

Diagnósticos histomorfológico e imunofenotípico de tumores estromais gastrointestinais e outros sarcomas que acometem o intestino de cães

Histomorphological and immunophenotypic diagnoses of gastrointestinal stromal tumors and other sarcomas that affect the intestine of dogs

Marina Laudares Costa¹ , Felipe Augusto Ruiz Sueiro² , Paulo César Jark³ , Leonardo Lamarca de Carvalho¹ ,
Marcela Aldrovani Rodrigues¹ , Vinícius Thomaz da Silva Almeida¹ , Fernanda Gosuen Gonçalves Dias^{1*} 

¹Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca, São Paulo, Brasil

²VETPAT Laboratório de Análises Clínicas, Campinas, São Paulo, Brasil

³Serviço de Oncologia Oncospes, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

*Autor de correspondência: fernanda.dias@unifran.edu.br

Resumo

Tendo em vista a semelhança morfológica entre tumores estromais gastrointestinais (GIST) e outros sarcomas do intestino de cães, objetivou-se realizar o diagnóstico histomorfológico e imunoistoquímico desses tumores, associando raça, sexo e idade, localização e invasão tumoral. Foram avaliados 217 casos por histopatologia e incluídos 36 diagnosticados por imuno-histoquímica (24 GIST e 12 outros sarcomas intestinais). Cães sem raça definida foram os mais diagnosticados com GIST, principalmente fêmeas idosas (9,5±2,2 anos); nos demais sarcomas intestinais, mestiços e Dachshunds, machos e fêmeas, foram igualmente acometidos. O ceco foi o mais acometido pelos GISTs, com invasão tumoral das camadas intestinais em todos os casos. O intestino delgado foi o mais acometido pelos demais sarcomas intestinais, com invasão das camadas na maioria desses tumores. GISTs expressaram marcadores como CD117 e DOG-1, ao contrário de outros sarcomas intestinais. O GIST e outros sarcomas intestinais denotaram características histomorfológicas e imunofenotípicas semelhantes à histopatologia, justificando a associação da imuno-histoquímica para o diagnóstico definitivo.

Palavras-chave: CD117; DOG-1; GIST; oncologia veterinária

Abstract

In view of the morphological similarity between gastrointestinal stromal tumors (GIST) and other sarcomas of the intestine of dogs, the aim was to carry out the histomorphological and immunohistochemical diagnosis of these tumors, associating breed, sex and age, location and tumor invasion. 217 cases were evaluated by histopathology and 36 diagnosed by immunohistochemistry were included (24 GIST and 12 other intestinal sarcomas). Mixed breed dogs were the most diagnosed with GIST, mainly elderly females (9.5±2.2 years); in the other intestinal sarcomas, crossbreeds and Dachshunds, males and females, were equally affected. The cecum was the most affected by GISTs, with tumor invasion of the intestinal layers in all cases. The small intestine was the most affected by the other intestinal sarcomas, with invasion of the layers in most of these tumors. GISTs expressed markers such as CD117 and DOG-1, unlike other intestinal sarcomas. GIST and other intestinal sarcomas denoted histomorphological and immunophenotypic characteristics similar to histopathology, justifying the association of immunohistochemistry for the definitive diagnosis.

Keywords: CD117; DOG-1; GIST; veterinary oncology

1. Introdução

As neoplasias gastrointestinais, incomuns em cães, representam 2% de todos os tumores nessa espécie^(1,2,3,4). Entre as neoplasias intestinais, o tumor estromal gastrointestinal (GIST - epitelióide,

fusiforme, misto ou anaplásico)^(5,6) é considerado mesenquimal, com desenvolvimento a partir da diferenciação das células intersticiais de Cajal ou de seus precursores^(7,8). O GIST expressa em sua superfície receptores tirosina-quinase (KIT)

Recebido: 16 de março de 2023. Aceito: 30 de junho de 2023. Publicado: 4 de setembro de 2023.



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

<https://revistas.ufg.br/vet/index>

codificados pelo proto-oncogene c-KIT^(8,9). As mutações podem ocorrer no gene c-KIT, afetando o domínio justamembranar codificado pelo exon 11, e no receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGRFA), comprometendo o domínio extracelular do KIT codificado pelo exon 9, sendo ativado através do fator de células-tronco^(10,11,12).

Histologicamente, feixes de células epiteliais, fusiformes ou mistas, são identificados, principalmente envolvendo a túnica e os músculos lisos intestinais, com presença variável de mitoses e diferentes classificações⁽¹³⁾. Por outro lado, a avaliação imuno-histoquímica é mais confiável ao avaliar a expressão de CD117 (marcador de tirosina quinase de c-KIT), CD34 (marcador específico de GIST e células de Cajal intersticiais) e SMA (actina de músculo liso)⁽¹⁴⁾, associados a marcadores que diferenciam a neoplasia de outros tumores gastrointestinais ou tumores de origem nervosa⁽¹⁵⁾. Ainda assim, a imuno-histoquímica ajuda a identificar uma pequena porcentagem de GIST que pode não expressar ou expressar quantidades insignificantes de CD117 e PDGFR alfa⁽¹⁶⁾, o que tem contribuído para pesquisas na medicina e medicina veterinária, utilizando marcadores como DOG-1 para auxiliar no diagnóstico definitivo desses tumores⁽⁹⁾.

