

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Isabella Oliveira Almeida

**ESTUDO DO CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM GATOS:
AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS E
ASSOCIAÇÃO COM A IMUNOEXPRESSÃO DE COX-2**

Belo Horizonte

2023

Isabella Oliveira Almeida

**ESTUDO DO CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM GATOS:
AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS E
ASSOCIAÇÃO COM A IMUNOEXPRESSION DE COX-2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo dos Santos Horta.

Coorientadora: Dra. Gleidice Eunice Lavalle.

Belo Horizonte
2023

A447e

Almeida, Isabella Oliveira ,1995 -

Estudo do carcinoma espinocelular cutâneo em gatos: avaliação dos aspectos clínicos e histopatológicos e associação com a imunexpressão de COX-2 / Isabella Oliveira Almeida. – 2023. 86 f.il

Orientador: Rodrigo dos Santos Horta

Coorientadora: Gleidice Eunice Lavalle

Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Bibliografias: f. 66 a 85

Anexos: f. 86.

1. Felino - Teses - 2. Oncologia veterinária - Teses – 3. Ciência animal - Teses - I. Horta, Rodrigo dos Santos - II. Lavalle, Gleidice Eunice – III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

ISABELLA OLIVEIRA ALMEIDA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovado(a) em 27 de fevereiro de 2023, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Rodrigo dos Santos Horta - Orientador(a)

Dr.(a). Gleidice Eunice Lavalle

Dr.(a). Ayisa Rodrigues de Oliveira

Dr.(a). Carmen Helena de Carvalho Vasconcellos



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo dos Santos Horta, Servidor(a)**, em 27/02/2023, às 16:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ayisa Rodrigues de Oliveira, Usuária Externa**, em 27/02/2023, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gleidice Eunice Lavalle, Médica Veterinária**, em 27/02/2023, às 18:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carmen Helena de Carvalho Vasconcellos, Usuária Externa**, em 12/04/2023, às 22:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2105262** e o código CRC **DB89BD48**.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre colocar pessoas maravilhosas em meu caminho, as quais me fazem acreditar em um mundo melhor e me encorajam a prosseguir.

Aos meus pais Ivonilde e Luciano e meu irmão João Gabriel que nunca mediram esforços para me apoiarem em todas as etapas da minha vida e sem vocês eu não chegaria até aqui. Muito obrigada por tudo!

À minha família, em especial a minha tia Fátima Eleonora e noivo Yuri, sinônimos de união e amor. Obrigada por acreditar no meu sonho e sempre me motivar a seguir em frente mesmo com todos os momentos de ausência. É muito bom saber que posso contar com vocês em todos os momentos.

Ao meu orientador, Professor Rodrigo dos Santos Horta, pela oportunidade de realizar este trabalho e me orientar mais uma vez! Obrigada pela confiança e paciência. Agradeço por me guiar nos primeiros passos da oncologia desde a graduação, residência, mestrado e futuramente doutorado. Muito obrigada por tudo!

A banca, professores Ayisa Rodrigues Oliveira, Carmen Helena de Carvalho Vasconcellos e Dra Gleidice Eunice Lavallo pelo aceite a participação da banca e a contribuição para esse trabalho. Muito obrigada!

Ao professor Geovanni Cassali, Mayra e toda equipe do LPC por auxiliar a realização deste trabalho e ao laboratório Multilab em especial, Leonardo Gorza e Luana pelo auxílio nos inúmeros cortes nos blocos de parafina e contribuição com a análise histopatológica com toda paciência desse mundo. Obrigada!

Aos amigos da oncologia UFMG, Miriã, Pedro, Paloma, Mariana Figueiredo, Paula, Thais Coelho, Thays Garreto com toda certeza tem um dedinho de cada um de vocês nesse trabalho e o que cada um me ensinou nesses dois anos, valeu a pena cada conversa e as inúmeras risadas.

À Bruna Sena, amiga que fiz durante a residência e embarcou comigo no sonho e loucura da pós-graduação fora do nosso estado. Obrigada por todo apoio e puxões de orelha nessa caminhada kkkk. Você sabe que a gratidão que tenho por ti é eterna, obrigada por tudo!

Aos gatos, especialmente Cléo e Belezinha, essa espécie que eu amo desde sempre afinal um ronronar cura, renova e traz esperança para nosso coração e para nossa alma.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”

Carl Jung

RESUMO

O carcinoma espinocelular cutâneo (CECC) se destaca dentre as neoplasias cutâneas malignas em felinos, possuindo semelhanças ao câncer de pele “não melanoma” em seres humanos, a exemplo da etiopatogenia relacionada à exposição à radiação ultravioleta, localização anatômica predominantemente em face e comportamento biológico com alta agressividade local, entretanto, com baixo potencial metastático. Esse estudo teve como objetivo avaliar a expressão de COX-2 no CECC em gatos domésticos e avaliar a correlação com aspectos clínicos e histopatológicos. Foram incluídos gatos atendidos no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, com lesões cutâneas suspeitas para carcinoma espinocelular invasor. Realizou-se a recuperação do prontuário médico para registro da raça, idade, sexo, localização das lesões, tratamento realizado, estadiamento clínico, status do teste imunocromatográfico do vírus da imunodeficiência felina (FIV) e vírus da leucemia felina (FeLV), tempo de progressão da doença, histórico de recorrência e sobrevida. Posteriormente foram realizados cortes histológicos e classificação em hiperplasia epitelial atípica, queratose actínica, carcinoma “*in situ*” ou carcinoma espinocelular invasor bem, moderadamente ou pouco diferenciado e graduação de Nagamine para CECC avaliando: grau de queratinização, pleomorfismo nuclear, número de mitose por campo, grau de invasão e inflamação tecidual sendo classificados em grau I, II e III. Foi avaliada a imunomarcagem para COX-2 na queratose actínica, carcinoma *in situ* e CECC considerando distribuição e intensidade da marcação, classificados em escores (baixa e alta imunexpressão). Um total de 24 gatos foram incluídos neste estudo, todos sem raça definida, 45,8% com pelagem branca e 54,2 % mista, com idade entre 2 e 22 anos ($10,5 \pm 4,6$ anos) com localização anatômica 44% no plano nasal, 32% em pinas das orelhas, 8% pálpebras, 8% plano nasal e pina, 4% em região pré-auricular e 4% acometendo plano nasal com extensão à pálpebra. Considerando a classificação histopatológica, obteve-se 2 casos de ceratose actínica, 1 de hiperplasia epitelial atípica, 3 de carcinoma *in situ* e 19 de CECC invasor. Desses, 12/19 (63,2%) foram classificados como bem diferenciados e 7/19 (36,8%) como pouco diferenciados. O sistema de graduação de Nagamine permitiu a classificação de 15,7% como grau I, 73,8% grau II e 10,5% grau III. Em relação à imunexpressão de COX-2 observou-se 10,5% de imunexpressão negativa e 89,5% imunexpressão positiva sendo 41,2 e 58,8% com baixa e alta imunexpressão, respectivamente. Os resultados indicam que houve correlação moderadamente significativa entre distribuição da marcação de COX-2 e índice mitótico ($p=0,0387$; $rs=0,4772$). Ademais, observou-se que não houve correlação significativa entre o escore da imunexpressão COX-2 com estadiamento clínico, graduação histopatológica de Nagamine, intervalo livre de doença ou sobrevida ($p>0,05$). Portanto, evidenciou-se com esse estudo elevada imunexpressão de COX-2 no CECC felino, e que novos estudos, com maior número de casos, e formas diferenciadas de avaliação da expressão de COX-2 podem elucidar sua importância prognóstica.

Palavras-chave: Felino. Epiderme. Oncologia. Ciclooxigenase. Graduação

ABSTRACT

Cutaneous squamous cell carcinoma (CSCC) stands out among malignant cutaneous neoplasms in cats, having similarities to “non-melanoma” skin cancer in humans, such as the etiopathogenesis related to exposure to ultraviolet radiation, anatomical location predominantly on the face and biological behavior with high local aggressiveness, however, with low metastatic potential. This study aimed to evaluate the expression of COX-2 in CSCC in domestic cats and to evaluate the correlation with clinical and histopathological aspects. Cats attended at the Veterinary Hospital of the Veterinary School of the Federal University of Minas Gerais, with skin lesions suspicious for invasive squamous cell carcinoma, were included. The medical records were retrieved to record the breed, age, sex, location of the lesions, treatment performed, clinical staging, status of the feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) immunochromatographic test, time of disease progression, history of recurrence, and survival. Subsequently, histological sections were performed and classification into atypical epithelial hyperplasia, actinic keratosis, carcinoma *in situ* or invasive squamous cell carcinoma well, moderately or poorly differentiated and Nagamine grading for CSCC evaluating: degree of keratinization, nuclear pleomorphism, number of mitoses per field, degree of invasion and tissue inflammation being classified into grade I, II and III. Immunostaining for COX-2 in actinic keratosis, carcinoma *in situ* and CSCC was evaluated considering distribution and intensity of staining, classified into scores (low and high immunoexpression). A total of 24 cats were included in this study, all mixed breed, 45.8% with white coat and 54.2% mixed, aged between 2 and 22 years (10.5 ± 4.6 years) with anatomical location 44% in the nasal plane, 32% in the pinnae of the ears, 8% eyelids, 8% nasal plane and pinna, 4% in the pre-auricular region and 4% affecting the nasal plane with extension to the eyelid. Considering the histopathological classification, there were 2 cases of actinic keratosis, 1 of atypical epithelial hyperplasia, 3 of carcinoma *in situ* and 19 of invasive CSCC. Of these, 12/19 (63.2%) were classified as well differentiated and 7/19 (36.8%) as poorly differentiated. Nagamine's grading system allowed for the classification of 15.7% as grade I, 73.8% grade II and 10.5% grade III. Regarding the immunoexpression of COX-2, 10.5% of negative immunoexpression and 89.5% positive immunoexpression were observed, with 41.2 and 58.8% with low and high immunoexpression, respectively. The results indicate that there was a moderately significant correlation between the distribution of COX-2 marking and the mitotic index ($p = 0.0387$; $r_s = 0.4772$). Furthermore, it was observed that there was no significant correlation between the COX-2 immunoexpression score and clinical staging, histopathological Nagamine grade, disease-free interval or survival ($p > 0.05$). Therefore, this study showed a high immunoexpression of COX-2 in feline CSCC, and that new studies, with a larger number of cases, and different ways of evaluating COX-2 expression can elucidate its prognostic importance.

Keywords: Feline. Epidermis. Oncology. Cyclooxygenase. Graduation

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema com a anatomia da pele do gato com divisão em camadas 20
- Figura 2 – Subclassificação em estratos da epiderme 21
- Figura 3- Consequências da expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2), mediante a exposição à RUV. A indução da expressão de COX-2 pela RUV leva ao aumento da produção de prostaglandina E2, que se liga e ativa receptores acoplados à proteína G, principalmente EP1, EP2 e/ou EP4. A sinalização dos receptores EP resulta na indução de oncogenes, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, que levam a inflamação com infiltração e ativação de células inflamatórias na derme, induzindo a angiogênese, vasodilatação e permeabilidade vascular com posterior eritema e edema. Além de aumento na proliferação de queratinócitos resultando em hiperplasia epidérmica e redução na apoptose mediada pela indução de estresse oxidativo, dano ao DNA e mutação da p53. A exposição crônica a RUV leva a inflamação crônica que pode resultar em carcinogênese 23
- Figura 4 - Escala adaptada de Fitzpatrick baseada na influência da pigmentação cutânea (fenótipo) e a incidência de tumores associados a exposição solar* 24
- Figura 5– Demonstração da irradiação solar horizontal global adaptada do ano de 2019, com o foco para as Américas região Sul da América do Norte e em totalidade as Américas Central e do Sul especialmente o Brasil (Maior e mais populoso país sul-americano), África, Oceania e região sul da Ásia como os continentes com maiores irradiações solares horizontais globais (Atlas solar global) 26
- Figura 6 - Apresentação clínica de lesões de CECC em felinos (A) Apresentação proliferativa-ulcerativa em plano nasal e (B) Apresentação erosiva em plano nasal 27
- Figura 7– Adaptado esquema com a demonstração do grau invasão histologicamente entre queratose actínica (predominantemente localizada a camada basal), carcinoma in situ (Localizado na totalidade dos estratos da epiderme, porém sem invasão da derme) e carcinoma invasor (Localizado na totalidade dos estratos da epiderme, com invasão da derme) 29
- Figura 8- Caracterização histopatológica das amostras de pele dos felinos deste estudo, para a classificação dos carcinomas de células escamosas (CECC), segundo Yanofsky et al. (2011). (A) CECC invasivo bem diferenciado, com evidenciação dos ninhos de células epiteliais neoplásicas com deposição lamelar concêntrica de queratina (setas), e infiltrado inflamatório linfocitário multifocal moderado (*). Amostra do paciente 19. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. (B) CECC invasivo pouco diferenciado/indiferenciado em plano nasal, caracterizado por perda e substituição do tecido por células epiteliais neoplásicas malignas, com ausência de pérolas de queratina e discreto infiltrado inflamatório linfocitário (*) adjacente ao tumor. Amostra do paciente 1. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. (C) CECC invasivo pouco diferenciado/indiferenciado, com células epiteliais com índices de malignidade elevada, com intenso pleomorfismo nuclear e mitoses

frequentes (setas). Amostra do paciente 1. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x. **(D)** Carcinoma in situ com marcante hiperqueratose e acantose, e células neoplásicas arranjadas em ninhos, com deposição lamelar concêntrica de queratina, restritas a epiderme. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

51

Figura 9- Caracterização histopatológica das amostras de pele dos felinos deste estudo, para a classificação dos carcinomas de células escamosas (CECC), segundo Yanofsky et al. (2011). **(A)** Pele adjacente a pina auricular, com área focal de intensa hiperqueratose (seta), e moderada acantose, caracterizando queratose actínica. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 100x. **(B)** Queratose actínica, com evidência da hiperqueratose e acantose (*). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(C)** Pele pilosa com área focal de hiperplasia da epiderme (*), sem apresentar características de malignidade que justificassem o diagnóstico de CECC. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(D)** Plano nasal com perda e substituição do tecido por células epiteliais malignas, com formações extracelulares multifocais de pérolas de queratina (setas), caracterizando CECC invasivo bem diferenciado. Adjacente ao tumor, observa-se infiltrado inflamatório linfocitário focalmente extenso moderado (*). Amostra do paciente 19. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 100x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

52

Figura 10- Avaliação da marcação imuno-histoquímica para COX-2 das amostras de pele dos felinos deste estudo, segundo graduação proposta por Lavallo et al. (2009). **(A)** Ausência de imunoreatividade. Amostra do paciente 18. COX-2. Aumento de 100x. **(B)** Células epiteliais neoplásicas (10-30%) discretamente imunorreativas. Amostra do paciente 15. COX-2. Aumento de 400x. **(C)** Células epiteliais neoplásicas com acentuada imunoreatividade citoplasmática (31%-60%). Amostra do paciente 11. COX-2. Aumento de 400x. **(D)** Células epiteliais neoplásicas intensamente (61%) imunorreativas. Amostra do paciente 14. COX-2. Aumento de 400x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

