

# **AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DE MASTOCITOMA CANINO**

Vanessa de Sousa Cruz PIMENTA<sup>1</sup>, Eugênio Gonçalves de ARAÚJO <sup>2</sup>, Yandra Lobato do PRADO<sup>3</sup>, Ana Carolina Brigolin PARIZE<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Ciência Animal na EV/UFG. vanessascpimenta@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Professor Doutor do Departamento de Medicina Veterinária na EV/UFG. earaujo@vet.ufg.br

<sup>3</sup> Pós-Doutoranda/UFG. yandraprado@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Aluna da graduação da EV/UFG. karolparize@hotmail.com

Palavras-chave: hematoxilina-eosina, azul de toluidina, metacromasia.

## **INTRODUÇÃO**

O mastocitoma é a neoplasia cutânea mais frequente do cão e sua causa ainda é desconhecida. As lesões podem ser de localização dérmica a subcutânea e três graus são descritos. No primeiro, o tumor é bem diferenciado e o prognóstico favorável. No segundo, o tumor é moderadamente diferenciado, sendo intermediário tanto no aspecto histológico quanto no comportamento. No terceiro, o tumor é pouco diferenciado, invasivo, com alta taxa de metástase e pobre prognóstico (MORRIS & DOBSON, 2001; MEUTEN, 2002).

O diagnóstico rápido é realizado por meio de citologia de aspirado do tumor com agulha fina (RECH, 2003). Após a retirada cirúrgica, tanto a lesão extirpada quanto o órgão afetado e os linfonodos regionais devem ser encaminhados para histopatologia para graduação histológica e avaliação das margens cirúrgicas (MORRIS & DOBSON, 2001).

Os mastócitos são as maiores células fixas do conjuntivo. Podem ser poliédricos, fusiformes ou estrelados e apresentam citoplasma levemente eosinofílico, com núcleo basofílico e excêntrico. Possuem no citoplasma grânulos metacromáticos que se tingem de vermelho ou vinho devido à presença de mucopolissacarídeos ácidos com afinidade a corantes básicos como o azul de toluidina. Porém, são menos evidentes em preparações coradas pela hematoxilina-eosina (HE) (NAVARRO, 2005; LÉPORI, 2006; DIAS, 2007).

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência da utilização da coloração histológica de rotina (HE) e de um método histoquímico (azul de toluidina) para a classificação dos mastocitomas caninos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Após análise dos protocolos de exames histopatológicos obtidos dos arquivos do Laboratório de Patologia Animal/UFG, do período de janeiro de 2007 a abril de

2011, foram aleatoriamente selecionadas 37 amostras dentre os casos com diagnóstico de mastocitoma canino. Secções de 5µm de espessura foram obtidas de cada bloco e realizou-se a coloração HE e o método histoquímico com o azul de toluidina. Para determinação do grau histológico, foi utilizado o sistema de graduação estabelecido por PATNAIK et al. (1984), conforme se segue:

**Grau I:** Presença de mastócitos bem diferenciados na derme superficial ou profunda, com células redondas a ovais, uniformes, tendo citoplasma abundante e bem delimitado e núcleo redondo;

**Grau II:** Presença de mastócitos com diferenciação moderada, invasão da derme profunda e subcutâneo, células redondas a ovais a moderadamente pleomórficas com raras células binucleadas, citoplasma distinto a indistinto, núcleo redondo com um ou mais nucléolos visíveis;

**Grau III:** Mastócitos com localização extensiva na derme e subcutâneo, células pleomórficas multinucleadas e células gigantes, citoplasma indistinto, núcleo redondo com um ou mais nucléolos proeminentes.

Para a análise estatística, foi utilizado o teste não paramétrico  $\chi^2$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Do total de registros avaliados no período estudado, quanto à diferenciação em graus, 35,14% (13/37) dos mastocitomas eram de grau II, 27,03% (10/37) de grau III, 13,51% (5/37) de grau I e 24,32% (9/37) não tiveram identificação do grau. RECH (2003), ao pesquisar 45 mastocitomas, encontrou prevalência de grau II, porém obteve mais grau I do que grau III. Já no estudo de 25 mastocitomas feito por DIAS (2007), a ocorrência de grau I foi igual à de grau III e na pesquisa de 49 mastocitomas feita por FURLANI et al. (2008), houve maior incidência de grau I. A incidência e frequência das principais alterações microscópicas encontradas em cada grau estão descritas na Tabela 1. Para BOSTOCK et al. (1989) muitas vezes a graduação histológica é subjetiva, ou seja, um mesmo mastocitoma pode ser classificado com grau diferente por patologistas distintos. Esta possibilidade é maior quando se trata de mastocitomas classificados como grau II devido ao amplo comportamento biológico designado a este grau. Ainda segundo os autores, mastocitomas bem diferenciados são mais fáceis de diagnosticar em preparações

histológicas de rotina como HE e azul de toluidina, o que não ocorre com os poucos diferenciados, podendo ser confundidos, inclusive, com outros tumores de células redondas.