Com base na dificuldade em estabelecer o diagnóstico definitivo de neoplasias intestinais à histopatologia e diante de resultados negativos para CD117 em GIST, pesquisadores compararam a expressão do anticorpo anti-DOG-1 entre GIST e outros sarcomas intestinais e identificaram um gene capaz de ser expresso em maior quantidade nos GIST quando comparado ao CD117⁽¹⁷⁾. Posteriormente, pesquisas investigaram as funções do DOG-1, sendo considerada uma proteína transmembrana associada ao transporte de íons de cloreto, com funções excitatórias e inibitórias, contribuindo para a atividade elétrica das células de Cajal intersticiais, com efeito sobre a motilidade do trato gastrointestinal^(18,19,20).

Devido à escassez de estudos que comprovem a real incidência de neoplasias intestinais em cães, a presente pesquisa teve como objetivo o diagnóstico histomorfológico e imunoistoquímico de GIST e outros sarcomas intestinais, associando raça, sexo e idade, localização e invasão tumoral.

2. Material e métodos

De junho de 2014 a dezembro de 2020, uma análise de GIST e outros sarcomas intestinais por histopatologia e imuno-histoquímica foi realizada em

cães, a partir de casos diagnosticados em um Laboratório de Patologia Veterinária. De acordo com o laboratório, as amostras foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) e analisadas por microscopia óptica e posteriormente avaliadas por diferentes marcadores imuno-histoquímicos, sendo que o diagnóstico definitivo incluiu GIST e outros sarcomas intestinais.

Foram analisados os dados da resenha dos cães acometidos por GIST ou outros sarcomas intestinais, incluindo raça, sexo e idade, e os resultados expressos de forma descritiva. Dos cães diagnosticados com GIST ou outros sarcomas intestinais pelo exame histopatológico, analisaram-se a localização macroscópica e a invasão da mucosa, sendo também os dados apresentados de forma descritiva.

Os tumores foram investigados com painéis de marcadores imuno-histoquímicos contendo Ki-67, CD117, DOG-1, S-100, 1A4, HHF35, desmina e, por vezes, vimentina, CD31, MyoD1, AE1/AE3, CD99, GFAP e p53, permitindo a diferenciação do GIST de outros sarcomas intestinais. Para isso, os tecidos processados para análise histopatológica e incluídos em parafina foram dispostos sobre lâminas sinalizadas. A recuperação antigênica pelo método de calor úmido foi realizada em panela a vapor (20 a 30 minutos), seguida da incubação com os anticorpos primários a 4°C. Em todos os protocolos de imunocoloração, o tatrahidrocloro de diaminobenzidina (DAB) foi utilizado para estabelecer a imunocoloração do tecido positivo, enquanto a contracoloração foi realizada pela hematoxilina de Harris.

As amostras submetidas a análise Ki-67 para avaliação do índice proliferativo foram avaliadas por microscopia de luz, utilizando graticula ocular de diâmetro 1 mm. As imunoexpressões foram estabelecidas por porcentagem de células marcadas, considerando o número de células positivas e o total de células dentro da graticula, avaliadas em cinco campos aleatórios de maior aumento (objetiva de 40x). Posteriormente, as amostras foram classificadas em escores: 0 (ausência de imunomarcações), 1 (< 5% de células imunomarcadas), 2 (5-8% de células imunomarcadas), 3 (> 8% de células imunomarcadas)⁽²²⁾. Os dados foram analisados por correlação de Sperman, utilizando o *software* GraphPad Prism® (versão 9.1 - GraphPad Software, Inc 2021), sendo as variáveis consideradas significantes quando $p \leq 0,05$.

Os dados sobre os anticorpos utilizados para definir GIST e outros sarcomas intestinais em cães estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Anticorpos utilizados para definir o diagnóstico de tumores estromais gastrointestinais (GISTs) e outros sarcomas intestinais que afetam o intestino de cães, de junho de 2014 a dezembro de 2020

Anticorpos	Clones	Diluição	Laboratório
Ki-67	MIB-1	1:400	Dako
C-kit	CD117 Dako	1:300	Dako
DOG-1	EP332	1:100	BioSb
S-100	Mmab	1:800	Dako
1A4	Policlonal Dako	1:200	Dako
HHF-35	HHF-35	1:400	CellMarque
Desmina	D33	1:200	Dako
Vimentina	V9	1:1000	Dako
MyoD1	5.8 ^a	1:250	BioSb
Cox-2	EP293	1:200	BioSb
AE1/AE3	AE1/AE3	1:300	Dako
CD99	12E7	1:100	Dako
GFAP	6F2	1:300	Dako
P53	DO7	1:150	Dako

3. Resultados

Durante o período do estudo, foram avaliados 217 resultados de exame histopatológico de GIST, dos quais 36 (16,5%) foram diagnosticados por imunohistoquímica; 24 destes tiveram diagnóstico consistente de GIST e 12 foram compatíveis com outros sarcomas intestinais. Assim, ao analisar a eficácia dos métodos diagnósticos, a histopatologia foi conclusiva em 66,6% dos GIST quando avaliada em conjunto com a imunohistoquímica, enquanto 33,4% dos tumores apresentaram alteração diagnóstica após a análise dos marcadores imunohistoquímicos.