53

Figura 11 – Representações gráficas dos 19 gatos com CECC por curva de Kaplan-Meier. **(A)** Representação gráfica da análise de sobrevivência global dos 19 gatos com CECC através do estadiamento clínico ($p < 0,05$). Estágio I ($n = 6$) possuíram maior sobrevivência não atingindo a mediana quando comparados com estágio II ($n = 7$) com mediana de 751 dias e estágio III ($n = 6$) que obteve mediana de 239 dias. **(B)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p < 0,05$) de gatos com estadiamento clínico I ($n = 6$) com mediana de 345 dias e III ($n = 6$) com mediana de 37 dias. **(C)** Representação gráfica da sobrevivência global dos 19 gatos com CECC, conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com baixa imunoreatividade, escore abaixo de 6 ($n = 9$) com a mediana de 239 dias e animais com alta imunoreatividade com escore igual ou maior de 6 ($n = 10$) com mediana de 749 dias. **(D)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p > 0,05$) dos 19 gatos com CECC conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com baixa imunoreatividade, escore abaixo de 6 ($n = 9$) com a mediana de 214 dias e animais com alta imunoreatividade com escore igual ou maior de 6 ($n = 10$) com mediana de 412 dias. **(E)** Representação gráfica da sobrevivência global dos 19 felinos com CECC, conforme a distribuição

da imunoexpressão de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com distribuição menor de 3 ($n = 13$) que obteve mediana de 247 dias e animais com distribuição igual ou maior que 3 ($n = 6$) com mediana de 1132 dias. **(F)** Representação gráfica do intervalo livre de doença dos 19 felinos com CECC, conforme a distribuição da imunoexpressão de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com distribuição menor de 3 ($n = 13$) que obteve mediana de 214 dias e animais com distribuição igual ou maior que 3 ($n = 6$) com mediana de 412 dias. **(G)** Representação gráfica da sobrevida global dos 19 felinos com CECC, conforme a intensidade da imunoexpressão de COX-2 ($> 0,05$). Animais com a classificação relacionados com a intensidade menor de 3 ($n = 9$) que obteve mediana de 239 dias e animais com intensidade igual ou maior que 3 ($n = 10$) que obteve mediana de 925 dias. **(H)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p > 0,05$) dos 19 gatos com CECC conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com a classificação relacionados com a intensidade menor de 3 ($n = 9$) que obteve mediana de 97 dias e animais com intensidade igual ou maior que 3 ($n = 10$) que obteve mediana de 345 dias. 56

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características clínicas gerais dos 19 felinos com CECC incluídos no estudo	48
Quadro 2 - Características histopatológicas dos felinos com CECC (n=19) incluídos no estudo	50
Quadro 3 - Estatística inferencial (correlação de Spearman) dos 19 felinos com CECC submetidos a cirurgia e/ou eletroquimioterapia no HV-UFMG do ano de 2012 a 2022	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Graduação de Broders para carcinomas espinocelulares cutâneos baseado na porcentagem de diferenciação celular e tipificados em graus de 1 a 4.	30
Tabela 2 - Graduação de Bryne para carcinomas espinocelulares oral baseado em cinco características morfológicas	31
Tabela 3 - Estudos selecionados com autores que realizaram imuno-histoquímica para COX-2 sob diferentes metodologias em carcinomas espinocelulares felinos (oral e cutâneo)	32
Tabela 4 – Classificação TNM de estadiamento clínico para o CECC adaptado de (Bukhari <i>et al.</i> , 2015)	40
Tabela 5 – Classificação por graduação para carcinomas espinocelulares cutâneos caninos	42
Tabela 6 – Classificação da margem histopatológica tumoral	43
Tabela 7 - Relação de anticorpo primário utilizado na realização de imuno-histoquímica para COX-2 nas amostras dos felinos incluídos no estudo.	43
Tabela 8 – Graduação de COX-2 a partir da distribuição de células coradas positivas	44
Tabela 9 - Graduação de COX-2 a partir da intensidade da marcação em células positivas	44
Tabela 10 - Características quanto sobrevida e intervalo livre de doença dos felinos com CECC (n=19) incluídos no estudo.	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

‰: Porcentual

CECC: Carcinoma espinocelular cutâneo

CEC: Carcinoma espinocelular

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

COX-2: Cicloxigenase-2

DCCV: Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias

DNA: Ácido desoxirribonucleico - *Deoxyribonucleic Acid*

EQT: Eletroquimioterapia

EV UFMG: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

FeLV: Vírus da leucemia felina - *Feline Leukemia Vírus*

FIV: Vírus da imunodeficiência felina - *Feline Immunodeficiency Vírus*

HIV: Vírus da imunodeficiência humana - *Human Immunodeficiency Virus*

HV-UFMG: Hospital veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

Kg: Kilogramas

LPC: Laboratório de patologia comparada

M²: Metro quadrado

Mg: Miligramas

MG: Minas Gerais

MULTILAB: Laboratório de unidade multidisciplinar e multiusuária de pesquisa animal

Nm: Nanômetro

OMS: Organização Mundial de Saúde

PG: Prostaglandinas

PGE₂: Prostaglandina E₂

QA: Queratose actínica

RUV: Radiação ultravioleta

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

UI/m²: Unidades internacionais por metro quadrado

UV: Ultravioleta

UVA: Ultravioleta A

UVB: Ultravioleta B

UVC: Ultravioleta C

INCA: Instituto Nacional de Câncer

Sumário

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE QUADROS	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. ESTRUTURA DA PELE	20
2.2. CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO	21
2.2.1. ETIOPATOGENIA	21
2.3. CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM GATOS	24
2.3.1. EPIDEMIOLOGIA	24
2.3.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA	26
2.3.3. DIAGNÓSTICO	27
2.3.4. IMUNOEXPRESSÃO DE COX-2	31
2.3.5. TRATAMENTO	34
3. HIPOTESE	38
4. OBJETIVOS	38
4.1. GERAIS	38
4.2. ESPECÍFICOS	38
5. MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1. LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO	39
5.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	39
5.3. SELEÇÃO DOS CASOS	39
5.4. CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	41
5.5. IMUNO-HISTOQUÍMICA	43

6. ESTATISTICA	45
6.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
7. RESULTADOS	46
8. DISCUSSÃO	57
9. CONCLUSÃO	65
10. REFERÊNCIAS	66
ANEXOS	86

1. INTRODUÇÃO

O carcinoma espinocelular cutâneo (CECC) é a neoplasia maligna dos queratinócitos sendo frequentemente observado nos gatos (MILLER *et al.*, 1991; GRAF *et al.*, 2015; MANUALI *et al.*, 2020). Nessa espécie são demonstradas características clínico-patológicas semelhantes ao “câncer de pele não melanoma” em seres humanos (ZINK, 2014), destacando a etiologia com influência da radiação ultravioleta, localização anatômica predominantemente em face, maior incidência em pacientes de idade avançada, características histopatológicas, comportamento biológico localmente invasivo e padrão de metástase (BRANTSCH *et al.*, 2008; SCHMITT *et al.*, 2011; MURPHY, 2013). Apoiando-se, portanto, estudos comparativos de oncologia, estabelecendo uma melhor compreensão da biologia tumoral e permitindo evoluir os protocolos terapêuticos em ambas as espécies (PATRONEK e RAUCH, 2007).

Os efeitos da radiação ultravioleta (RUV) reconhecidamente contribuem para a fotocarcinogênese, possuindo efeitos agudos por danos diretos e indiretos ao ácido desoxirribonucleico (DNA – *Deoxyribonucleic acid*), peroxidação de lipídeos e reticulação proteica, apresentando-se como eritema e queimadura pós exposição ao sol. A perpetuação dessa lesão resulta em inflamação, imunossupressão e mutações no gene supressor de tumor TP53 o que resulta na desregulação apoptótica e leva a proliferação anormal de queratinócitos com múltiplas mutações (MELNIKOVA e ANANTHASWAMY, 2005; NEAGU *et al.*, 2018).

A inflamação e mediadores inflamatórios podem influenciar no crescimento e sobrevivência de células tumorais. A ciclooxigenase 2 (COX-2) é uma enzima pró-inflamatória (PRESCOTT e FITZPATRICK, 2000) que se encontra expressa em diversas neoplasias, especialmente as epiteliais, como o CECC (FREJBORG *et al.*, 2020) sendo envolvida na angiogênese e progressão tumoral (ALBINI *et al.*, 2005) e sua imunoexpressão é associada com pior prognóstico para inúmeros tipos de câncer (DORÉ, 2011; GREGÓRIO *et al.*, 2021). Nos gatos, entretanto, não há estudos correlacionando a expressão de COX-2 no CECC à sobrevida dos pacientes.

Sistemas de graduação histopatológicos são realizados na Medicina com alto valor prognóstico (HEDBERG *et al.*, 2022). Entretanto, na Medicina Veterinária, para gatos, ainda não existem estudos de graduação para CECC (NAGAMINE *et al.*, 2017). Esse estudo teve como objetivo avaliar a expressão de COX-2, realizar graduação no CECC em gatos domésticos e avaliar a correlação com aspectos clínicos e histopatológicos, de forma a ampliar

o conhecimento sobre o comportamento biológico dessa doença e favorecer a definição terapêutica

.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ESTRUTURA DA PELE

A pele é considerada uma das maiores áreas de superfícies de contato epiteliais, juntamente com os pulmões e intestinos (HASLETON, 1972; MOSTELLER, 1987; HELANDER e FÄNDRIKS, 2014; SONTHEIMER, 2014; GALLO, 2017). É dividida em três camadas: epiderme, derme e hipoderme (ABDO *et al.* 2020) (**FIGURA 1**). A camada mais superficial, que é a epiderme, é subdividida, em estratos, equivalendo do meio externo para interno aos estratos córneo, lúcido, granuloso, espinhoso e basal (BADEN, 1979; GOLDSMITH, 1983; AGARWAL e KRISHNAMURTHY, 2022).

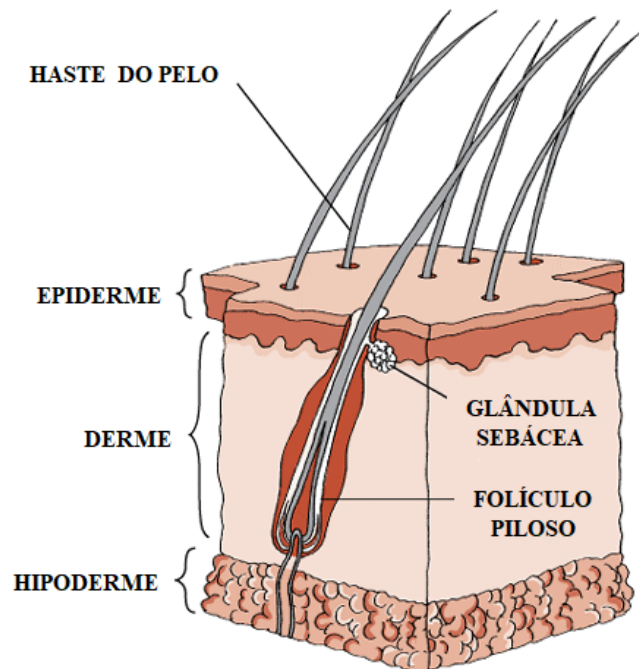


Figura 1 – Esquema com a anatomia da pele do gato com divisão em camadas. Fonte: <https://www.msdtvetmanual.com/cat-owners/skin-disorders-of-cats/structure-of-the-skin-in-cats>

Histologicamente a epiderme é classificada como epitélio escamoso estratificado queratinizado, possuindo populações celulares compostas de células de Merkel, Langerhans, dendríticas, melanócitos e queratinócitos (KOSTER, 2009). Essa camada da pele possui o predomínio do último tipo celular, compondo aproximadamente 80 % da constituição celular epidérmica (WATT, 1989; KOLARSICK *et al.*, 2011). A subdivisão em estratos dessa camada é realizada conforme a morfologia e diferenciação dos queratinócitos (BADEN, 1979; GOLDSMITH, 1983; NAFISI e MAIBACH, 2018; AGARWAL e KRISHNAMURTHY, 2022) (**FIGURA 2**).

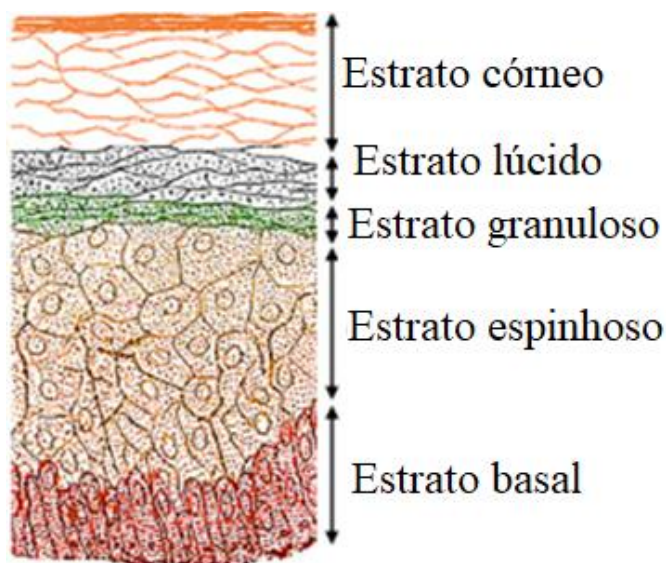


Figura 2 – Subclassificação em estratos da epiderme. Fonte: Adaptado de Nafisi e Maibach (2018)

Na diferenciação ocorrem os processos de queratinização e maturação em ciclos de renovação constante, onde as células epiteliais migram do estrato basal ao córneo onde são denominadas corneócitos (SUN e GREEN, 1976; ECKERT e RORKE, 1989; BIKLE *et al.*, 2012).

2.2. CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO

2.2.1. ETIOPATOGENIA

A exposição à RUV e o CECC é um dos exemplos mais reconhecidos de carcinogênese física especialmente em seres humanos (MANCEBO e WANG, 2014) e nos gatos essa relação também é verificada através de estudos experimentais e epidemiológicos (DORN *et al.*, 1971; ALMEIDA *et al.*, 2008; DOS ANJOS *et al.*, 2020). A RUV solar é subdividida em três faixas de energia, a partir do comprimento de onda, sendo elas, UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) e UVC (200-280 nm) (MATTS, 2006), porém, danos actínicos são correlacionados principalmente com UVB (FU e COCKERELL, 2003), sendo associada a 90% dos casos de câncer de pele “não-melanoma” em pessoas (SCHALKA *et al.*, 2014).

A radiação UVB provoca lesão ao DNA, sendo um fator iniciador ao induzir mutação em células da epiderme, com formação de dímeros de pirimidina de ciclobutano mutagênicos e fotoprodutos de pirimidina e pirimidona, sendo danos causados exclusivamente pela radiação ultravioleta (RAMASAMY *et al.*, 2017). A indução da expressão de COX-2 e o recrutamento de células inflamatórias na derme começa cerca de 4 horas após a exposição a RUV e exposições crônicas levam a hiperplasia e hiperqueratose da epiderme (RUNDHAUG e

FISCHER, 2008). A regulação positiva da expressão de COX-2, leva ao aumento dos níveis de prostaglandinas (PG) na pele, especialmente a prostaglandina E₂ (PGE₂), que medeia sinais envolvidos na indução de inflamação com posterior angiogênese, vasodilatação e permeabilidade vascular, levando a sinais clínicos de eritema e edema cutâneos (GRIVENNIKOV *et al.*, 2010). A PGE₂ pode se ligar e ativar quatro receptores (EP1-EP4) que são acoplados à proteína G, cada receptor leva à ativação de vários mediadores importantes para inflamação, hiperplasia epidérmica e atividades anti-apoptóticas de COX-2/PGE₂ (YANO *et al.*, 2005; O'CALLAGHAN e HOUSTON, 2015) (**FIGURA 3**).

Além disso, a RUV provoca mutações no gene supressor de tumor TP53 que são relatadas em até 70% dos CECC de cabeça e pescoço em seres humanos. Gene que é reconhecido como “guardião do genoma”, uma vez que seu produto, a p53 é capaz de induzir a interrupção do ciclo celular e estimular a transcrição de genes de reparo do DNA ou apoptose (BENJAMIN e ANANTHASWAMY, 2007). O que leva a propagação de queratinócitos com mutações que possuem resistência à apoptose e estimulo a hiperproliferação promovendo a expansão clonal de células iniciadas (TEIFKE e LÖHR, 1996; MURAKAMI *et al.*, 2000; SNYDER *et al.*, 2004; POETA *et al.*, 2007; AMLANI *et al.*, 2019; RENZI *et al.*, 2019; DE BAKKER *et al.*, 2022). A perpetuação da inflamação tecidual de forma crônica desempenha papel crucial nos três estágios do desenvolvimento neoplásico que são a iniciação, promoção e progressão tumoral (MUKHTAR e ELMETS, 1996; MARTENS *et al.*, 2018). De forma crônica, tem-se a hiperplasia compensatória que com o prolongamento da exposição à RUV evoluem para QA e displasia epitelial escamosa de alto grau ou displasia intraepitelial (carcinoma *in situ*) que são consideradas como lesões precursoras/pré-neoplásicas (BONERANDI *et al.*, 2011; RATUSHNY *et al.*, 2012; DE OLIVEIRA *et al.*, 2019).

