89, 2003.

MC GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Elsevier Editora Ltda. 2009. 1476 p.

MOORE, A.S. Cutaneous mast cell tumors in dogs. **30th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association**; May 11-14, 2005 - Mexico City, Mexico.

NELSON, R.W; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 901-902.

OGILVIE, G.K. Recent advances in mast cell tumors. **WSAVA Congress**. Santa Fé, 2006.

PATNAIK AK EHLER WJ MACEWEN EJ. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet. Pathol.*, v.21, p. 469-474, 1984.

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.

STANCLIFT, R.M.; GILSON, S.D. Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 1, p. 53-62, 2008.

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. 2002.

THAMM, D.H; VAIL, D.M. Mastcelltumors. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M.; Withrow ; MacEwen's. **Small animal clinical oncology**. 4th ed. St. Louis: Saunders Elsevier. Cap.19, p.402-424. 2007

TORRES NETO, R. **Mastocitoma cutâneo canino: Aspectos clínico, citopatológico, morfométrico e imunocitoquímico**. 2008. 93f. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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.

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