Dos 24 cães diagnosticados com GIST, as principais raças afetadas foram cães sem raça definida (8), Poodle (3), Dachshund (3), Golden Retriever (2), Bulldog Francês (1), Bulldog Inglês (1), Jack Russel Terrier (1), Beagle (1), Lhasa Apso (1), Pitbull (1), West Highland Terrier (1) e raça não informada (1). Destes, 14 eram fêmeas e dez machos, com média de idade de 10,5±3,0 anos. Dos 12 cães com outros sarcomas intestinais, a maioria era de raça não definida (4), seguida por Dachshund (2), Chow Chow (1), Dogue de Bordeaux (1), Lhasa Apso (1), Shih Tzu (1), Yorkshire (1) e raça não informada (1). Destes, seis eram fêmeas e seis machos, com uma média de idade de 9,5±2,2 anos.

Quanto à localização tumoral do GIST, cinco cães tiveram o segmento intestinal discriminado nos resultados imunohistoquímicos, sendo o ceco (5) a região mais descrita. Dos 24 GIST, nove animais

apresentaram invasão tumoral da camada intestinal muscular, oito da camada submucosa/muscular, dois da camada muscular/serosa, um apresentou invasão difusa e quatro não tiveram a região discriminada. Além disso, três apresentaram ulceração ocasionada pela neoformação. Em relação aos 12 outros sarcomas intestinais, a localização tumoral foi informada em três cães, sendo o intestino delgado o segmento mais descrito. A invasão neoplásica ocorreu em 11 cães, sendo a camada submucosa/muscular uma das mais afetadas (5), seguida da camada muscular (3), submucosa (1), serosa (1) e difusa (1). Além disso, um cão não teve o local de invasão determinado. Ulceração foi observada em três neoplasias.

Os testes imuno-histoquímicos para confirmação do diagnóstico de GIST demonstraram 70% de imunoexpressões positivas e 29,1% negativas para CD117, enquanto 100% dos tumores foram positivos pela imunoexpressão de DOG-1, incluindo os negativos para CD117. Além disso, 54,1% e 66,6% dos GIST foram positivos para actina de músculo liso (SMA) através das imunomarcações para HHF35 e 1A4, respectivamente; 95% foram avaliados quanto à expressão de desmina e 12% foram positivos para o referido marcador. Quanto ao S100, 95% dos tumores foram avaliados, sendo que 70,8% apresentaram marcações positivas. Ainda, 33% foram avaliados e apresentaram imunomarcações para vimentina e 8,3% para MyoD1. Alguns tumores foram avaliados quanto à expressão de AE1/AE3, GFAP e CD99, os quais negativos em 25%, 12,5% e 4,1% dos casos, respectivamente. Quanto aos outros sarcomas intestinais, todos foram negativos para CD117 e DOG-1, enquanto 75% foram positivos para S-100; 25% expressaram 1A4 e HHF35; ainda, 4,1% exibiram imunomarcação positiva para desmina e 58% foram positivos para vimentina. Além disso, 4,1% expressaram CD31, sendo classificados como hemangiossarcomas intestinais. Alguns tumores foram avaliados quanto à expressão de AE1/AE3, GFAP e CD99, sendo negativos em 16,1%, 4,1% e 4,1% dos casos, respectivamente.

Dos 24 cães diagnosticados com GIST, oito apresentaram marcações de Ki-67 com escore 2 (5-8% de células imunomarcadas), nove com escore 3 (>8% de células imunomarcadas) e seis animais não tiveram o índice determinado. Em relação aos outros 12 sarcomas intestinais, cinco tiveram o índice proliferativo determinado, sendo todos com escore de marcação 3 (>8% de células imunomarcadas).

Os resultados das análises imunohistoquímicas estão descritos nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Painéis imuno-histoquímicos utilizados para definir tumores estromais gastrointestinais (GIST) que acometem o intestino de cães, avaliados no período de junho de 2014 a dezembro de 2020, no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias - VetPat (Campinas, SP).

Cão	Diagnóstico	Ki-67	CD117	DOG-1	S100	1A4	HHF35	Desmina	Outros marcadores (+)	Outros marcadores (-)
1	GIST	8%	+	na	na	+	+	-	COX-2	na
2	GIST	5%	+	+	+	-	-	-	na	na
3	GIST	20%	-	+	+	-	-	-	MyoD1	AE1AE3/CD99
4	GIST	5%	+	+	+	+	+	-	na	na
5	GIST	8%	+	na	+	+	+	-	Vimentina	na
6	GIST	10%	-	+	+	+	+	-	na	na
7	GIST	10%	+	+	+	+	+	-	na	na
8	GIST	na	+	na	+	+	+	-	Vimentina	AE1AE3
9	GIST	8%	-	+	+	-	-	-	na	na
10	GIST	na	+	na	+	+	-	-	Vimentina	MyoD1
11	GIST	5%	+	na	+	+	-	-	na	GFAP
12	GIST	10%	+	na	-	+	+	na	na	GFAP
13	GIST	15%	-	+	+	-	-	+	na	na
14	GIST	na	+	na	+	+	-	-	na	MyoD1/AE1AE3
15	GIST	na	+	na	-	+	+	-	Vimentina	na
16	GIST	8%	-	+	-	+	+	+	na	AE1AE3
17	GIST	15%	+	+	+	-	-	-	na	na
18	GIST	12%	-	+	-	+	+	-	na	na
19	GIST	15%	+	+	+	+	-	-	na	na
20	GIST	8%	-	+	+	-	+	-	na	na
21	GIST	12%	+	na	+	-	-	-	na	GFAP
22	GIST	na	+	na	-	+	+	-	Vimentina	AE1AE3
23	GIST	na	+	na	-	+	+	na	Vimentina/MyoD1	na
24	GIST	na	+	na	+	-	-	-	Vimentina	AE1AE3