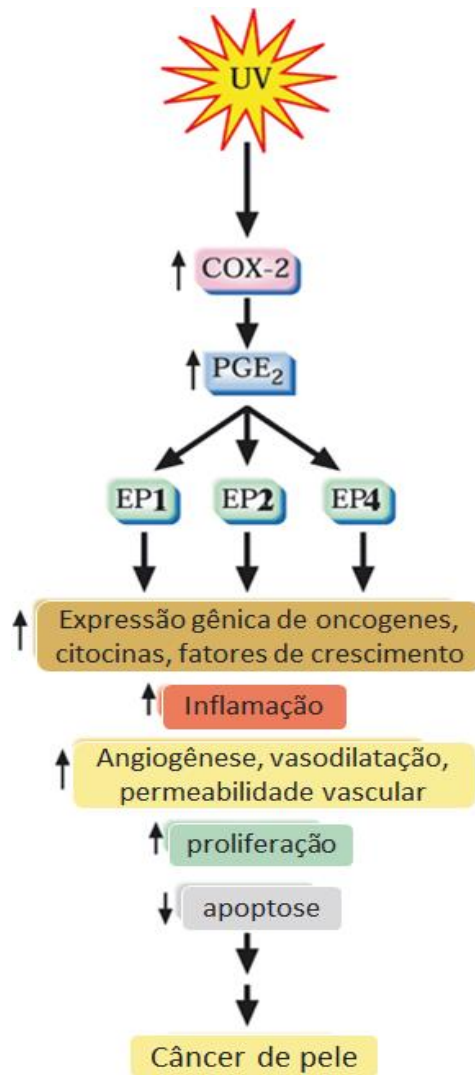


Figura 3- Conseqüências da expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2), mediante a exposição à RUV. A indução da expressão de COX-2 pela RUV leva ao aumento da produção de prostaglandina E2, que se liga e ativa receptores acoplados à proteína G, principalmente EP1, EP2 e/ou EP4. A sinalização dos receptores EP resulta na indução de oncogenes, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, que levam a inflamação com infiltração e ativação de células inflamatórias na derme, induzindo a angiogênese, vasodilatação e permeabilidade vascular com posterior eritema e edema. Além de aumento na proliferação de queratinócitos resultando em hiperplasia epidérmica e redução na apoptose mediada pela indução de estresse oxidativo, dano ao DNA e mutação da p53. A exposição crônica a RUV leva a inflamação crônica que pode resultar em carcinogênese. Fonte: Adaptado de Rundhaug e Fischer (2008)

Na Medicina Humana há a classificação denominada escala de fototipo de Fitzpatrick (1988) com base no fenótipo classificados de I ao VI com relação a reações de eritema e bronzeamento pós exposição solar e sua correlação com a incidência de tumores cutâneos associados a danos actínicos (MOAN *et al.*, 2015) (**FIGURA 4**). Na Medicina Veterinária, entretanto, não há essa classificação por fototipo, porém observa-se através de estudos com cabras, cães, gatos e equinos que indivíduos com pele/pelos claros são mais acometidos por neoplasias associadas aos danos pela RUV (OLARTE SAUCEDO *et al.*, 2019).

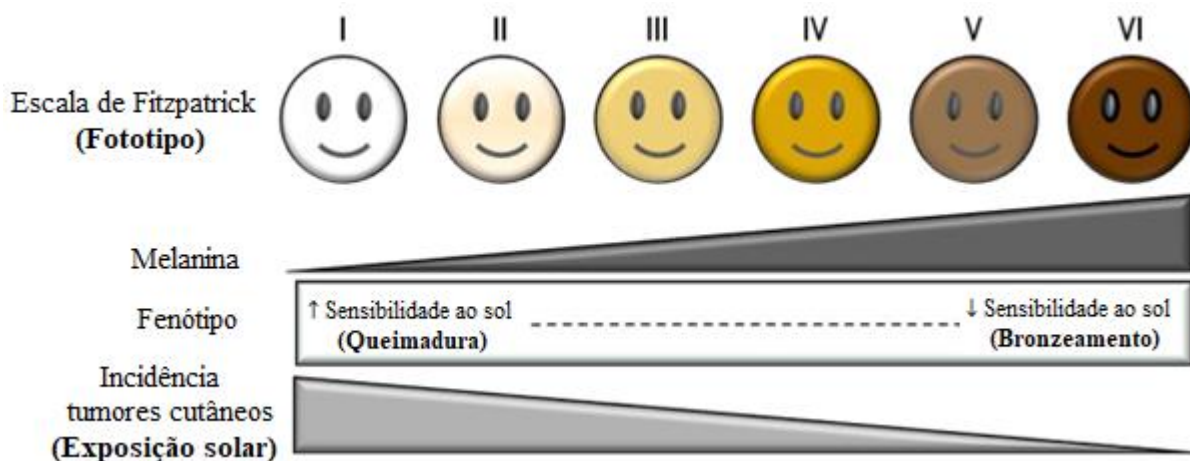


Figura 4 - Escala adaptada de Fitzpatrick baseada na influência da pigmentação cutânea (fenótipo) e a incidência de tumores associados a exposição solar*. Fonte: Adaptado de D’Orazio *et al.* (2013)

* Indivíduos de pele clara (baixo nível de melanina) exibem fenótipo sensível aos raios ultravioleta (UV), com tendência a queimadura ao invés de bronzeamento (pós exposição solar)

A imunossupressão também contribui com o desenvolvimento do CECC, tanto em seres humanos, quanto em animais, podendo ser induzida pela radiação UV ou outras situações (STRAVODIMOU *et al.*, 2018). Pessoas transplantadas possuem risco 60 a 200 vezes maior de desenvolver CECC (CHOCKALINGAM *et al.*, 2015; COLLINS *et al.*, 2019; URSO *et al.*, 2022), o mesmo também foi visto em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV – *Human Immunodeficiency Virus*), com incidência de tumores cutâneos do tipo não melanoma 40 vezes maior quando comparados a indivíduos HIV-negativos (SILVERBERG *et al.*, 2013).

Em ambos os casos, acredita-se que a imunossupressão prejudica a vigilância imunológica que reduzem a resposta imune contra a neoplasia, com queda de fatores antitumorais da imunidade inata, entretanto, faltam estudos na veterinária que demonstrem essa relação às retrovírus felinas como o vírus da imunodeficiência felina (FIV – *Feline Immunodeficiency Virus*) e vírus da leucemia felina (FeLV – *Feline Leukemia Virus*), que possuem alta prevalência no Brasil (GREVOT *et al.*, 2005; CONCEIÇÃO *et al.*, 2007; PLASMEIJER *et al.*, 2019).

2.3. CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM GATOS

2.3.1. EPIDEMIOLOGIA

O CECC figura entre os tumores cutâneos mais frequentemente observados na espécie felina (MILLER *et al.*, 1991; GRAF *et al.*, 2015; HO *et al.*, 2018; MANUALI *et al.*, 2020),

correspondendo à neoplasia maligna dos queratinócitos, apresentando, como sinónímias, carcinoma de células escamosas ou carcinoma epidermóide (FAVROT *et al.*, 2009; YANOFISKY *et al.*, 2011).

Acomete principalmente gatos de média idade a idosos (7 a 12 anos) (MURPHY, 2013), com localização anatômica predominantemente em face, e, regiões em pele com rarefação pilosa ou glabra como região de alopecia pré-auricular, pálpebras, plano nasal, pina de orelhas e lábios, semelhante ao que ocorre em seres humanos, embora, além da face, seja frequente o acometimento das costas, regiões mais diretamente atingidas pela RUV (COTCHIN, 1961; GOLDSCHMIDT, 1984; FELLER *et al.*, 2016).

O CECC é observado principalmente em indivíduos de coloração de pelame e/ou pele clara (MELEO, 1997; JENNINGS e SCHMULTS, 2010; NARAYANAN *et al.*, 2010; LINOS *et al.*, 2016), gatos de pelame branco possuem 13,4 vezes maior risco para desenvolver CECC quando comparados a indivíduos de pelame pigmentado (DORN *et al.*, 1971). Não possui prevalência por raça, porém a raça siamesa raramente é acometida por essa neoplasia, visto que, possuem maior pigmentação de pelame no centro e extremidades da face, áreas que são mais expostas à RUV (MILLER *et al.*, 1991) e diferentemente do visto em humanos onde a incidência no sexo masculino para o feminino é de 2:1, acredita-se que por maiores atividades ocupacionais com exposição solar e menores cuidados com fotoproteção, o mesmo não é visto nos gatos onde não há comprovação de predileção sexual (NUNES *et al.*, 2009; MURPHY, 2013).

A estimativa brasileira de câncer de pele “não melanoma” catalogada pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) do ano de 2022 é de 220.490 de novos casos em paciente humanos com 2653 mortes em decorrência da doença. Casos avançados da doença são mais observados em países subdesenvolvidos pela carência tanto em saúde pública humana, quanto acesso a serviços veterinários (NARAYANAN *et al.*, 2010; LINOS *et al.*, 2016; ALVES *et al.*, 2022). O CECC possui incidência de 15 a 48% na espécie felina, a oscilação da taxa se deve a variabilidade da incidência solar mundial, sendo frequentemente observado em países tropicais com alta incidência solar (TEMANEH-NYAH e MUKWEKWE, 2015) como o Brasil (**FIGURA 5**). Estudos retrospectivos norte-americanos como os de Priester (1973), Miller *et al.* (1991), Schmidt *et al.* (2010) e Ho *et al.* (2018) demonstram o CECC como a terceira neoplasia cutânea mais frequente na espécie felina. Há escassez de estudos na veterinária com incidência do CECC no Brasil, entretanto, no trabalho de Priebe *et al.* (2011),

estudo retrospectivo com a ocorrência de neoplasias em cães e gatos da mesorregião metropolitana de Belém, entre as neoplasias cutâneas, o carcinoma espinocelular, ocupou o primeiro lugar entre tumores de pele mais frequentes em gatos, o mesmo foi observado por Lima *et al.* (2018) em estudo retrospectivo da casuística de felinos domésticos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de 2005 a 2014.

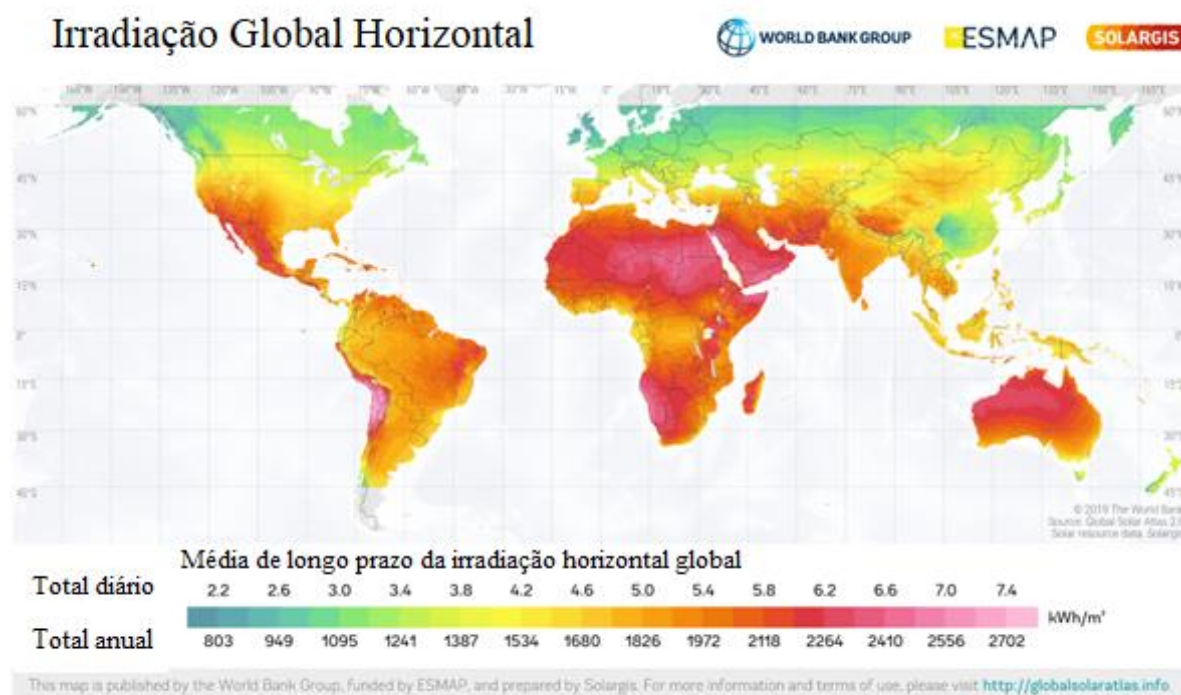


Figura 5– Demonstração da irradiação solar horizontal global adaptada do ano de 2019, com o foco para as Américas região Sul da América do Norte e em totalidade as Américas Central e do Sul especialmente o Brasil (Maior e mais populoso país sul-americano), África, Oceania e região sul da Ásia como os continentes com maiores irradiações solares horizontais globais (Atlas solar global). Fonte: <https://globalsolaratlas.info>

2.3.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

O CECC pode se apresentar como lesões únicas ou múltiplas (SPUGNINI *et al.*, 2009), proliferativas com aspecto de “couve-flor” ou mais frequentemente erosivas com crostas, ulceradas e hemorrágicas com o histórico de progressão relatado como feridas que não cicatrizam. Os diagnósticos diferenciais incluem outras neoplasias cutâneas (tumor de células basais, mastocitoma, melanoma, hemangiossarcoma), dermatoses fúngicas profundas (esporotricose e criptococose), parasitárias (leishmaniose), doenças autoimunes (pênfigo foliáceo e lúpus) e inflamatórias (atopia felina) (MURPHY, 2013).



Figura 6 - Apresentação clínica de lesões de CECC em felinos (A) Apresentação proliferativa-ulcerativa em plano nasal e (B) Apresentação erosiva em plano nasal. Fonte: Arquivo pessoal.

Como comportamento biológico, tem como característica alta invasividade local, com taxa de envolvimento ósseo de 10 a 12,5% (BREUNINGER *et al.*, 1990). Contudo, com baixa taxa de metástase (2-10%), sendo os principais sítios linfonodos regionais de cabeça e pescoço (linfonodo mandibular, parótideo, cervical e retrofaríngeo) e pulmão (BRANTSCH *et al.*, 2008; SCHMITT *et al.*, 2011).

2.3.3. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico se baseia na associação de características epidemiológicas, histórico, anamnese, exame físico e exames complementares. A realização de punção aspirativa ou capilaridade para exame citológico é dificultosa por muitas vezes serem lesões pequenas em localizações delicadas, além de possuírem acentuado a moderado infiltrado inflamatório o que prejudica a leitura pelo patologista (GARMA-AVIÑA, 1994; VEGA-MEMIJE *et al.*, 2000; PAREKH e SEYKORA, 2017).

O exame histopatológico é, portanto, o padrão-ouro para diagnóstico, podendo associar a imuno-histoquímica, visibilizando a identificação de fatores prognósticos e/ou preditivos (RINKER *et al.*, 2001; SCHMITZ e KANITAKIS, 2019). Fatores prognósticos atribuem-se a medida do resultado clínico obtido com a aplicação de terapias padronizadas *versus* ausência de tratamento, sendo reconhecida como medida do curso natural de uma doença. Fatores preditivos, por sua vez, referem-se a uma medida que é associada a presença ou ausência de benefício a terapias específicas empregadas a dado paciente, sendo avaliadas, status do biomarcador com resultados clínicos, tais como, sobrevida global e intervalo livre de doença. (CLARK *et al.*, 2006; SIMMS *et al.*, 2013).