Tabela 1 – Incidência e frequência das principais alterações microscópicas de mastocitomas caninos corados com HE e azul de toluidina.

Grau	Localização	Tamanho da célula	Forma da Célula	Citoplasma	Núcleo	Nucléolo
I	Derme Superficial	Uniforme	Redondo a Oval	Abundante	Redondo a Oval	1/célula
	T:5	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	2 (40%)
II	Derme Superficial	Anisocitose e células multinucleadas	Pleomórfico	Moderado	Redondo a Oval	1 ou +/- célula
	T:13	9 (69,23%)	7 (53,84%)	9 (69,23%)	8 (61,53%)	10(79,62%)
III	Derme Profunda	Anisocitose e células multinucleadas	Pleomórfico	Escasso	Redondo a Oval	1 ou +/- célula
	T:10	8 (80%)	9 (90%)	7 (70%)	9 (90%)	7 (70%)

Nesse estudo (Figura 1), foi possível observar acentuada metacromasia em 80% (4/5) dos mastocitomas de grau I, moderada metacromasia em 46,15% (6/13) dos de grau II e ortocromasia em 70% (7/10) dos de grau III nas lâminas coradas por azul de toluidina, semelhante aos resultados encontrados por RECH (2003). Porém, houve casos onde as características histológicas como células pleomórficas, núcleo com vários nucléolos proeminentes, células multinucleadas e células gigantes contrastaram com intensa metacromasia. A interação dos corantes básicos com os grânulos citoplasmáticos tem relação com o grau de diferenciação celular porque há uma diminuição da sulfatação dos grânulos em mastócitos neoplásicos, tornando-os menos metacromáticos (SIMOES & SCHONING, 1994; DIAS, 2007).

Todos os mastocitomas de grau I e 69,23% dos de grau II estavam localizados na derme superficial; já 80% dos de grau III estavam na derme profunda. Quanto ao tamanho das células, todos os mastocitomas de grau I apresentaram tamanho uniforme, enquanto que anisocitose com células multinucleadas foi encontrado em 53,84% dos de grau II e em 90% dos de grau III. Resultados semelhantes foram observados por MEUTEN (2002).