+: positivo; -: negativo; na: não avaliado

Tabela 3. Painéis imunohistoquímicos utilizados para definir outros sarcomas que acometem o intestino de cães, avaliados no período de junho de 2014 a dezembro de 2020, no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias - VetPat (Campinas, SP)

Cão	Diagnóstico	Ki-67	CD117	DOG-1	S100	1A4	HHF35	Desmina	Outros marcadores (+)	Outros marcadores (-)
1	CONDROSSARCOMA	na	-	na	+	-	-	-	Vimentina	AE1AE3
2	FIBROSSARCOMA	45%	na	-	+	-	-	-	na	na
3	FIBROSSARCOMA	10%	-	na	+	-	-	-	na	GFAP
4	FIBROSSARCOMA	15%	na	-	+	-	-	-	na	na
5	FIBROSSARCOMA	60%	-	na	+	-	-	-	Vimentina	p53
6	HEMANGIOSSARCOMA	12%	-	-	-	-	-	-	CD31	na
7	LEIOMIOSSARCOMA	na	-	na	-	+	+	+	na	MyoD1
8	LEIOMIOSSARCOMA	na	-	na	+	+	+	-	Vimentina	AE1AE3
9	LIPOSSARCOMA MIXÓIDE	na	-	na	+	-	-	-	Vimentina	na
10	MIOFIBROSARCOMA	na	-	na	-	+	+	-	Vimentina	na
11	NEUROFIBROSARCOMA	na	-	na	+	-	-	-	Vimentina	AE1AE3
12	NEUROFIBROSARCOMA	na	-	na	+	-	-	-	Vimentina	AE1AE3

+: positivo; -: negativo; na: não avaliado

4. Discussão

Os métodos diagnósticos avaliados na presente pesquisa demonstraram diferenças quanto à definição dos GIST, visto que algumas neoplasias identificadas apenas por histopatologia apresentaram mudança no diagnóstico quando analisadas conjuntamente pelos marcadores imuno-histoquímicos. Esses resultados corroboraram as

descrições de Shales et al.⁽²³⁾, de que outros sarcomas intestinais podem apresentar características histomorfológicas análogas àquelas dos GIST, sendo determinante a diferenciação por técnicas específicas e fidedignas como a imuno-histoquímica. Além disso, segundo Hayes et al.⁽²⁴⁾, Yamamoto et al.⁽²⁵⁾ and Dailey et al.⁽²⁶⁾, a definição do diagnóstico é imprescindível, devido ao comportamento distinto dessas neoplasias, o que pode

influenciar diretamente na escolha terapêutica e, conseqüentemente, no prognóstico dos pacientes caninos acometidos.

De acordo com Robertson and Patil⁽²⁷⁾, a imuno-histoquímica permite a identificação de doenças malignas e indiferenciadas a partir de marcadores que auxiliem na identificação da linhagem celular acometida, no entanto, deve ser associada à análise histopatológica e história clínica do paciente, conforme realizado no presente estudo. Caso a imuno-histoquímica não identifique a origem celular, análises mutacionais podem ser realizadas para a elucidação do diagnóstico⁽²⁸⁾.

Os resultados do presente estudo também ressaltam a importância da descrição completa de informações quanto à resenha dos pacientes e características neoplásicas nas fichas de solicitações de exames histopatológicos e imuno-histoquímicos preenchidas pelos profissionais médicos veterinários aos centros de diagnóstico especializado. Aliada à ocorrência infrequente das neoplasias intestinais em cães e a dificuldade de diferenciação dos GIST com outras neoplasias mesenquimais no passado⁽⁷⁾, a escassez de dados consistentes limita as publicações científicas e restringe discussões relevantes ao direcionamento do diagnóstico, opções terapêuticas e prognóstico.

Na população estudada, cães sem raça definida, Dachshunds, Poodle e Golden Retrievers foram os mais diagnosticados com GIST, coincidindo com as raças descritas por Berger et al.⁽⁷⁾; por outro lado, alguns estudos mencionaram que diversas raças podem ser acometidas, não demonstrando predisposição ao seu desenvolvimento⁽²⁹⁾. Nos outros sarcomas intestinais, a maior ocorrência foi nos cães sem raça definida e Dachshunds, diferindo de Patnaik et al.⁽³⁰⁾, que citaram os Collie e Pastor Alemão como as raças de maior acometimento por esses tumores.

Estudos evidenciaram maior frequência das neoplasias intestinais em cães de meia-idade a senis, principalmente machos^(11,31,32), corroborando parcialmente os resultados deste estudo, visto que os caninos mais afetados estavam acima dos 9,5 anos de idade, porém, as fêmeas foram as mais acometidas.