O CECC é resultado do processo de displasia crônica que envolve a formação da queratose actínica (QA), posteriormente carcinoma *in situ* e então invasor (MARTINCORENA *et al.*, 2015; FANIA *et al.*, 2021). A principal diferença entre essas três afecções são o grau de invasão e pleomorfismo celular que são observados pelo exame histopatológico (FAVROT *et al.*, 2009) (**FIGURA 6**). Na QA tem-se a presença de queratinócitos atípicos (confinados a epiderme), podendo apresentar hiperqueratose, acantose e atipia celular majoritariamente congregada ao estrato basal, porém, pode se estender até ao estrato granular, entretanto não abrange a totalidade de estratos da epiderme (FU e COCKERELL, 2003; DE OLIVEIRA *et al.*, 2019), clinicamente apresentam-se como lesões eritematosas, hiperqueratósicas, descamativas, pápulas/placas irregulares e alopecícas. Nos felinos, a localização anatômica frequentemente acometida são marginais a pinas das orelhas, porém, também pode ocorrer na face em geral (ALMEIDA *et al.*, 2008). O carcinoma *in situ* no entanto histologicamente também apresenta atipias em queratinócitos porém com intensa atividade mitótica, pleomorfismo celular com marcada anisocariose porém abrangendo a totalidade de estratos da epiderme, no entanto, sem invasão da camada derme (FAVROT *et al.*, 2009) e o carcinoma espinocelular invasor apresentam semelhanças com as lesões precursoras porém há a infiltração dos queratinócitos atípicos ao estrato basal invadindo a derme, e em alguns casos até a hipoderme, musculatura ou ossos (MURPHY, 2013).

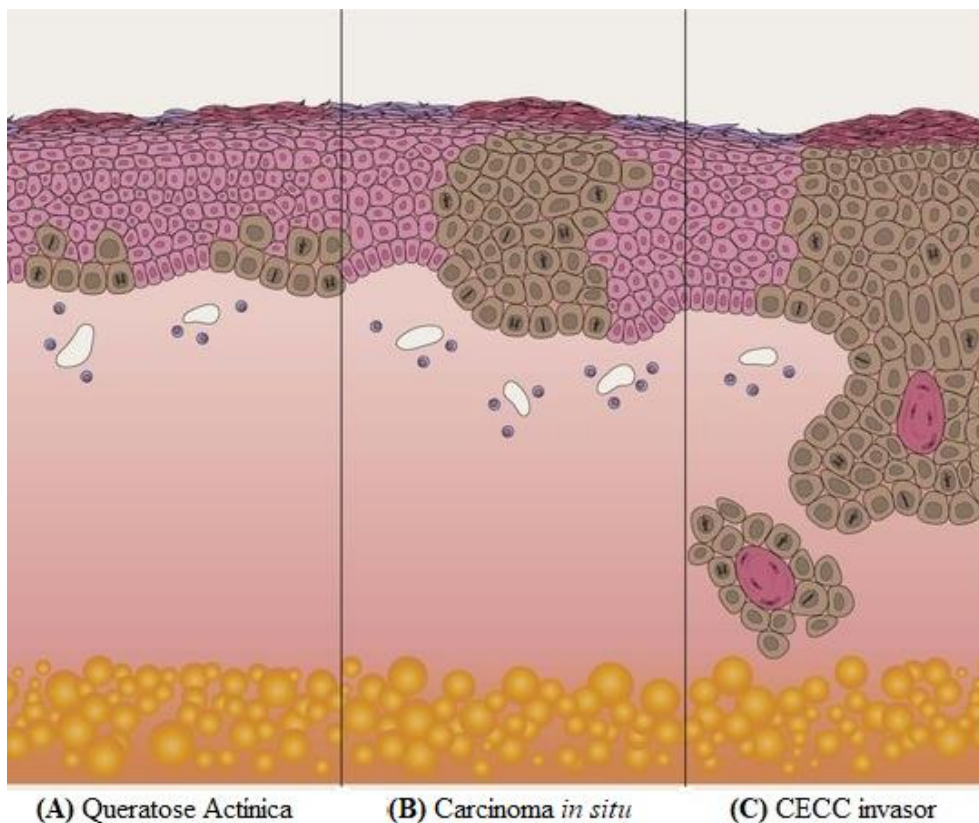


Figura 7– Adaptado esquema com a demonstração do grau invasão histologicamente entre queratose actínica (predominantemente localizada a camada basal), carcinoma in situ (Localizado na totalidade dos estratos da epiderme, porém sem invasão da derme) e carcinoma invasor (Localizado na totalidade dos estratos da epiderme, com invasão da derme). Fonte: <https://plasticsurgerykey.com/actinic-keratosis-basal-cell-carcinoma-and-squamous-cell-carcinoma/>

Carcinomas espinocelulares tanto cutâneos quanto orais, em pessoas, são classificados de acordo com o subtipo/variante (THOMPSON, 2003; PATHAK *et al.*, 2014; QUE *et al.*, 2018; SEKHAR e RAJ, 2021; MUKKANWAR *et al.*, 2022) que são subdivididas em: Comum ou típico, ceratoacantoma, acantolítico, fusiforme e verrucoso (SCHMITZ e KANITAKIS, 2019).

A variante comum é classificada conforme o grau de diferenciação e é o subtipo mais corriqueiro equivalendo a aproximadamente 85 a 90 % dos casos (THOMPSON, 2003; YANOFSKY *et al.*, 2011), podendo ser bem diferenciado quando a morfologia tecidual é próxima ao epitélio normal, porém com a evidenciação da invasão da derme através da membrana basal, moderadamente e o pobremente diferenciado que possui pouca semelhança ao epitélio da epiderme normal e comumente tem diversas figuras de mitose e necrose (RINKER *et al.*, 2001).

O ceratoacantoma tem como característica queratinócitos com citoplasma claro, crescimento endo/exofítico e simétrico com formato de vulcão, com microabcessos dentro da área tumoral e pouca atipia celular. O acantolítico possui o predomínio de queratinócitos acantolíticos dentro de espaços pseudoglandulares intratumorais, fusiforme é um subtipo incomum onde os queratinócitos possuem aspecto fusiforme sendo necessário imuno-histoquímica para diferenciação de tumores mesenquimais e a variante verrucosa possui importante hiperplasia e hiperqueratose da epiderme, superfície irregular de aspecto verrugoso, com queratinócitos bem diferenciados e pouca atipia celular (RINKER *et al.*, 2001; THOMPSON, 2003; YANOFSKY *et al.*, 2011; MUKKANWAR *et al.*, 2022).

Na Medicina Veterinária se tem poucos trabalhos com classificação por variantes histológicas (OGILVIE *et al.*, 1988; CUSHING *et al.*, 2010; NEMEC *et al.*, 2012; SOUKUP *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2018; THAIWONG *et al.*, 2018). Na espécie felina se tem apenas um trabalho com subclassificação por variantes, o estudo de Rodríguez Guisado *et al.* (2021) com carcinoma espinocelulares de variante fusiforme (n=18) que demonstrou 17% de recidiva local associada a eutanásia por progressão da doença durante o acompanhamento de 7 a 25 meses.

Alguns sistemas de graduação são realizados para CECC especialmente na Medicina Humana, sendo um dos mais antigos o descrito por Broders (1920), realizado com carcinoma espinocelular labial/perilabial, e baseando-se no grau de diferenciação dos queratinócitos (**TABELA 1**) essa classificação é firmada em três parâmetros: grau de queratinização, número de mitoses e pleomorfismo celular e demonstrou correlação reduzido intervalo livre de doença e maior taxa de recidiva.

Tabela 1 – Graduação de Broders para carcinomas espinocelulares cutâneos baseado na porcentagem de diferenciação celular e tipificados em graus de 1 a 4.

CLASSIFICAÇÃO(GRAU)	DIFERENCIAÇÃO CELULAR (%)
Bem diferenciado (Grau 1)	>75
Moderadamente diferenciado (Grau 2)	50-75
Pobrememente diferenciado (Grau 3)	25-50
Anaplásico (Grau 4)	<25

Fonte: Broders (1920)

Na Medicina Veterinária, o CECC é categorizado, de forma subjetiva em bem, moderadamente e pouco ou pobremente diferenciado (GOLDSCHMIDT e GOLDSCHMIDT, 2016). O CECC bem diferenciado se caracteriza por queratinócitos neoplásicos com abundante citoplasma eosinofílico, marcada inflamação peritumoral, pontes intercelulares e pérolas de queratina diversas, entretanto, o pleomorfismo celular e índice mitótico baixos. O moderadamente diferenciado apresenta citoplasma menos eosinofílico, maior pleomorfismo celular, índice mitótico (pode ter figuras de mitose bizarras em pequeno número) e pontes intercelulares de difícil identificação e menor número de pérolas de queratina quando comparados aos bem diferenciados. Pobrememente diferenciado é marcado pelo intenso pleomorfismo celular (múltiplas células bi ou trinucleadas) e índice mitótico, com poucas células inflamatórias, pérolas de queratina e indistinguíveis pontes celulares (WEISS e FRESE, 1974). Outro trabalho altamente reconhecido é o de Bryne *et al.* (1989) para carcinomas espinocelulares orais em pessoas, baseado em cinco características morfológicas (**TABELA 2**) apresentando elevado valor prognóstico (Bryne *et al.*, 1992).

Tabela 2 - Graduação de Bryne para carcinomas espinocelulares oral baseado em cinco características morfológicas

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	VALOR DE ESCORE			
	1	2	3	4
Grau de queratinização	Alto (> 50% células)	Moderado (20-50% das células)	Mínimo (5-20% das células)	Ausente (0-5% das células)
Pleomorfismo nuclear	Baixo pleomorfismo (< 25%)	Moderado pleomorfismo nuclear (25 a 50%)	Intenso pleomorfismo (50-75%)	Extremo pleomorfismo (75-100%)
Número de mitoses	0-1	2-3	4-5	>5
Padrão de invasão	Bem delimitado	Presença de cordões sólidos ou em feixes	Presença de pequenos grupos de cordões ou células (n>15)	Presença de pequeno grupo de células dissociadas e/ou células individuais (n<15)
Infiltrado inflamatório	Acentuado	Moderado	Leve	Ausente

Sendo classificados em grau I (escore total 5-10), grau II (escore 11-15) e grau III (escore 16-20)

Fonte: Bryne *et al.* (1989)

Na Medicina Veterinária, Nagamine *et al.* (2017) elaborou um sistema de graduação baseado no de Bryne para seres humanos, mas direcionado ao carcinoma espinocelular cutâneo e oral em cães, sendo classificados em graus de I a III mediante a pontuação obtida, entretanto, não foi realizada a correlação com sobrevida e para felinos ainda não existem estudos de graduação para CECC.

2.3.4. IMUNOEXPRESSÃO DE COX-2

A COX-2 é uma enzima relacionada à iniciação, promoção e progressão tumoral (HASHEMI GORADEL *et al.*, 2019). Atualmente se conhece o papel que os mediadores inflamatórios possuem no crescimento e sobrevivência de células tumorais. Em células normais usualmente não se tem a expressão de COX-2, diferentemente de várias neoplasias, em que ocorre a

superexpressão induzida principalmente por citocinas que participam de processos biológicos, incluindo a angiogênese tumoral (ALBINI *et al.*, 2005).

Inúmeros trabalhos demonstram expressão desta enzima em tumores epiteliais, como carcinomas intestinais em seres humanos (WANG e DUBOIS, 2010), uroteliais em cães (GRASSINGER *et al.*, 2019) e mamários em cadelas e gatas (LAVALLE *et al.*, 2009; CAMPOS *et al.*, 2016), além da sua associação com pior prognóstico, em carcinoma de células de transição de bexiga em felinos, osteossarcoma apendicular em cães e carcinomas mamários em cadelas e gatas (NASSAR *et al.*, 2007; DORÉ, 2011; GREGÓRIO *et al.*, 2021).

A expressão de COX-2 é variável (**TABELA 3**), no carcinoma espinocelular oral felino com trabalhos como o de Beam *et al.* (2003) com avaliação da porcentagem de células positivas e intensidade da coloração com 2/21 (9%) de imunoexpressão, até estudos como o de Hayes *et al.* (2006) com metodologia semiquantitativa a partir da distribuição porcentagem de células positivas e intensidade da marcação com 37/55 (67%) de expressão para COX-2. Nos estudos com CEC cutâneo e oral na mesma espécie no estudo de Millanta *et al.* (2016) com escore semi-quantitativo de 0 a +3, em 22/36 (61%) de expressão de COX-2. Já no trabalho de Bardagí *et al.* (2012) houve imunoexpressão em 27/27 (100%) CECC, porém não foi realizado a graduação em escores e ambos trabalhos não realizaram correlação com sobrevida.

Tabela 3 - Estudos selecionados com autores que realizaram imuno-histoquímica para COX-2 sob diferentes metodologias em carcinomas espinocelulares felinos (oral e cutâneo)

AUTOR (ANO)	N AMOSTRAL	LOCALIZAÇÃO	ESTRATÉGIA DE AVALIAÇÃO	RESULTADOS
Beam <i>et al.</i> (2003)	21 felinos	Oral	Porcentagem de células positivas e intensidade da coloração. Distribuição: 1 = <10% das células com coloração positiva (CCP); 2 = 10–30%ccp 3 = 31–60%ccp; 4 = >60%ccp Intensidade: 0 = negativo; 1 = coloração fraca; 2 = coloração moderadamente	2/21 (9%) imunoexpressão para COX-2 Distribuição 1: 2/2 Intensidade 1: 1/1 2: 1/1

				intensa e 3 = coloração intensa.	
				Semiquantitativa	37/55 (67%) imunexpressão para COX-2
				Distribuição porcentagem de células positivas: <1%, 2-10%, 11- 50%, 51-75%, 75- 100%.	Distribuição < 1%: 32/37 2-10%: 3/37 11-50%: 2/37
Hayes <i>et al.</i> (2006)	55 felinos	Oral		Intensidade: fraco (+), moderado (++) ou marcado (+++)	Intensidade +: 7/37 ++: 29/37 +++: 1/37
Bardagí <i>et al.</i> (2012)	27 felinos	Cutâneo		Metodologia não apresentada	27/27 (100%) imunexpressão de COX-2
				Escore (porcentagem de células imunorreativas em combinação com estimativa da intensidade)	
				0: ausência de marcação, +1: marcação citoplasmática difusa fraca (ou intensidade forte) em <10% das células, +2: marcação moderado a forte citoplasmática granular de 10-90% das células, +3:>90% das células com marcação forte (Escore > 2 indica elevada imunexpressão)	22/36 (61%) imunexpressão de COX-2
Millanta <i>et al.</i> (2016)	36 gatos	Cutâneo e oral			

Rundhaug *et al.* (2007) demonstrou que a utilização de inibidores seletivos para COX-2 em camundongos, possuiu atividade preventiva contra a carcinogênese induzida pela RUV, reduzindo inflamação e danos cutâneos, logo, a utilização de anti-inflamatórios seletivos poderia ser administrada como terapia individualizada em pacientes com elevados escores de

COX-2 (LAVALLE *et al.*, 2009), entretanto, necessita-se de mais estudos a fim de se verificar essa ação em outras espécies, como, no gato doméstico.

O gato doméstico, entretanto, apresenta maior sensibilidade à anti-inflamatórios seletivos, com risco de lesão renal, mas toleram aparentemente bem o uso de anti-inflamatórios preferenciais para COX-2 como o meloxicam, que pode ser administrado por via oral, com segurança, na dose de 0,01-0,03 mg/kg, uma vez ao dia, por longos períodos (SPARKES *et al.*, 2010; KUKANICH *et al.*, 2021; KEEPMAN e PELLIN, 2022). Trabalhos ratificam valor prognóstico e preditivo para a implementação de terapias anti-inflamatórias para outros tipos histopatológicos (LAVALLE *et al.*, 2009; ROSSI *et al.*, 2018; CARNEIRO *et al.*, 2019; GREGHI *et al.*, 2021; PETRUCCI *et al.*, 2021), no entanto, existem poucos estudos com CECC em seres humanos e animais (LOGGINI *et al.*, 2003; FLORENCE *et al.*, 2011).

2.3.5. TRATAMENTO

Visto que o CECC possui o comportamento localmente invasivo, com baixas taxas de metástase (ALMEIDA *et al.*, 2008; MURPHY, 2013), o tratamento é direcionado principalmente para controle local de doença, destacando-se a cirurgia com excisão tumoral completa e obtenção de margens livres de células neoplásicas, porém pela localização anatômica das lesões na espécie felina e humana serem predominantemente em face, o tratamento torna-se desafiador e muitas vezes, necessita-se de cirurgias mutilantes (WILLCOX *et al.*, 2019; RODRÍGUEZ GUIADO *et al.*, 2021). Ademais, frequentemente é necessária a associação de técnicas para adequado controle local de doença como radioterapia e eletroquimioterapia (DOS ANJOS *et al.*, 2020; SWAN *et al.*, 2021).