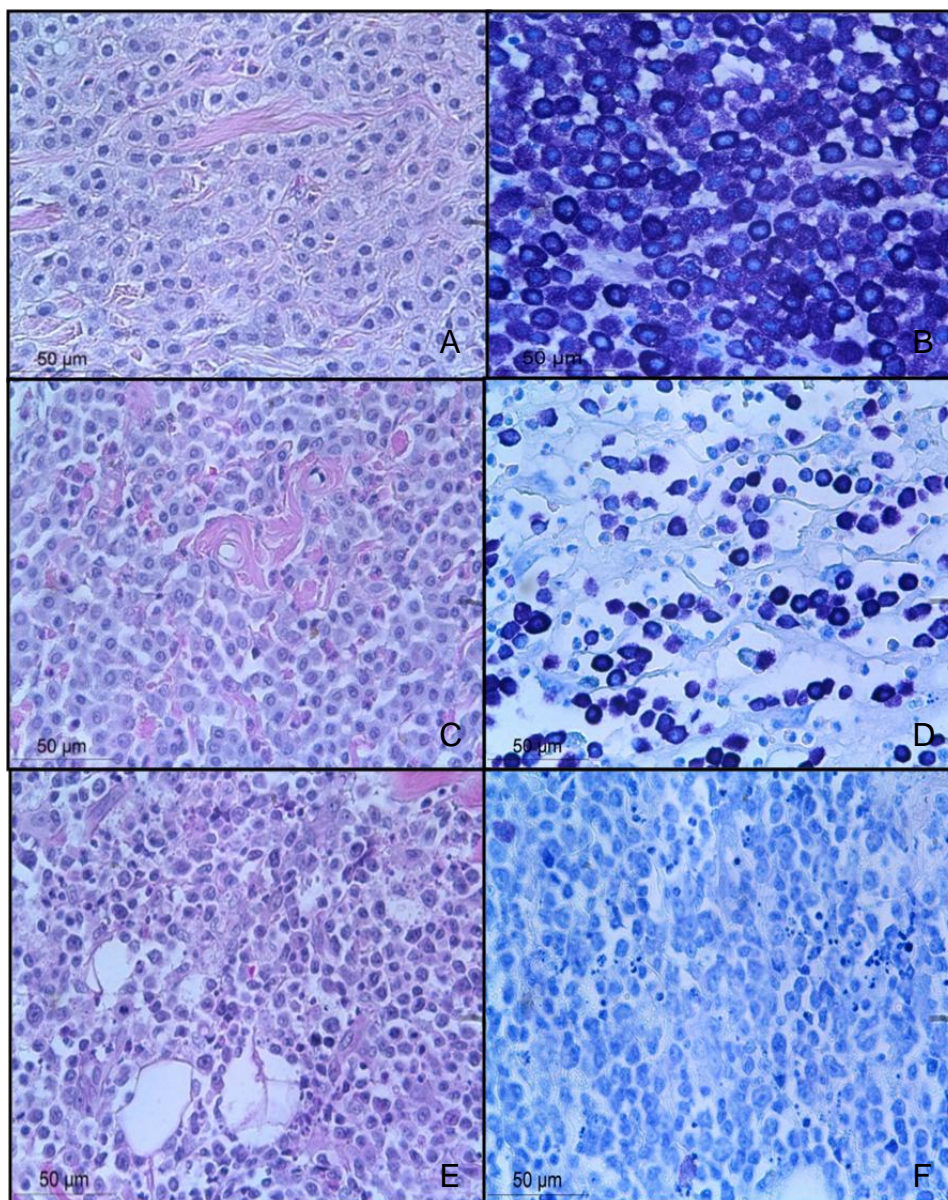


FIGURA 1 – Fotomicrografias de fragmentos de mastocitomas canino. A) Grau I – células de tamanho uniforme com forma redonda a oval, citoplasma abundante, núcleo redondo a oval. HE. B) Grau I – acentuada metacromasia. Azul de toluidina. C) Grau II – anisocitose, pleomorfismo, citoplasma moderado, núcleo redondo a oval, um ou mais nucléolos por célula. HE. D) Grau II – Metacromasia discreta. Azul de Toluidina. E) Grau III – anisocitose, pleomorfismo, citoplasma escasso, núcleo vesicular, um ou mais nucléolos por célula. HE. F) Grau III – Ortocromasia. Azul de Toluidina. 400X.

Como não foi possível observar as margens cirúrgicas dos cortes histológicos avaliados, não foram detectadas células tumorais remanescentes. Segundo WEISSE et al. (2002), as margens cirúrgicas livres de células tumorais, ou seja,

distantes 1 a 2mm da extremidade tumoral, devem ser avaliadas histologicamente em quatro margens laterais e 4 secções da base do tumor.

Dessa forma, existe uma necessidade de se empregar outros métodos histoquímicos para auxiliar na precisão dos diagnósticos da rotina laboratorial, já que o tratamento indicado para o mastocitoma difere em cada grau.

## CONCLUSÕES

A avaliação histoquímica, utilizando a hematoxilina-eosina e o azul de toluidina, permitiu classificar a maioria dos mastocitomas estudados, porém em 24,32% das amostras não foi possível estabelecer a identificação do grau. O levantamento estatístico das características histológicas de cada grau deve ser considerado para minimizar a subjetividade da graduação do mastocitoma canino.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOSTOCK, D.E.; CROCKER, J.; HARRIS, K.; SMITH, P. Nucleolar organiser regions as indicators of post-surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumors. **British Journal of Cancer**, v. 59, p. 915-918, 1989.
2. DIAS, M.F. **Estudo da aplicabilidade de critérios morfológicos e morfométricos para a graduação de mastocitomas cutâneos em caninos**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas. UFPEL.
3. FURLANI, M.J.; DALECK, C.R.; VICENTI, F.A.M.; DE NARDI, A.B.; PEREIRA, G.T.; SANTANA, A.E.; EURIDES, D.; SILVA, L.A.F. Mastocitoma Canino: Estudo Retrospectivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p.242-250, 2008.
4. LEPORI, L.R. **Miniatlas: Alergia**. São Paulo: Editora Soriak, 2006, 154p.
5. MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic animals**. 4.ed. Iowa: Iowa State Press, 2002, 779p.
6. MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small Animal Oncology**. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001, 306p.
7. NAVARRO, C.E. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2005, p.146.
8. RECH, R.R. **Mastócitos em condições normais e patológicas com ênfase em mastocitomas de cães**. 2003. 84f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria. UFSM.
9. SIMOES, J.P.C. & SCHONING, P. Canine mast cell tumors: a comparison of staining techniques. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**,v. 6, p. 458-465, 1994.
10. WEISSE, C.; SHOFER, F.C.; SORENMO, K. Recurrence rates and sites for grade II canine cutaneous mast cell tumors following complete surgical excision. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, p-71-73, 2002.