As localizações tumorais intestinais dos GIST não foram determinadas em todos os casos, no entanto, foram similares às descritas por Alcazar et al.⁽⁹⁾, Russel et al.⁽¹⁴⁾ e Dailey et al.⁽²⁶⁾, sendo o ceco o sítio de maior acometimento. No que se refere aos outros sarcomas intestinais, a região mais afetada foi o intestino delgado, discordando em parte dos dados da literatura, que citam jejuno e ceco⁽¹⁴⁾. De acordo com Maas et al.⁽³³⁾, a localização proximal dos tumores, como o intestino delgado, causa prejuízos no funcionamento do trato gastrointestinal, culminado em sinais clínicos evidentes e, por conseguinte, diagnóstico precoce, favorecendo o prognóstico; ao contrário das demais, como o ceco, em

que poucas alterações podem ser notadas em virtude de sua posição indireta à passagem do conteúdo intestinal, resultando em tumores de maior diâmetro, chances de ulceração e infecções.

Na presente pesquisa, a maioria dos cães com GIST e outros sarcomas intestinais apresentou invasão apenas da camada intestinal muscular, o que pode influenciar o prognóstico, pois segundo Lee et al.⁽¹⁸⁾, neoplasias que comprometem a serosa podem reduzir a sobrevida dos indivíduos acometidos. Ademais, Leandro and Sá⁽¹⁾ e Hayes et al.⁽²⁴⁾, demonstraram que GIST podem acometer principalmente a submucosa e muscular e, em alguns casos, todas as camadas intestinais, corroborando o atual estudo, visto que muitos animais apresentaram invasão das camadas descritas.

Em relação aos marcadores imuno-histoquímicos utilizados para o diagnóstico dos GIST, estudos revelam que a maioria dos tumores apresenta mutações no gene KIT⁽³⁶⁾; no entanto, uma discreta porcentagem desses tumores pode expressar mutações apenas no gene PDGFRA, não reagindo ou reagindo fracamente aos anticorpos KIT, não sendo diagnosticados como GIST⁽¹⁷⁾, conforme observado neste estudo. Nesse sentido, o anti-soro contra um gene específico de GIST, responsável por codificar a proteína DOG-1, foi utilizado, uma vez que parece ser expresso em GIST típicos (mutações em KIT e PDGFRA) e em GIST com mutações negativas no gene KIT, auxiliando o diagnóstico⁽¹⁷⁾, e confirmando os dados deste levantamento epidemiológico. Ainda nessa temática, de acordo com Dailey et al.⁽²⁶⁾, a imunoexpressão de DOG-1 apresenta maior sensibilidade e especificidade quando comparada ao CD117, podendo ser considerado marcador importante nos casos suspeitos de GIST, uma vez que sua expressão parece ser independente do CD117⁽⁷⁾, reforçando a acuidade de sua inclusão neste estudo.

Rios-Moreno et al.⁽¹⁶⁾ avaliaram a imunoexpressão de PKC e DOG-1 em 99 GIST humanos e observaram 91% de expressão de DOG-1, com positividade em dois dos cinco negativos para o CD117. Embora o presente estudo não tenha investigado a expressão de PKC e tenha sido realizado na espécie canina, notou-se que todos os GIST foram positivos para DOG-1, incluindo os tumores negativos para CD117. Nesse sentido, diante da literatura e dos resultados imuno-histoquímicos deste levantamento, DOG-1 e CD117 são anticorpos indispensáveis para a definição do diagnóstico dos GIST em cães, não sendo expressos em outras neoplasias gastrointestinais de músculo liso⁽³⁷⁾.

Os GIST ainda podem expressar, com frequência, positividade para marcadores utilizados no diagnóstico de outros sarcomas intestinais, sendo as análises estruturais e imuno-histoquímicas importantes ferramentas para a definição das distintas classificações dos GIST com base em sua origem⁽¹⁾. Russel et al.⁽¹⁴⁾ destacaram que a

positividade para SMA em GIST está relacionada à localização das células intersticiais de Cajal ao longo da camada muscular intestinal, demonstrando a origem de células musculares desses tumores, como observado neste estudo, quanto aos tumores avaliados através dos marcadores HHF35 e IA4, respectivamente. Ainda, de acordo com Kisluk et al.⁽³⁸⁾, essa imunoposição pode estar relacionada às células musculares lisas presentes nas camadas intestinais muscular ou mucosa, gerando interpretação positiva para os marcadores quando avaliados pela imuno-histoquímica.

A imunorreatividade para a desmina foi observada em uma pequena porcentagem (8,3%) dos casos de GIST aqui diagnosticados, corroborando os resultados de Hirota⁽³⁶⁾, em que quase a totalidade desses tumores foi negativa para o referido marcador, por ser considerado uma proteína específica de células musculares lisas. Os dados deste estudo também coincidiram com os obtidos por Miettinen and Lasota⁽³⁹⁾, em que aproximadamente 5-10% dos GIST podem expressar positividade para esse marcador, revelando também sua origem mio gênica.