A radioterapia (RT) é uma terapia de controle local amplamente utilizada, especialmente na região Norte-americana e Europa, onde raios ionizantes são entregues ao paciente por uma fonte, existem diferentes tipos de máquinas de RT que são usadas para tratar cães e gatos, como, a máquina de cobalto 60, acelerador linear e unidades de ortovoltagem (LARUE e CUSTIS, 2014). A técnica é realizada sob anestesia, pois necessita da imobilização do paciente durante a sessão de radiação, tendo como objetivo administração da dose necessária (*Gray* - Gy) no tecido neoplásico, com mínimo efeito no tecido saudável circundante (DUNFIELD *et al.*, 2018; NOLAN e DOBSON, 2018).

É um tratamento geralmente bem tolerado, entretanto, há toxicidade que são classificadas como agudas que são iniciadas até 6 meses após o término do tratamento, sendo relacionadas

à dose utilizada e localização anatômica tumoral, se apresentando como, eritema, descamação, ulceração e necrose cutânea, mucosite, conjuntivite leve, ceratoconjuntivite seca, úlcera de córnea, cegueira ou glaucoma (GIEGER e NOLAN, 2017) e tardias que aparecem meses ou anos após o tratamento como alopecia, leucotriquia, hiperpigmentação, telangiectasia, atrofia epidérmica, fibrose, necrose, catarata e descolamento de retina (MCENTEE, 2006).

No trabalho de Cunha *et al.* (2010), onde foi avaliada a eficácia de protocolo de RT hipofracionada com acelerador linear no tratamento de CECC em gatos (n=15) foram realizadas quatro frações de 7,6–10 Gy com intervalos de 1 semana, onde 10/25 lesões obtiveram remissão completa com intervalo livre de doença médio de 271 dias. No estudo de Bregazzi *et al.* (2001) foi realizado tratamento com RT paliativa com acelerador linear em carcinomas espinocelulares orais avançados (n=7) em frações de 8 Gy nos dias 0, 7 e 21, entretanto em 85,7% dos pacientes houveram complicações associadas a toxicidade aguda da RT ou progressão da doença que ocasionou na realização de eutanásia, com sobrevida de aproximadamente 60 dias e no trabalho de Swan *et al.* (2021) onde foi avaliado RT estereotáxica com acelerador linear em CECC em estágio avançado (n=5) foram realizadas três frações de 8.75–9 Gy durante o período de 3-5 dias, todos os pacientes tiveram toxicidade aguda da RT e remissão completa de 22–50 dias após as sessões.

No Brasil, a eletroquimioterapia (EQT) vem se destacando na oncologia veterinária, por ser menos onerosa e mais difundida em diferentes estados quando comparada à radioterapia, restrita a grandes centros (RANGEL *et al.*, 2019). A técnica de EQT é ampla utilizada tanto na Medicina veterinária quanto na Medicina Humana e consiste na administração de quimioterápicos seguidos a realização de eletroporação afim de efetivar o influxo do fármaco para o meio intracelular (MIR e ORLOWSKI, 2000; CEMAZAR *et al.*, 2008). Utiliza-se agentes antineoplásicos hidrofílicos como a bleomicina ou cisplatina. Após, são executados pulsos elétricos que possuem alta voltagem com curta duração a fim de promover aumento da permeabilidade celular através da criação de poros na membrana para acréscimo da captação e ação citotóxica dos quimioterápicos. Esses quimioterápicos não penetram a membrana celular naturalmente devido as propriedades físico-químicas e o tamanho molecular, sendo assim, sua ação fica restrita apenas as células eletroporadas, possuindo efeitos colaterais baixos a nulos quando comparados a quimioterapia em máxima dose tolerada (CEMAZAR e SERSA, 2019; SIMČIČ *et al.*, 2021).

O procedimento é uma modalidade de tratamento local bem estabelecida na medicina veterinária no tratamento de tumores em mucosa, subcutâneos e cutâneos. Tem a duração máxima de 28 minutos e é realizado sob anestesia geral, os cuidados pós tratamento se assemelham aos de pós-operatórios convencionais com a utilização de analgésicos, anti-inflamatórios e caso necessário antibióticos (MARTY *et al.*, 2006; MIR, 2006; TOZON *et al.*, 2014; MAGLIETTI *et al.*, 2016; TELLADO *et al.*, 2022).

Na espécie felina, preconiza-se principalmente a administração intravenosa de bleomicina (SPUGNINI *et al.*, 2009; DOS ANJOS *et al.*, 2020). A cisplatina não pode ser administrada pela via intravenosa nessa espécie, pois está relacionada à grave toxicidade pulmonar com evolução para edema pulmonar agudo, hidrotórax, dispnéia, parada cardiorrespiratória e óbito, podendo ser realizada apenas a forma intralesional (BARABAS *et al.*, 2008).

A quimioterapia em máxima dose tolerada possui baixa resposta no CECC (MURPHY, 2013). No estudo de Ogilvie *et al.* (1993) com carcinoma espinocelular oral felino e doença macroscópica (n=32), foi administrado mitoxantrona 2,5 a 6,5 mg/m², pela via intravenosa, a cada 21 dias com 28/32 (87,5%) com progressão de doença. No estudo de Ruslander *et al.* (1997) em felinos com CECC, foi utilizado doxorrubicina 20-30 mg/m², intravenosa a cada 21 dias associada a bleomicina sendo realizados de forma alternada de 10 a 20 UI/m² intramuscular ou intravenosa a cada 7 dias, tendo remissão parcial em 1/4 gatos (25%) e o de Théon *et al.* (1996) realizado carboplatina 100 mg/m² intratumoral em felinos com CECC em plano nasal avançado com remissão completa de 73%.

2.3.6. PROGNÓSTICO

Na Medicina, são considerados fatores prognósticos negativos para CECC correlacionados com exposição a RUV, localização anatômica tumores em orelha e lábio possuem risco elevado de metástases (respectivamente 9 e 14%) em comparação com o risco inicial de 5% para tumores em outros locais expostos ao sol (ROWE *et al.*, 1992; BOISEN *et al.*, 2016; AGOSTINI *et al.*, 2017). O envolvimento linfonodal, quanto maior o número de linfonodos envolvidos (\geq dois linfonodos) pior o prognóstico, sendo de reservado a desfavorável quando se tem a presença de metástase regional e óbito de 50-70% dos pacientes em até 5 anos (BECKHAM *et al.*, 2019). Fatores histopatológicos como espessura do tumor (especialmente acima de 6 mm), infiltração da camada hipoderme, invasão perineural e/ou linfovascular também são considerados fatores prognósticos negativos significativos (BRANTSCH *et al.*,

2008; ODDONE *et al.*, 2009; KARIA *et al.*, 2017; YILDIZ *et al.*, 2020). Ademais, há também fatores correlacionados ao hospedeiro, como, a presença de imunossupressão que demonstrou tempo de sobrevida consideravelmente mais baixa em pacientes imunossuprimidos, especialmente em transplantados e HIV positivos como observado nos trabalhos de Brantsch *et al.* (2008) e Oddone *et al.* (2009).

Em gatos, observa-se que a localização anatômica tem correlação com sobrevida, no trabalho de Lana *et al.* (1997) gatos que possuíam a neoplasia em pina da orelha em lesão única possuíam maior sobrevida (799 dias) em comparação a pacientes com a afecção em plano nasal (675 dias). Esse estudo também apresentou variação do tratamento utilizado, incluindo crioterapia, radioterapia e cirurgia, sendo que a cirurgia resultou em maior intervalo livre de doença (594 dias). Sendo assim, animais com CECC diagnosticados precocemente possuem tratamento cirúrgico mais eficaz pelo tamanho menor de lesões, tendo altas taxas sobrevida com baixa taxa de recorrência.

3. HIPOTESE

Em gatos com carcinomas espinocelulares cutâneos a imunexpressão de COX-2 correlaciona-se a aspectos clínicos e histopatológicos.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAIS

Avaliar a imunexpressão de COX-2 no CECC em gatos domésticos correlacionando com aspectos clínicos e histopatológicos.

4.2. ESPECÍFICOS

- Realizar a graduação histopatológica de CECC em gatos domésticos;
- Avaliar a imunexpressão de COX-2 no CECC em gatos domésticos;
- Avaliar a correlação da imunexpressão tumoral de COX-2 com o sexo, idade, localização tumoral, estadiamento clínico, coloração do pelame, classificação histológica, graduação tumoral, diferenciação, índice mitótico, classificação de margem histopatológica, tempo de progressão, status FIV/FelV, realização de quimioterapia, intervalo livre de doença e sobrevida de gatos com CECC.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o protocolo de número 126/2022, conforme demonstrado no anexo 01.

5.1. LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O projeto foi executado no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG), laboratório de unidade multidisciplinar e multiusuária de pesquisa animal (MULTILAB) da EV-UFMG e Laboratório de Patologia Comparada (LPC) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG) com casos retrospectivos do período entre janeiro de 2012 e julho de 2022 submetidos ao tratamento cirúrgico ou apenas biópsia associada à eletroquimioterapia.

5.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Critérios de inclusão: Foram selecionados felinos, de ambos os sexos, sem distinção de idade, com lesões cutâneas suspeitas para carcinoma espinocelular invasor que foram atendidos no Hospital Veterinário da EV-UFMG e que tenham realizado biópsia com diagnóstico histopatológico obtido no laboratório de patologia animal da EV-UFMG. Critérios de exclusão: Felinos que não realizaram o histopatológico na instituição ou amostras em que houve impossibilidade de recuperação dos blocos de parafina.

5.3. SELEÇÃO DOS CASOS

O prontuário médico foi recuperado para registro da raça, idade, sexo, localização das lesões, histórico de recorrência e sobrevida. Ademais, foi avaliado o estadiamento clínico conforme classificação TNM proposto por Bukhari *et al.* (2015) para CECC de humanos (**TABELA 4**).

O estadiamento clínico é rotineiramente realizado no HV-UFMG a partir da mensuração do tumor primário, palpação e citologia do linfonodo regional (quando presente alterações macroscópicas) e exames de imagem como radiografia de torácica (3 projeções), crânio (quando necessário para avaliação de extensão neoplásica) e ultrassonografia abdominal. Os

felinos passaram por exames pré-anestésicos, incluindo hemograma, bioquímica sérica (ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama-glutamil-transferase, proteínas totais e frações) e quando possível teste imunocromatográfico do vírus de imunodeficiência felina (FIV) e vírus da leucemia felina (FeLV).

Tabela 4 – Classificação TNM de estadiamento clínico para o CECC adaptado de (Bukhari *et al.*, 2015)

ESTÁGIO		TAMANHO DO TUMOR PRIMÁRIO	METÁSTASE (LINFONODO)	METÁSTASE (A DISTÂNCIA)
0	T _{is}	Tumor <i>in situ</i>	N0	M0
I	T ₁	Tumor ≤ 2 cm de diâmetro	N0	M0
II	T ₂	Tumor de 2–5 cm de diâmetro	N0	M0
	T ₃	Tumor > 5 cm de diâmetro		
III	T ₄	Tumor invadindo estruturas extradérmicas profundas (Cartilagem, músculo ou osso)	N0	M0
		Qualquer tamanho	N1	M0
IV		Qualquer tamanho	N1	M1

N0: Ausência de metástase em linfonodo; N1: Presença de metástase em linfonodo
M0: Ausência de metástase distante; M1: Presença de metástase distante

Conforme preconizado no serviço de Oncologia do Hospital Veterinário da UFMG, após a avaliação individual do paciente com CECC é determinado junto ao tutor a modalidade de tratamento empregada: Nos casos em que a ressecção neoplásica é viável, realiza-se cirurgia objetivando margens laterais de 2-3cm e profunda de um plano fascial, podendo ser associada à EQT adjuvante – sendo uma sessão no trans-cirúrgico e uma segunda após 14-28 dias na ocasião de remoção da sutura externa. Em casos inoperáveis, quando há impossibilidade de obtenção de margens cirúrgicas ou múltiplas lesões opta-se pela EQT como abordagem única a cada 14-30 dias com avaliação macroscópica de acordo com o “*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*” (RECIST) (NGUYEN *et al.*, 2015), sendo considerada remissão completa: 100% de redução tumoral com completa reepitelização, parcial: redução de até 30% do volume tumoral, estável: redução abaixo de 30% de volume tumoral ou aumento em até

20% de volume tumoral e doença progressiva: quando há o aparecimento de novas lesões ou aumento maior que 20% de volume tumoral. As sessões são realizadas com administração intravenosa de Sulfato de bleomicina na dose de 15 UI/m², pela via intravenosa em bolus com intervalos de 14-30 dias conforme necessário, porém respeitando a dose cumulativa máxima de 200 UI/m² (SPUGNINI *et al.*, 2009)

Adicionalmente, após 5-8 minutos, realiza-se a administração de cloreto de cálcio na concentração aproximada de 220mM, iniciando, imediatamente a eletroporação (MARTY *et al.*, 2006) com auxílio do aparelho eletroporador VetCP125 ® com oito pulsos de onda quadrada, 1300 V/cm de amplitude, duração de 100 µsegundos/cada e frequência de 5 000 Hz, por meio de eletrodos contendo oito agulhas hexagonais organizadas em duas fileiras, inseridas no tecido tumoral atingindo até o plano subcutâneo com margens de aproximadamente 2 cm ao redor da neoformação, com procedimento de eletroporação com duração máxima de 28 minutos (MIR, 2006). Após a recuperação anestésica todos os pacientes receberam cuidados hospitalares e domiciliares incluindo o uso de anti-inflamatório, analgésico e antibiótico.

5.4. CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

O material histopatológico foi revisado pelo Setor de Patologia Veterinária no Multilab da UFMG, os fragmentos tumorais foram fixados em formaldeído 10% tamponado, clivados e processados pela técnica de emblocamento em parafina (SAMPEDRO-CARRILLO, 2022). Posteriormente foram realizados cortes histológicos com espessura de 4 µm, coloração em hematoxilina e eosina (HE) e avaliação por dois patologistas com microscópio óptico Leica DM2500.

A lesão cutânea foi classificada em hiperplasia epitelial atípica, queratose actínica, carcinoma “*in situ*” ou carcinoma espinocelular invasor e conforme a classificação (GOLDSCHMIDT e GOLDSCHMIDT, 2016) baseado na diferenciação celular em bem, moderadamente e pouco diferenciado.

A graduação do CECC foi realizada de acordo com descrito por Nagamine *et al.* (2017), avaliando as seguintes características microscópicas: grau de queratinização, pleomorfismo nuclear, número de mitose por campo, grau de invasão e inflamação tecidual (**TABELA 5**)

Tabela 5 – Classificação por graduação para carcinomas espinocelulares cutâneos caninos

CARACTERÍSTICA MORFOLÓGICA	VALOR DE ESCORE			
	1	2	3	4
Grau de queratinização	Altamente queratinizado (> 50% células)	Moderadamente queratinizado (20-50% das células)	Minimamente queratinizado (5-20% das células)	Sem queratinização (0-5% das células)
Grau de invasão	Bem delimitado	Presença de cordões sólidos ou em feixes	Presença de pequenos grupos de cordões ou células (n>15)	Presença de pequeno grupo de células dissociadas e/ou células individuais (n<15)
Infiltrado inflamatório	Acentuado	Moderado	Pouco	Ausente
Pleomorfismo nuclear	Baixo pleomorfismo (< 25%)	Moderado pleomorfismo nuclear (25 a 50%)	Intenso pleomorfismo (50-75%)	Extremo pleomorfismo (75-100%)
Número de mitose por campo (10 campos)	0-1	2-3	4-5	>5

Sendo classificados em grau I (escore total 5 a 10), grau II (escore 11 a 15), grau III (escore 16 a 20)

Fonte: Nagamine *et al.* (2017)

O índice mitótico (IM) foi determinado pela contagem do número de figuras de mitose presentes em dez campos aleatórios no aumento de 400x, conforme proposto por Yoshikawa *et al.* (2012). Além da classificação de margem histológica avaliada com microscópio óptico conforme proposto por Stromberg e Meuten (2016) e Meuten *et al.* (2021) (**TABELA 6**)

Tabela 6 – Classificação da margem histopatológica tumoral

CLASSIFICAÇÃO	MARGEM	DISTÂNCIA
M1	Infiltrada/comprometida (focal ou difusa)	0 mm
M2	Próxima	<2mm
M3	Limpa	2-5mm
M4	Limpa	> 5mm

Fonte: Meuten *et al.* (2021)

5.5. IMUNO-HISTOQUIMICA

Para a avaliação imuno-histoquímica (IHQ) realizada no Laboratório de Patologia comparada (LPC) do instituto de ciências biológicas (ICB) da UFMG, os cortes de 4µm foram colocados em lâminas silanizadas e após, desparafinados em estufa a 67 °C por 1 hora, foram alocados em xilol e álcool progressivamente diluídos (**TABELA 7**)

Tabela 7 - Relação de anticorpo primário utilizado na realização de imuno-histoquímica para COX-2 nas amostras dos felinos incluídos no estudo.

ANTICORPO	CLONE	FABRICANTE	DILUIÇÃO	RECUPERAÇÃO ANTIGÊNICA	TEMPO DE INCUBAÇÃO/TEMPERATURA
				pH 6.0	
Anti-COX-2	SP-21	Invitrogen	1:50	Calor úmido pressurizado (125°C) Tampão citrato	14-16h/4°C

A recuperação antigênica foi realizada com solução tampão de citrato pH 6,0 no calor úmido (Panela Pascal). A imunexpressão foi feita com anticorpo primário (anti-Cox-2) *overnight* (1:50). O bloqueio da Peroxidase endógena e de proteína, o anticorpo secundário e polímero foram usados do kit comercial Novolink®. Para revelação também foi utilizado diaminobenzidina (DAB) do mesmo kit. A contra-coloração foi realizada com a Hematoxilina de Harris e para cada reação IHQ serão incluídos controles negativos e positivos. Sendo negativos pele saudável e positivos amostras de carcinoma mamário de gatas previamente testadas.

A avaliação da marcação de COX-2 foi realizada conforme Lavallo *et al.* (2009) e Campos *et al.* (2016), em que é atribuída pontuação considerando distribuição e intensidade pela estimativa da porcentagem de células positivas em cinco campos, no aumento de 400x, obtendo-se escore final, de 0 a 12 (**TABELA 8 e 9**)

Tabela 8 – Graduação de COX-2 a partir da distribuição de células coradas positivas

DISTRIBUIÇÃO	VALOR DE ESCORE				
	0	1	2	3	4
Porcentagem de células positivas	Ausência de marcação	Até 10% de células coradas	De 10 a 30% de células coradas	De 31% a 60% de células coradas	≥ 61% de células coradas

Fonte: Lavallo *et al.* (2009) e Campos *et al.* (2016)

Tabela 9 - Graduação de COX-2 a partir da intensidade da marcação em células positivas

INTENSIDADE	VALOR DE ESCORE			
	0	1	2	3
	Ausência de marcação (-)	Marcação fraca (+)	Marcação moderada (++)	Marcação forte (+++)

Fonte: Lavallo *et al.* (2009) e Campos *et al.* (2016)

O escore final será obtido pela multiplicação dos valores obtidos para distribuição e para intensidade. Sendo classificados em escores (de 0 a 12): Baixa (escore total 0 a 5) e Alta imunexpressão (escore 6 a 12)

6. ESTATISTICA

6.1. ANALISE ESTATISTICA

Foi realizada análise estatística descritiva, todas as informações coletadas foram transferidas para uma planilha de Excell (Microsoft Corp. versão 2301), incluindo idade, raça, coloração de pelagem/pele, localização tumoral, estadiamento clínico, graduação histopatológica e imunexpressão de COX-2.

As curvas de sobrevida entre os pacientes com CECC foram realizadas de acordo com: estadiamento clínico, escore, distribuição e intensidade da imunexpressão de COX-2 e presença ou ausência de remissão tumoral sendo desenvolvidas segundo metodologia descrita por Kaplan e Meier (1958). A sobrevida é estimada baseada na tabulação dos dados dos pacientes que foram a óbito (morte natural ou eutanásia) em função ao avanço da doença, animais cujos óbitos foram causados por outros fatores ou motivo desconhecido, foram tratados como censurados.

A correlação entre o estadiamento clínico e as variáveis grau diferenciação, subtipos histopatológicos, graduação de Nagamine, figuras de mitose por 10 HPF, escore de COX-2, utilização de quimioterapia em máxima dose tolerada foi calculada usando a correlação não-paramétrica de Spearman.

Foram consideradas como significativas as associações e concordâncias cuja probabilidade de significância do teste foi $p < 0,05$. Para o teste de Spearman, considerou-se, dentre as correlações significativas, a força da correlação como forte, se $r_s > 0,7$, moderada se $0,3 < r_s < 0,7$ e fraca se $r_s < 0,3$. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software Graph PadPrism v. 6.02

7. RESULTADOS

Após a tabulação dos dados, obteve-se 72 gatos com lesões suspeitas para carcinoma espinocelular pela macroscopia, entretanto, ao realizar a análise de dados e retirando casos onde a localização anatômica era oral (n=15), pacientes que realizaram o histopatológico fora da instituição (n=25) ou inviabilidade da obtenção do bloco de parafina (n=8). Obteve-se a população do estudo, que consistiu em 24 gatos, com a totalidade animais sem raça definida ou domésticos de pelo curto (100%). Desses, foram classificados uma amostra como hiperplasia epitelial atípica, duas queratoses actínicas, três carcinomas *in situ* e 19 amostras carcinomas invasores (CECC).

Quanto aos critérios clínicos gerais entre os diagnosticados com CECC (**QUADRO 1**), 11 eram fêmeas (57,9%) e 8 eram machos (42,1%). A idade média foi de 10,5 anos (variação de 2 a 22 anos com desvio padrão de $\pm 4,6$ anos). Alguns gatos tinham no prontuário histórico de outros tratamentos prévios, tais como, utilização de antifúngicos, anti-inflamatórios esteroidais e não esteroidais ou antibiótico por via oral ou parenteral.

A respeito à coloração do pelame, 7/19 gatos possuíam pelagem branca (36,9%) e 12/19 mista sendo classificadas como bicolor, tricolor, branca e preta ou branca e amarela (63,1 %). Quanto a localização anatômica, 11 pacientes apresentaram lesões no plano nasal (55%), 2 na região pálpebras (10%), 3 nas pinas das orelhas (15%), 2 na região de plano nasal e pina (10%), 1 na região de alopecia pré-auricular (5%) e 1 em região de plano nasal com extensão a pálpebra (5%), tendo um gato com recidiva e lesões em regiões distintas da face (amostra 3) totalizando 20 localizações anatômicas. Todos os gatos incluídos no estudo possuíam exposição solar frequente e eram semi-domiciliados.

Em relação ao método para a obtenção da amostra histopatológica, obteve-se n=20 devido a amostra 3 possuir lesões em regiões distintas da face tendo realizado 2 procedimentos cirúrgicos, sendo assim, 10/20 (50%) foram através de biópsia incisional e os outros biópsia excisional sendo, 5/20 (25%) conchectomia, 2/20 (10%) enucleação, 2/20 (10%) nosectomia e 1/20 (5%) por exanteração.

No que se refere ao estadiamento clínico dos pacientes (**FIGURA 11**) com CECC incluídos no estudo, 6/19 (31,6%) estadiados como T1N0M0 (ESTÁGIO I) onde o tumor primário possui ≤ 2 cm, ausência de metástase em linfonodos regionais ou a distância, 7/19 (36,8%) amostras foram estadiados como T3N0M0 (ESTÁGIO II) onde o tumor primário é > 2 cm e

< 5 cm ou > 5 cm, com ausência de metástase em linfonodos regionais ou a distância, 6/19 (31,6%) classificadas como T4N0M0/T4N1M0 (ESTÁGIO III) onde o tumor primário pode ter quaisquer tamanho porém há invasão de cartilagem, músculo ou osso, com ausência ou presença de metástase em linfonodos regionais (presença de metástase regional em amostra 1: linfonodo mandibular e amostra 18: linfonodo parótideo), entretanto com ausência de metástase a distância.

Quanto ao resultado do teste imunoenzimático de FIV/FeLV dos 19 gatos com CECC incluídos no estudo, 2/19 (10,5%) eram FeLV positivos (amostras 6 e 12), 2/19 (10,5%) eram FIV positivos (amostras 7 e 8), 4/19 (21,1%) status desconhecido (amostras 1,3,4 e 5) e 11/19 (57,9%) FIV e FeLV negativos (amostras 2,9,10,11,13,14,15,16,17,18 e 19). Foi questionado aos tutores no momento da anamnese o tempo de progressão da doença até o atendimento no HV-UFMG, 4/19 (21,1%) não souberam dizer o tempo de progressão, 1/19 (5,2%) 30 dias de progressão, 1/19 (5,2%) 60 dias, 2/19 (10,5%) 90 dias, 1/19 (5,2%) 121 dias, 1/19 (5,2%) 152 dias, 1/19 (5,2%) 182 dias, 2/19 (10,5%) 212 dias, 1/19 (5,2%) 243 dias, 3/19 (15,7%) 365 dias, 1/19 (5,2%) 547 dias e 1/19 (5,2%) 730 dias, sendo assim, com variação de 30 a 730 dias e mediana de 152 dias, aproximadamente 5 meses.

Quadro 1 - Características clínicas gerais dos 19 felinos com carcinoma espinocelular cutâneo incluídos no estudo

AMOSTRA	SEXO	IDADE	COLORAÇÃO	LOCALIZAÇÃO	CIRURGIA / BIÓPSIA	ESTADIAMENTO (0 – IV)	STATUS FIV/FELV	TEMPO DE PROGRESSÃO PRÉ-ATENDIMENTO
1	M	13 ANOS	BRANCA E PRETA	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T4N1M0 (III)	STATUS DESCONHECIDO (SEM TESTE)	212 DIAS
2	F	10 ANOS	TRICOLOR	PLANO NASAL	NOSECTOMIA	T4N0M0 (III)	FIV/FELV NEGATIVO	730 DIAS
3	F	8 ANOS	BRANCA	1ª: PINA	CONHECTOMIA	T1N0M0 (I)	STATUS DESCONHECIDO (SEM TESTE)	243 DIAS
				2ª: PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL			
4	F	13 ANOS	BRANCA	PLANO NASALCOM EXTENSÃO A PALPEBRA	ENUCLEAÇÃO	T3N0M0 (II)	STATUS DESCONHECIDO (SEM TESTE)	121 DIAS
5	F	14 ANOS	BRANCA	REGIÃO DE ALOPECIA PRÉ-AURICULAR	BIÓPSIA INCISIONAL	T3N0M0 (II)	STATUS DESCONHECIDO (SEM TESTE)	212 DIAS
6	M	6 ANOS	BRANCA E PRETA	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T3N0M0 (II)	FELV POSITIVO	152 DIAS
7	M	7 ANOS	BICOLOR	PALPEBRA	EXANTERACÃO	T4N0M0 (III)	FIV POSITIVO	365 DIAS
8	M	NÃO CONSTA	BICOLOR	PLANO NASAL	NOSECTOMIA	T4N0M0 (III)	FIV POSITIVO	90 DIAS
9	F	NÃO CONSTA	BRANCA E AMARELA	PLANO NASAL e PINA	CONHECTOMIA	T3N0M0 (II)	FIV/FELV NEGATIVO	90 DIAS
10	M	22 ANOS	BICOLOR	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T1N0M0 (I)	FIV/FELV NEGATIVO	NÃO SOUBE DIZER QUANTO TEMPO DE PROGRESSÃO
11	F	14 ANOS	TRICOLOR	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T3N0M0 (II)	FIV/ FELV NEGATIVO	NÃO SOUBE DIZER QUANTO TEMPO DE PROGRESSÃO
12	F	16 ANOS	TRICOLOR	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T1N0M0 (I)	FELV POSITIVO	60 DIAS
13	F	2 ANOS	BICOLOR	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T4N0M0 (III)	FIV/FELV NEGATIVO	182 DIAS
14	M	14 ANOS	BRANCA	PINA	CONHECTOMIA	T3N0M0 (II)	FIV/FELV NEGATIVO	30 DIAS
15	M	8 ANOS	BRANCA E AMARELA	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T1N0M0 (I)	FIV/FELV NEGATIVO	NÃO SOUBE DIZER QUANTO TEMPO DE PROGRESSÃO
16	F	14 ANOS	BRANCA	PINA	CONHECTOMIA	T1N0M0 (I)	FIV/FELV NEGATIVO	NÃO SOUBE DIZER QUANTO TEMPO DE PROGRESSÃO
17	F	9 ANOS	BRANCA	PLANO NASAL E PINA	CONHECTOMIA	T1N0M0 (I)	FIV/FELV NEGATIVO	547DIAS
18	F	10 ANOS	BRANCA	PALPEBRA	ENUCLEAÇÃO	T4N1M0 (III)	FIV/FELV NEGATIVO	365 DIAS
19	M	9 ANOS	BRANCA E PRETA	PLANO NASAL	BIÓPSIA INCISIONAL	T3N0M0 (II)	FIV/FELV NEGATIVO	365 DIAS

Em relação aos critérios histológicos (**QUADRO 2**), demonstrados nas figuras 8 e 9, obteve-se uma lesão classificada como hiperplasia epitelial atípica, duas como queratose actínica, três carcinomas *in situ* e 19 CECC típicos desses, 12/19 (63,2%) como carcinoma espinocelular invasor bem diferenciado e 7/19 (36,8%) como carcinoma espinocelular invasor pouco diferenciado.

Quanto a graduação histopatológica, conforme proposto por Nagamine *et al.* (2017) para CECC, 3/19 (15,7%) grau I, 14/19 (73,8%) grau II e 2/19 (10,5%) grau III. A respeito da margem que foi avaliada conforme Meuten *et al.* (2021), totalizou-se 20 amostras devido a amostra 3 possuir margens distintas, sendo 10/20 (50%) margens não contabilizadas por serem biópsias incisionais, 2/20 (10%) M1 – margem comprometida, 4/20 (20%) M2 – margem próxima, 1/20 (5%) M3 – margem limpa (2-5mm) e 3/20 (15%) M4 – margem limpa (>5mm).

Sobre o índice mitótico que foi realizado a partir da contagem de figuras de mitose em 10 campos, a média foi de 6 figuras de mitose/10 campos (variação de 1 a 16 figuras de mitose), sendo 2/19 (10,5%) de 1 figura de mitose, 3/19 (15,8%) de 2 figuras de mitose, 3/19 (15,8%) de 3 figuras de mitose, 1/19 (5,2%) de 5 figuras de mitose, 5/19 (26,3%) de 6 figuras de mitose, 3/19 (15,8%) de 7 figuras de mitose, 1/19 (5,2%) de 11 figuras de mitose e 1/19 (5,2%) de 16 figuras de mitose.