Neste estudo, uma considerável porcentagem de GIST foi positiva para S100, marcador característico de lesões originadas a partir do plexo nervoso mioentérico, apoiando os dados descritos por Frost et al.⁽³¹⁾ e Miettinen and Lasota⁽³⁹⁾, e evidenciando a origem neurogênica desses tumores; em contrapartida, diferiu das descrições de Hirota⁽³⁶⁾, de que a maioria dos GIST foi negativa para S100. Segundo Kisluk et al.⁽³⁸⁾, a expressão desse marcador é considerada rara em algumas localizações de GIST, porém, frequentemente expressa em tumores no intestino delgado. Como mencionado anteriormente, apesar das localizações tumorais não terem sido determinadas em todos os cães deste levantamento, tornam-se limitadas as afirmações frente ao marcador e à localização das neoplasias.

Hayes et al.⁽²⁴⁾, Maas et al.⁽³³⁾ e Leandro et al.⁽⁴⁰⁾, destacaram que quase a totalidade dos GIST é positiva para vimentina e negativa para marcadores de células epiteliais (citoqueratina AE1/AE3), hematopoiéticas (CD3, CD20 e CD79a) e para proteína glial fibrilar ácida (GFAP), porém, neste estudo, notou-se que menos da metade dos GIST foi positiva para vimentina e nenhum caso foi positivo para os demais marcadores, assemelhando-se, em parte, aos referidos estudos. De acordo com Sarlomo-Rikala et al.⁽⁴¹⁾, a ausência de imunomarcagem para GFAP e AE1/AE3 auxilia na confirmação do diagnóstico dos GIST, uma vez que esses marcadores são comumente encontrados em tumores intestinais de Schwannomas e de origem epitelial.

Os dados da literatura científica relacionados à determinação do índice proliferativo neoplásico, medido pela imunomarcagem por Ki-67, ainda não estão totalmente elucidados em cães e humanos; no entanto, essa ferramenta pode ser utilizada para determinar o

potencial de malignidade⁽⁴²⁾. O estudo realizado por Zhao et al.⁽⁴³⁾ para avaliar a sobrevivência de 418 humanos com GIST, demonstrou que índices de proliferação acima de 8% podem conferir prognóstico desfavorável, influenciando a progressão tumoral, o desenvolvimento de metástases e a resposta ao tratamento adjuvante.

5. Conclusão

A partir da histomorfologia, GIST e outros sarcomas intestinais apresentam aspectos estruturais e fenotípicos semelhantes em cães, o que torna o diagnóstico definitivo difícil e, conseqüentemente, o estabelecimento de um protocolo terapêutico adequado. Portanto, a associação da histopatologia e da imuno-histoquímica é essencial à classificação dessas neoplasias, o que pode fornecer um melhor prognóstico aos cães afetados. GIST frequentemente expressam marcadores como CD117 e DOG-1, ao contrário de outros sarcomas intestinais; no entanto, GIST negativos para CD117 podem ser encontrados, sendo erroneamente diagnosticados como outros tumores quando não analisados para DOG-1.

Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Contribuição dos autores

Conceitualização: M.L. Costa, F.A.R. Sueiro, P.C. Jark and F.G.G. Dias. *Análise formal:* M.L. Costa and F.A.R. Sueiro. *Aquisição de financiamento:* F.A.R. Sueiro. *Investigação:* M.L. Costa, L.L. Carvalho, M.A. Rodrigues and F.G.G. Dias. *Metodologia:* M.L. Costa, F.A.R. Sueiro, P.C. Jark, L.L. Carvalho and F.G.G. Dias. *Gerenciamento do projeto:* M.L. Costa, F.A.R. Sueiro and P.C. Jark. *Supervisão:* M.A. Rodrigues and F.G.G. Dias. *Redação (revisão e edição):* M.L. Costa, M.A. Rodrigues, V.T.S. Almeida and F.G.G. Dias.

Agradecimentos e apoio financeiro

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código financeiro 001. Além disso, agradecemos ao Laboratório de Análises Clínicas VETPAT (Campinas - SP) e a Universidade de Franca (UNIFRAN).

Referências

1. Leandro RM, Sá LRM. Tumor estromal gastrointestinal em cães: estudo clínico-anatomopatológico. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2016; 68(4):938-944. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8767>.
2. Munday JS, Lohr CV, KiupeL M. Tumors in Domestic Animals: Tumors of the alimentary tract. 5 th ed. Iowa State Press: Offices, 2017.
3. Morrice M, Polton G, Beck S. Evaluation of the extent of neoplastic infiltration in small intestinal tumours in dogs. Veterinary Medicine and Science. 2019; 5(2):189-198. Disponível em:

<https://doi.org/10.1002/vms3.147>.

4. Selmic LE, Selting KA, Reagan JK. Small Animal Clinical Oncology: Cancer of the gastrointestinal tract. 6 th ed. St. Louis: Elsevier, 2019.
5. Tiwari SB, Karki S. Epithelioid gastrointestinal stromal tumor of duodenum mimicking adenocarcinoma: a case report. Journal of Nepal Medical Association. 2021; 59(244):1310-1312. Disponível em: <https://doi.org/10.31729/jnma.6104>.
6. Inoue A, Ota S, Yamasaki M, Batsaikhan B, Furukawa A, Watanabe Y. Gastrointestinal stromal tumors: a comprehensive radiological review. Japanese Journal of Radiology. 2022; 40(1):105-1120. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11604-022-01305-x>.
7. Berger EP, Johannes CM, Jergens AE, Allenspach K, Powers BE, Du Y, Mochel JP, Fox LE, Musser ML. Retrospective evaluation of Toceranib Phosphate (Palladia®) use in the treatment of gastrointestinal stromal tumors of dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2018; 32(6):2045-2053. Disponível em: <http://doi.org/10.1111/jvim.15335>.
8. Zhang Y, Renberg S, Papakonstantinou A, Flon FH. Diagnosing gastrointestinal stromal tumors: The utility of fine-needle aspiration cytology versus biopsy. Cancer Medicine. 2022; 11(14):2729-2734. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cam4.4630>.
9. Alcazar CM, Mahoney JA, Dittrich K, Stefanovski D, Church ME. Outcome, prognostic factors and histological characterization of canine gastrointestinal sarcomas. Veterinary and Comparative Oncology. 2021; 19(3):578-586. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vco.12696>.
10. Akahoshi K, Oya M, Koga T, Shiratsuchi Y. Current clinical management of gastrointestinal stromal tumor. World Journal of Gastroenterology. 2018; 24(26):2806-2817. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i26.2806>.
11. Couto KM, Moore PF, Zwingenberger AL, Willcox JL, Skorpinski KA. Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell intestinal lymphoma. Veterinary Comparative Oncology. 2018; 16(3):337-343. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vco.12384>.
12. Steeghs EMP, Gelderblom H, Ho VKY, Voorham QJM, Willems SM, Consortium P, Grunberg K, Ligtenberg MJL. Nationwide evaluation of mutation-tailored treatment of gastrointestinal stromal tumors in daily clinical practice. Gastric Cancer. 2021; 24(5):990-1002. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10120-021-01190-9>.
13. Casali GP, Abecassis N, Ato TH, Bauer S, Biagini R, Bielack S, Bonvalot S, Boukovinas L, Bovee GMVJ, Brodowicz T, Broto MJ, Buonadona A, Álava E, Tos PD, Muro GX, Dileo P, Eriksson M, Fedenko A, Ferraresi V, Ferrari U, Ferrari S, Frezza MA, Gasperoni S, Gelderblom H, Gil T, Grignani G, Gronchi U, Haas LR, Hassan B, Hohenberger P, Issels R, Joensuu H, Jones LR, Judson E, Jutta P, Kaal S, Kasper B, Kopeckova K, Kráková AD, Cesne LA, Lugowska E, Merimsky O, Montemurro M, Pantaleo AM, Piana R, Picci P, Neumann PS, Pousa LA, Reichardt P, Robinson HM, Rutkowski P, Safwat AA, Schoffski P, Shejfer SS, Hall SK, Unk M, Coevorden VF, Graaf ATW, Whelan J, Wardelmann E, Zaikova O, Blay YJ. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO-EURACAN clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology. 2018; 1(23):68-78. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy095>.
14. Russel KN, Mehler SJ, Skorpinski KA, Baez JL, Shofer FS, Goldschmidt MH. Clinical and immunohistochemical differentiation of gastrointestinal stromal tumors from leiomyosarcomas in dogs: 42 cases (1990-2003). Journal of the American Veterinary Medical Association. 2007; 230(9):1329-1333. Disponível em: <https://doi.org/10.2460/javma.230.9.1329>.
15. Wang C, Jin MS, Zou YB, Gao JN, Li XB, Peng F, Wang HY, Wu ZD, Wang YP, Duan XM. Diagnostic significance of dog-1 and pkc-0 expression and c-kit/pdgfra mutations in gastrointestinal stromal tumors. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2013; 48(9):1055-1065. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/00365521.2013.816770>.
16. Rios-Moreno MJ, Jaramillo S, Galhardo SP, Vallejo A, Mora M, García-Escudero A, Américo J, González-Cámpora R. Gastrointestinal stromal tumors (GIST): CD117, DOG-1 and PKC0 expression. Is there any advantage in using several markers? Pathology - Research and Practice. 2012; 208(2):74-81. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2011.11.006>.
17. West RB, Corlees CL, Chen X, Rubin BP, Subramanian S, Montgomery K, Zhu S, Ball C A, Nielsen TO, Patel R, Goldblum JR, Brown P, Heinrich MC, Rijn MV. The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status. American Journal of Pathology. 2004; 165(1):107-113. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63279-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63279-8).
18. Lee CH, Liang CW, Espinosa L. The utility of discovered on gastrointestinal stromal tumor 1 (DOG1) antibody in surgical pathology- the GIST of it. Advances in Anatomic Pathology. 2010; 17(3):222-232. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e3181d973e2>.
19. Elliott JW, Swinbourne F, Parry A, Baines L. Successful treatment of a metastatic gastrointestinal stromal tumour in a dog with toceranib phosphate (Palladia). Journal of Small Animal Practice. 2017; 58(7):416-418. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jsap.12657>.
20. Irie M, Tomiyasu H, Tsujimoto H, Kita C, Kagawa Y. Prognostic factors for dogs with surgically resected gastrointestinal stromal tumors. Journal of Veterinary Medical Science. 2021; 83(9):481-484. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0727>.
21. Carson FL, Hladik C. Histotechnology - a self instructional text. 3 th ed. Chicago: ASCP Press, 400p., 2009.
22. Zhou Y, Wenging H, Chen P, Abe M, Shi L; Tan S, Li Y, Zong L. Ki67 is a biological marker of malignant risk of gastrointestinal stromal tumors. Medicine. 2017; 96(34): e7911. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000007911>.
23. Shales, C. Management of non-lymphomatous small intestinal tumours in dogs and cats. In Practice. 2015; 37(2):50-67. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/inp.h259>.
24. Hayes S, Gurkan VY, Bryson EG, Kiupel M. Classification of canine nonangiogenic no lymphogenic, gastrointestinal sarcomas based on 14 microscopic, immunohistochemical, and molecular characteristics. Veterinary Pathology. 2013; 50(5):779-778. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0300985813478211>.
25. Yamamoto H, Handa M, Tobo T, Setsu N, Fujita K, Oshiro Y, Mihara Y, Yashikawa Y, Oda Y. Clinicopathological features of primary leiomyosarcoma of the gastrointestinal tract following recognition of gastrointestinal stromal tumours. Histopathology. 2013; 63(2):194-207. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/his.12159>.
26. Dailey DD, Ehrhart EJ, Duval DL, Bass T, Powers BE. Dog1 is a sensitive and specific immunohistochemical marker for diagnosis of canine gastrointestinal stromal tumors. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2015; 27(3):268-277. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1040638715578878>.