Quadro 2 - Características histopatológicas dos felinos com CECC (n=19) incluídos no estudo

AMOSTRA	CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	INDICE MITÓTICO (10 CAMPOS)	LOCALIZAÇÃO	GRADUAÇÃO (NAGAMINE)	MARGEM (MEUTEN)	ESCORE COX-2 (DISTRIBUIÇÃO X INTENSIDADE)
1	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	3	PLANO NASAL	GRAU II	*	6 (2X3)
2	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	6	PLANO NASAL	GRAU I	M2	6 (2 X 3)
3	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	5	1ª: PINA	GRAU II	M2	9 (3X3)
			2ª: PLANO NASAL		*	
4	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	3	PLANO NASAL COM EXTENSÃO A PALPEBRA	GRAU II	M4	1 (1X1)
5	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	16	REGIÃO DE ALOPECIA PRÉ AURICULAR	GRAU II	M3	6 (3X2)
6	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	11	PLANO NASAL	GRAU II	*	6 (2 X 3)
7	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	3	PALPEBRA	GRAU II	M4	2 (1 X 2)
8	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	6	PLANO NASAL	GRAU I	*	6 (2 X 3)
9	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	7	PLANO NASAL E PINA	GRAU II	M2	8 (4 X 2)
10	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	2	PLANO NASAL	GRAU II	*	0
11	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	2	PLANO NASAL	GRAU II	*	9 (3X3)
12	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	1	PLANO NASAL	GRAU II	*	3 (1X3)
13	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	7	PLANO NASAL	GRAU III	*	2 (2X1)
14	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	7	PINA	GRAU II	M1	12 (3 X 4)
15	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO POUCO DIFERENCIADO	1	PLANO NASAL	GRAU II	*	2 (2 X1)
16	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	6	PINA	GRAU II	M1	8 (2X4)
17	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	2	PLANO NASAL E PINA	GRAU I	M4	3 (1 X 3)
18	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	6	PALPEBRA	GRAU II	M2	0
19	CARCINOMA ESPINOCELULAR INVASIVO BEM DIFERENCIADO	6	PLANO NASAL	GRAU III	*	4 (4X1)

* Biópsia incisional diagnóstica

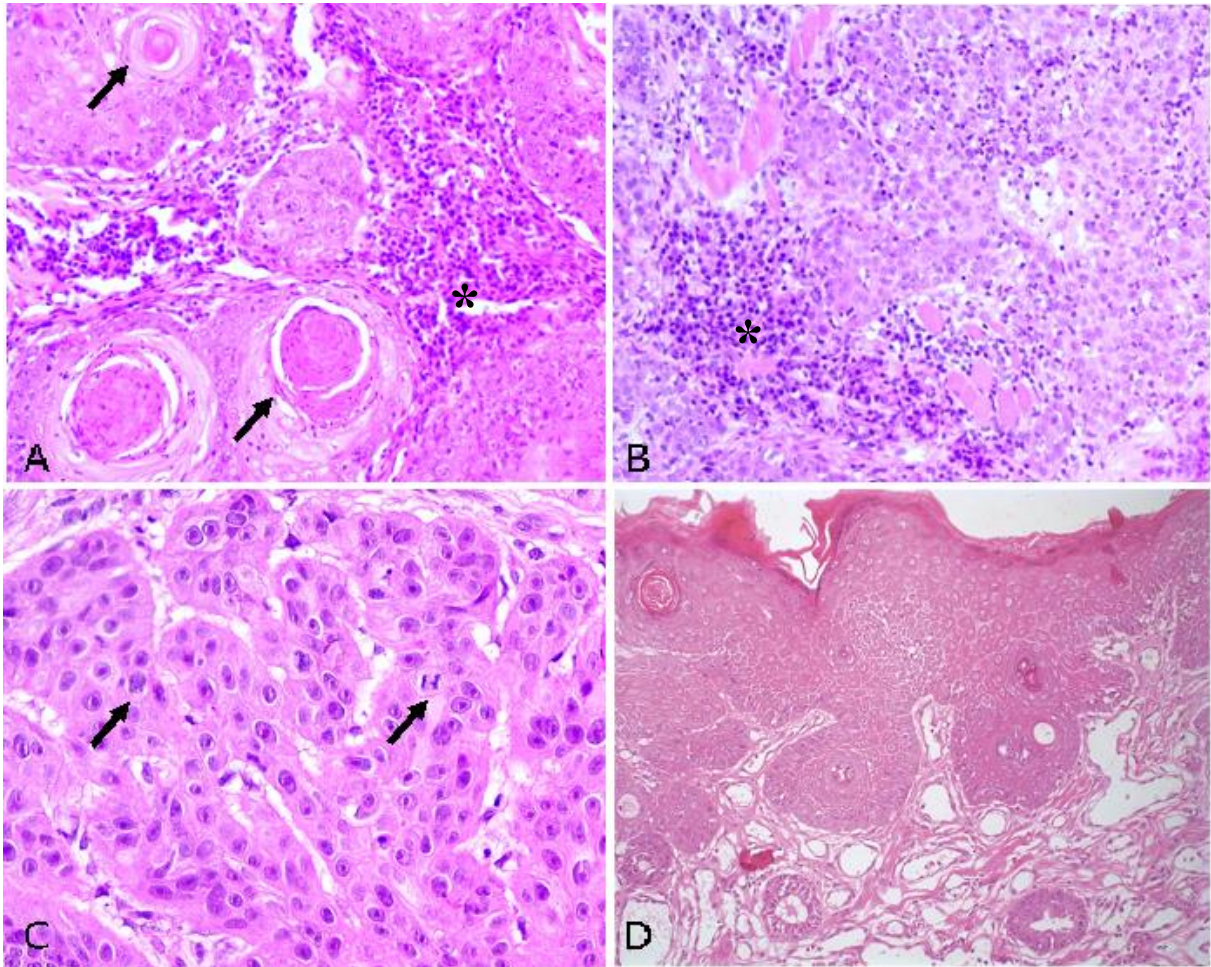


Figura 8- Caracterização histopatológica das amostras de pele dos felinos deste estudo, para a classificação dos carcinomas de células escamosas (CECC), segundo Yanofsky *et al.* (2011). **(A)** CECC invasivo bem diferenciado, com evidência dos ninhos de células epiteliais neoplásicas com deposição lamelar concêntrica de queratina (setas), e infiltrado inflamatório linfocitário multifocal moderado (*). Amostra do paciente 19. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(B)** CECC invasivo pouco diferenciado/indiferenciado em plano nasal, caracterizado por perda e substituição do tecido por células epiteliais neoplásicas malignas, com ausência de pérolas de queratina e discreto infiltrado inflamatório linfocitário (*) adjacente ao tumor. Amostra do paciente 1. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(C)** CECC invasivo pouco diferenciado/indiferenciado, com células epiteliais com índices de malignidade elevada, com intenso pleomorfismo nuclear e mitoses frequentes (setas). Amostra do paciente 1. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x. **(D)** Carcinoma *in situ* com marcante hiperqueratose e acantose, e células neoplásicas arranjadas em ninhos, com deposição lamelar concêntrica de queratina, restritas a epiderme. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

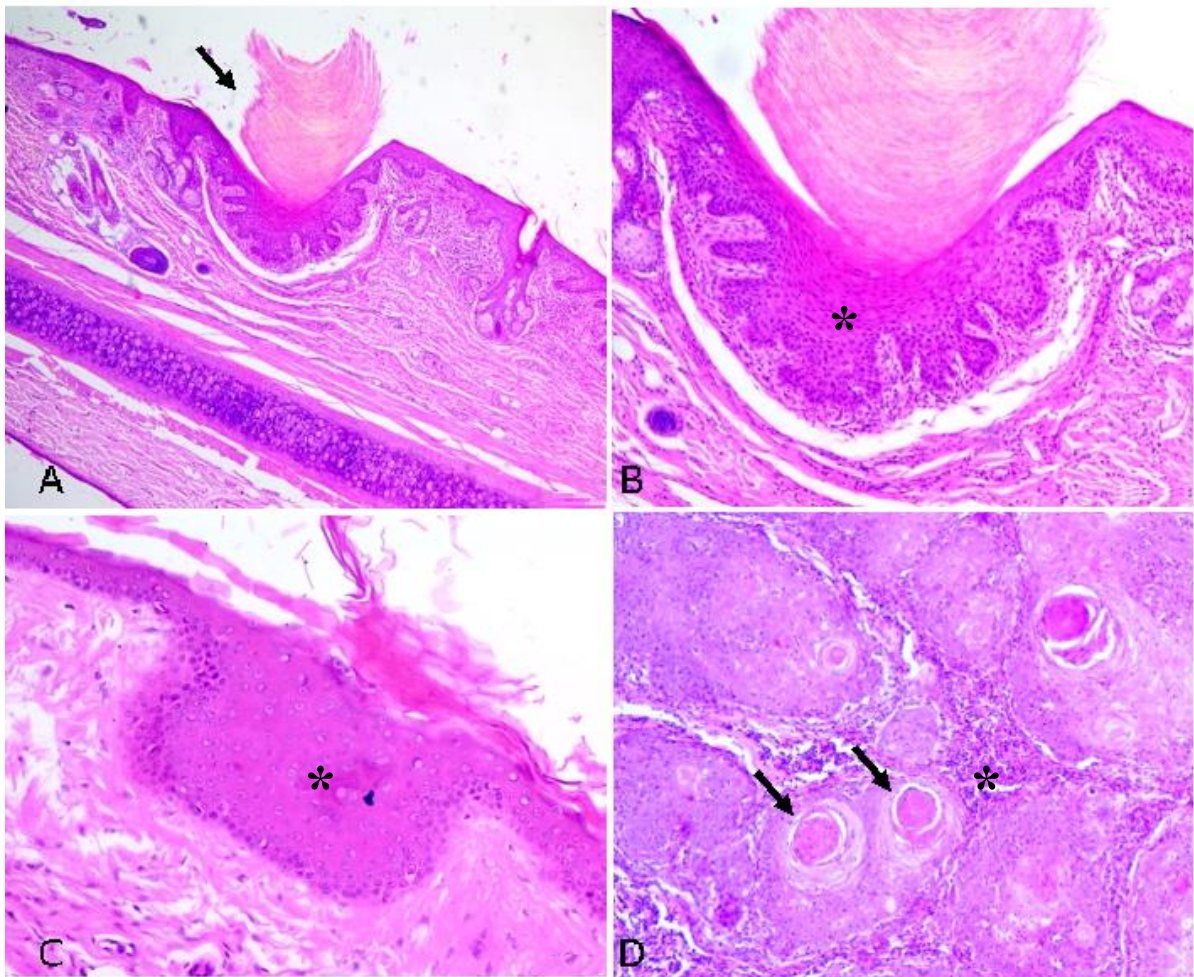


Figura 9- Caracterização histopatológica das amostras de pele dos felinos deste estudo, para a classificação dos carcinomas de células escamosas (CECC), segundo Yanofsky *et al.* (2011). **(A)** Pele adjacente a pina auricular, com área focal de intensa hiperqueratose (seta), e moderada acantose, caracterizando queratose actínica. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 100x. **(B)** Queratose actínica, com evidência da hiperqueratose e acantose (*). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(C)** Pele pilosa com área focal de hiperplasia da epiderme (*), sem apresentar características de malignidade que justificassem o diagnóstico de CECC. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 200x. **(D)** Plano nasal com perda e substituição do tecido por células epiteliais malignas, com formações extracelulares multifocais de pérolas de queratina (setas), caracterizando CECC invasivo bem diferenciado. Adjacente ao tumor, observa-se infiltrado inflamatório linfocitário focalmente extenso moderado (*). Amostra do paciente 19. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 100x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Após a realização de escore para COX-2 conforme realizado nos trabalhos de Lavallo *et al.* (2009) e Campos *et al.* (2016), demonstrados nas figuras 10 e 11, houve ausência de expressão em 2/19 (10,5%) de CECC (amostras 10 e 18) e expressão em 17/19 (89,5%) das amostras, sendo desses, 7/17 (41,2%) com baixa expressão (≤ 5) e 10/17 (58,8%) com alta expressão (≥ 6).

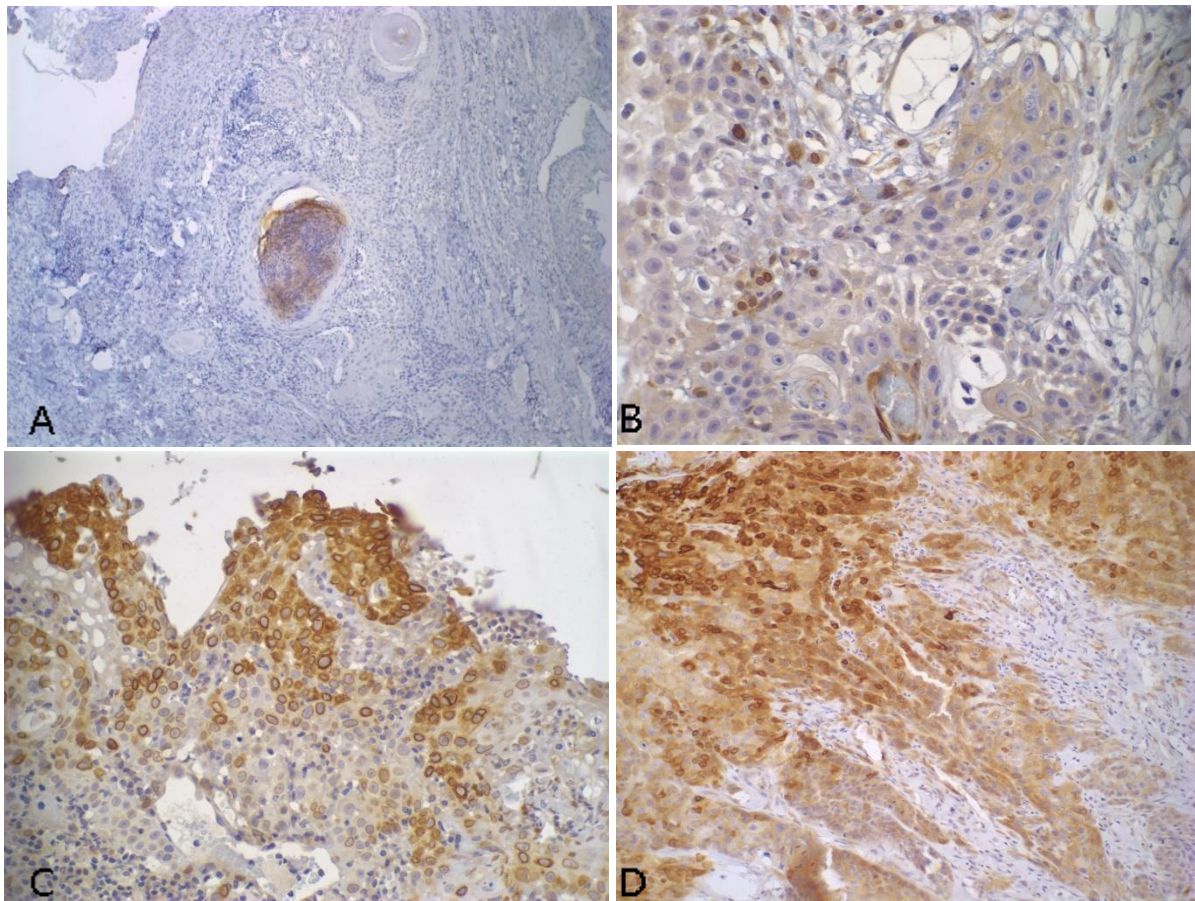


Figura 10- Avaliação da marcação imuno-histoquímica para COX-2 das amostras de pele dos felinos deste estudo, segundo graduação proposta por Lavallo *et al.* (2009). **(A)** Ausência de imunoposição. Amostra do paciente 18. COX-2. Aumento de 100x. **(B)** Células epiteliais neoplásicas (10-30%) discretamente imunorreativas. Amostra do paciente 15. COX-2. Aumento de 400x. **(C)** Células epiteliais neoplásicas com acentuada imunoposição citoplasmática (31%-60%). Amostra do paciente 11. COX-2. Aumento de 400x **(D)** Células epiteliais neoplásicas intensamente (61%) imunorreativas. Amostra do paciente 14. COX-2. Aumento de 400x. Fonte: Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica de Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Quanto a sobrevida e intervalo livre de doença (**TABELA 10**), a amostra 6 não retornou ao HV-UFMG para dar continuidade ao tratamento e a amostra 11 após a recidiva do paciente não deu continuidade ao tratamento, impossibilitando informações a respeito de sobrevida. A sobrevida possuiu variação de 56 a 1483 dias, com mediana de 371 dias, aproximadamente 1 ano e o intervalo livre de doença variou de 0 a 631 dias, com mediana de 345 dias aproximadamente 11 meses para os gatos que obtiveram remissão total de doença.

Tabela 10 - Características quanto sobrevida e intervalo livre de doença dos felinos com CECC (n=19) incluídos no estudo.