27. Robertson S, Patil DT. An update on the role of immunohistochemistry in the evaluation of gastrointestinal tract disorders. *Advances in Anatomic Pathology*. 2020; 27(3):193-205. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000214>.
28. Hemmings C, Yip D. The changing face of GIST: implications for pathologists. *Pathology*. 2014; 46(2):141-148. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PAT.0000000000000047>.
29. Frgelecová L, Skoric M, Fictum P, Roman H. Canine gastrointestinal tract tumours: a retrospective study of 74 cases. *Acta Veterinaria BRNO*. 2013; 82(4):387-392. Disponível em: <https://doi.org/10.2754/avb201382040387>.
30. Patnaik AK, Hurvitz AL, Johnson GF. Canine gastrointestinal neoplasms. *Veterinary Pathology*. 1977; 14(6):547-555. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/030098587701400602>.
31. 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*. 2003; 40(1):42-54. Disponível em: <https://doi.org/10.1354/vp.40-1-42>.
32. Cho SH, Seung BJ, Kim SH, Lim HY, Sur JH. Overexpression and mutation of p53 exons 4-8 in canine intestinal adenocarcinoma. *Journal of Comparative Pathology*. 2020; 175(1):79-84. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2019.12.008>.
33. Maas CPHJ, Haar GT, Gaag IVD, Kirpensteijn J. Reclassification of small intestinal and cecal smooth muscle tumors in 72 dogs: clinical, histopathologic, and immunohistochemical evaluation. *Veterinary Surgery*. 2007; 36(4):302-313. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2007.00271.x>.
34. Mantese, G. Gastrointestinal stromal tumor: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2019; 35(6):555- 559. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000584>.
35. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: Pathology and prognosis at different sites. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2006; 23(2):70-83. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2006.09.001>.
36. Hirota S. Differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumor by histopathology and immunohistochemistry. *Translational Gastroenterology and Hepatology*. 2018; 3(27):1-12. Disponível em: <https://doi.org/10.21037/tgh.2018.04.01>.
37. Novelli M, Rossi S, Rodriguez-Justo M, Taniere P, Seddon B, Toffolatti L, Sartor C, Hogendoorn PCW, Sciote R, Van G, Verweij J, Blay JY, Hohenberger P, Flanagan A, Dei Tos AP. DOG1 and CD117 are the antibodies of choice in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumor. *Histopathology*. 2010; 57(2):259-270. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2010.03624.x>.
38. Kisluk J, Gryko M, Ustymowicz-Guzinska K, Kemon A, Kedra B. Immunohistochemical diagnosis of gastrointestinal stromal tumors – an analysis of 80 cases from 2004 to 2010. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2013; 22(1):33-39.
39. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors (GISTS): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2003; 54(1):3-24.
40. Leandro RM, Freitas FP, Sá LRM. The importance of clinical, histopathological and immunohistochemical marking for differential diagnosis of non-hematopoietic gastrointestinal mesenchymal neoplasms in dogs: literature review. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2017; 54(4):287-297. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2017.128846>.
41. Sarlomo-Rikala M, Tsujimura T, Lendahl U, Miettinen M. Patterns of nesting and other intermediate filament expression distinguish between gastrointestinal stromal tumors, leiomyomas and schwannomas. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. 2002; 110(6):499- 507. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2002.100608.x>.
42. Wang MX, Devine C, Segaran N, Ganeshan D. Current update on molecular cytogenetics, diagnosis and management of gastrointestinal stromal tumors. *World Journal of Gastroenterology*. 2021; 27(41):7125-7133. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i41.7125>.
43. Zhao WY, Xu J, Wang M, Zhang ZZ, Tu L, Wang CJ, Lin TL, Shen YY, Liu QCH. Prognostic value of Ki67 index in gastrointestinal stromal tumors. *International Journal of Clinica & Experimental Pathology*. 2014; 7(5):2298-2304.