AMOSTRA	SOBREVIDA (DIAS)	INTERVALO LIVRE DE DOENÇA (DIAS)
1	367	0
2	112	0
3	1483	194
4	371	0
5	236	0
6	SEM INFORMAÇÕES (EVADIU TRATAMENTO NA INSTITUIÇÃO)	SEM INFORMAÇÕES (EVADIU TRATAMENTO NA INSTITUIÇÃO)
7	239	97
8	247	37
9	1132	0
10	119	0
11	SEM INFORMAÇÕES (EVADIU TRATAMENTO NA INSTITUIÇÃO)	91
12	355	355
13	56	0
14	846	631
15	615	214
16	627	244
17	381	345
18	118	27
19	232	0

Quanto a causa do óbito nas amostras de pacientes com CECC, 1/19 (5,3%) veio a óbito por outra neoplasia, no caso, tumor de mama com presença de metástase pulmonar, 3/19 (15,8%) óbito por causas não relacionadas a quaisquer neoplasias, 5/19 (26,3%) vivos até a presente data, 7/19 (36,8%) óbito por progressão da doença CECC, sendo eutanásia e 3/19 (15,8%) óbito por progressão da doença CECC, por morte natural. A respeito da realização de quimioterapia nos pacientes com CECC, 12/19 (63,2%) não realizaram complementação do tratamento com quimioterapia e 7/19 (36,8%) realizaram quimioterapia, desses, 4/7 (57,2%) realizaram protocolo doxorrubicina e bleomicina, 2/7 (28,5%) realizou protocolo com

doxorrubicina em monoterapia, 1/7 (14,3%) realizou protocolo com carboplatina em monoterapia. Quanto a utilização de sonda esofágica no pós-cirúrgico, 9/19 (47,4%) não utilizaram sonda no pós-cirúrgico e 10/19 (52,6%) utilizaram sonda no pós-cirúrgico.

Quanto as correlações vistas nesse estudo destacam-se a moderada negativa entre estadiamento clínico adaptado de Bukhari *et al.* (2015) com sobrevida e intervalo livre de doença ($p < 0,05$). Sendo que as amostras no estágio I ($n = 6$) possuíram maior sobrevida não atingindo a mediana quanto comparados com estágio II ($n = 7$) com mediana de 751 dias e estágio III ($n = 6$) que obtiveram mediana de 239 dias e quanto ao intervalo livre de doença os gatos com estadiamento clínico I ($n = 6$) obtiveram mediana de 345 dias e III ($n = 6$) mediana de 37 dias. Foi observada também correlação moderada positiva entre a distribuição da imunomarcção de COX-2 com índice mitótico ($p < 0,05$). No entanto, quanto a sobrevida, as amostras com baixa imunoeexpressão obtiveram mediana de 239 dias e as com alta imunoeexpressão mediana de 749 dias ($p > 0,05$) e intervalo de doença as amostras com baixa imunoeexpressão alcançaram mediana de 214 dias e as com alta imunoeexpressão mediana de 412 dias ($p > 0,05$).

Quadro 3 - Estatística inferencial (correlação de Spearman) dos 19 felinos com CECC submetidos a cirurgia e/ou eletroquimioterapia no HV-UFMG do ano de 2012 a 2022

VARIÁVEIS CORRELACIONADAS	P	RS
Distribuição de COX-2 X Índice mitótico	0,0387	0,4772
Estadiamento clínico X Intervalo livre de doença	0,0244	-0,6227
Estadiamento clínico X Realização de quimioterapia	0,0006	0,7100
Estadiamento clínico X Sobrevida	0,0476	-0,4596
Estadiamento clínico X Realização de eutanásia	0,0194	- 0,5305
Impossibilidade de ressecção cirúrgica X Sobrevida	0,0331	-0,5035

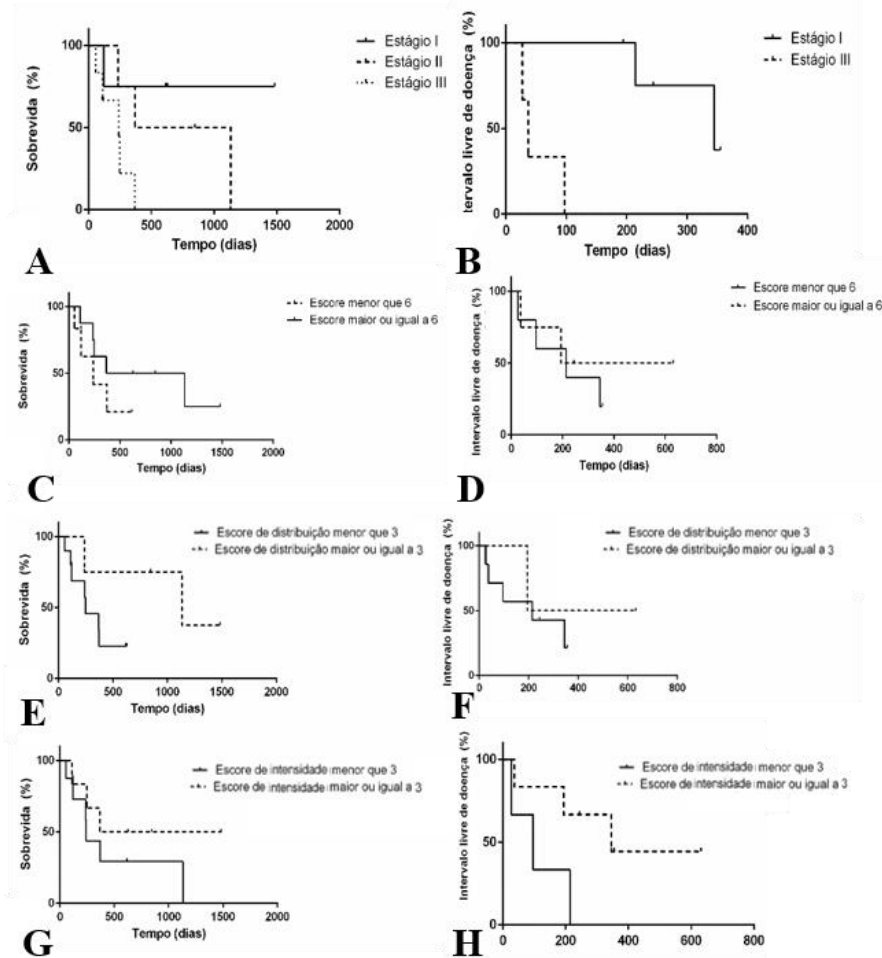


Figura 11 – Representações gráficas dos 19 gatos com CECC por curva de Kaplan-Meier. **(A)** Representação gráfica da análise de sobrevida global dos 19 gatos com CECC através do estadiamento clínico ($p < 0,05$). Estágio I ($n = 6$) possuíram maior sobrevida não atingindo a mediana quanto comparados com estágio II ($n = 7$) com mediana de 751 dias e estágio III ($n = 6$) que obteve mediana de 239 dias. **(B)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p < 0,05$) de gatos com estadiamento clínico I ($n = 6$) com mediana de 345 dias e III ($n = 6$) com mediana de 37 dias. **(C)** Representação gráfica da sobrevida global dos 19 gatos com CECC, conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com baixa imunopressão, escore abaixo de 6 ($n = 9$) com a mediana de 239 dias e animais com alta imunopressão com escore igual ou maior de 6 ($n = 10$) com mediana de 749 dias. **(D)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p > 0,05$) dos 19 gatos com CECC conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com baixa imunopressão, escore abaixo de 6 ($n = 9$) com a mediana de 214 dias e animais com alta imunopressão com escore igual ou maior de 6 ($n = 10$) com mediana de 412 dias. **(E)** Representação gráfica da sobrevida global dos 19 felinos com CECC, conforme a distribuição da imunopressão de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com distribuição menor de 3 ($n = 13$) que obteve mediana de 247 dias e animais com distribuição igual ou maior que 3 ($n = 6$) com mediana de 1132 dias. **(F)** Representação gráfica do intervalo livre de doença dos 19 felinos com CECC, conforme a distribuição da imunopressão de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com distribuição menor de 3 ($n = 13$) que obteve mediana de 214 dias e animais com distribuição igual ou maior que 3 ($n = 6$) com mediana de 412 dias. **(G)** Representação gráfica da sobrevida global dos 19 felinos com CECC, conforme a intensidade da imunopressão de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com a classificação relacionados com a intensidade menor de 3 ($n = 9$) que obteve mediana de 239 dias e animais com intensidade igual ou maior que 3 ($n = 10$) que obteve mediana de 925 dias. **(H)** Representação gráfica do intervalo livre de doença ($p > 0,05$) dos 19 gatos com CECC conforme o escore de COX-2 ($p > 0,05$). Animais com a classificação relacionados com a intensidade menor de 3 ($n = 9$) que obteve mediana de 97 dias e animais com intensidade igual ou maior que 3 ($n = 10$) que obteve mediana de 345 dias.

8. DISCUSSÃO

Dos 19 felinos utilizados nesse estudo, todos eram sem raça definida (SRD) semelhante ao observado por outros estudos, uma alta prevalência de felinos SRD, tais quais, como o de Pinello *et al.* (2022) com diversas neoplasias em felinos com 91.5% de SRD, Miller *et al.* (1991) com neoplasias cutâneas com 80% de gatos SRD, Togni *et al.* (2013) com gatas com tumor de mama e 50% de animais sem raça definida. Além disso, ressalta-se que no Brasil grande parte da população felina não apresenta raça definida (NOLÊTO *et al.*, 2017). Para o CECC vê-se que a raça siamesa possui incidência mais baixa, acredita-se possuem maior pigmentação de pelame no centro e extremidades da face, áreas que são mais expostas à RUV (MILLER *et al.*, 1991) e a raça persa pela alta densidade de pelos que funcionam como barreira física (DHALIWAL e KUFUOR-MENSAH, 2007).

Quanto aos critérios clínicos gerais, nesse trabalho em relação ao sexo 58,3% eram fêmeas e 41,7% machos. No estudo de Graf *et al.* (2015) com inúmeras neoplasias, os tumores cutâneos tanto benigno quanto malignos não se observou maior prevalência ou diferença estatística significativa enquanto a sexo ou raça nos gatos, fato esse que também foi visto nesse estudo. Em relação a faixa etária, a média de idade dos gatos com CECC desse estudo foi de 10,5 anos que pelo estudo de Quimby *et al.* (2021) se enquadra em felino adulto maduro, o mesmo foi observado por diversos autores onde a média de aparecimento da doença são em gatos de média idade a idosos (FIDEL *et al.*, 2001; FAVROT *et al.*, 2009; SPUGNINI *et al.*, 2009; CUNHA *et al.*, 2010; SABATTINI *et al.*, 2010; MURPHY, 2013; HOGGARD *et al.*, 2018; DOS ANJOS *et al.*, 2020).

A respeito à coloração do pelame, nesse estudo 45,8% dos gatos possuíam pelagem branca e 54,2 % mista, como bicolor, tricolor, branca e preta ou branca e amarela, essa denominação é realizada pelo tutor no ato de cadastro do paciente ao sistema no setor da recepção. No trabalho de Dorn *et al.* (1971) foi demonstrado que felinos que possuíam o pelame em sua totalidade branca tiveram 13,4 maior chance de desenvolver CECC do que as outras colorações, como bicolor, pretos ou com múltiplas cores. Ainda assim, Murphy (2013) considerou que gatos com pelagem coloridas possuíam maior risco do aparecimento das lesões nas regiões brancas o que foi visto nesse estudo onde 100% os felinos de coloração mista possuíam o CEC invasor nas porções do pelame claro. A predileção das lesões induzidas por danos actínicos em pacientes com pouca pigmentação da pele e/ou pelos, é devido ao papel protetor da melanina na dispersão e absorção da radiação UV prejudicial na pele a nível de epiderme (PARISI *et*

al., 2022). Observa-se incidência aumentada em países de clima tropical como o Brasil, de neoplasias correlacionadas a fotoexposição em pacientes humanos e animais principalmente pela intensa incidência solar (MUKHTAR e ELMETS, 1996; SCHALKA *et al.*, 2014; MARTINCORENA *et al.*, 2015). Fator que foi visto nos felinos incluídos no estudo onde 100% dos animais possuíam exposição solar frequente e ilimitada.

Como o CECC advém da displasia epitelial de longa duração, possuindo frequentemente comportamento insidioso, é comum que no histórico os pacientes possuam tratamentos prévios, porém com ausência de resposta terapêutica, principalmente, tratamento com antifúngicos orais. Visto que o Brasil prevalece como área endêmica da dermatozoonose esporotricose que é uma dermatose fúngica profunda, sendo um dos principais diagnósticos diferenciais pelas características macroscópicas das lesões que acometem principalmente a face e por vezes sendo proliferativas ou erosivas e ulceradas. Outro fator complicante é o acesso a rua, que é denominado como animal semi-domiciliado que propicia o contato ao agente etiológico *Sporothrix sp.* (GREMIÃO *et al.*, 2021; MOTHÉ *et al.*, 2021).

As 19 lesões de CECC totalizaram 20 localizações anatômicas devido a amostra 3 possuir em localizações distintas. Entretanto, todas as lesões estavam restritas a região de face o que corrobora com os trabalhos de Lana *et al.* (1997), Almeida *et al.* (2008), Favrot *et al.* (2009), Cunha *et al.* (2010), Murphy (2013), Ho *et al.* (2018), Parisi *et al.* (2022). Houve predomínio no plano nasal (11/20 – 55%) seguidos de pina (3/20 -15%), pálpebra (2/20 – 10%), plano nasal e pina concomitantemente (2/20 – 10%), região de alopecia pré-auricular (1/20 – 5%) e região de plano nasal com extensão a pálpebra (1/20 - 5%), o mesmo foi observado nos estudos de Dos Anjos *et al.*, (2020) onde foi realizado comparação de protocolos de eletroquimioterapia com duas diferentes doses de bleomicina (15 UI/m² e 10UI/m²) a maioria dos animais possuíam lesão em plano nasal (33/56 – 58%) e no de Munday *et al.* (2011) onde foi pesquisado o DNA de papilomavirus e proteína p16^{CDKN2A} em CECC no grupo que possuíam lesões em porção de pele exposta aos raios UV 16/45 dos gatos tinham a lesão no plano nasal (35,5%).

Ademais, as lesões precursoras como hiperplasia epitelial atípica, queratose actínica e carcinoma *in situ* se localizaram predominantemente na região de pina de orelha que é uma das regiões comumente afetadas por fotodanos pela presença de rarefação pilosa, conforme demonstrou o trabalho de Almeida *et al.* (2008), onde se investigou características clínicas e histomorfométricas da pele da região de pina de orelha de felinos sob exposição solar

prolongada (n=34) e observou-se alto nível de hipersensibilidade cutânea aos raios solares em gatos domésticos com 32% de danos actínicos em estágio avançado como alopecia, placa, erosão e ulceração. Diferentemente dos cães, os felinos possuem maior densidade do pelame no ventre e passam pouco tempo em decúbito dorsal, por isso, os fotodanos acontecem quase exclusivamente na região de cabeça (PARISI *et al.*, 2022).

Em relação ao método para a obtenção de amostras representativas, como as lesões que advém de danos correlacionados a RUV e nos gatos se concentram na face, a realização de punção aspirativa ou capilaridade para exame citológico é dificultada pela localização em regiões delicadas, como pálpebras, plano nasal, pina auricular e por vezes serem lesões pequenas, ulceradas associadas a acentuado/moderado infiltrado inflamatório, o que prejudica a leitura pelo patologista (MACNEILL, 2011). Nesse estudo 48% das amostras histopatológicas foram através de biópsia incisional, que se trata da retirada de uma porção da lesão cutânea para confirmação do diagnóstico, devendo-se estender até a pele normal ao redor e um dos métodos mais utilizados é a biópsia por punch (NISCHAL *et al.*, 2008). Essa modalidade de obtenção da amostra se deve ao predomínio de lesões no plano nasal. No trabalho de Rice *et al.* (2003), comparou-se a precisão das técnicas de biópsia incisional tradicional com bisturi e por punch na obtenção do diagnóstico histológico para tumores cutâneos periorbitários (n=40), onde se observou alta acurácia entre ambas técnicas com taxas de precisão de 95 e 85% respectivamente, o mesmo foi visto nesse trabalho onde 100% das amostras obteve-se diagnóstico preciso, 32% das amostras foram coletadas por conchectomia, Murphy (2013) referiu que a excisão cirúrgica da pina auricular é a melhor forma de tratamento de lesões localizadas na porção superior do pavilhão auricular, nesse estudo como havia a suspeita de CECC pela macroscopia das lesões optou-se pela realização da cirurgia nos pacientes com afecção na pina auricular, foi observado por Demirutku *et al.* (2012) que as principais limitações da cirurgia é quando há presença de recidiva após a conchectomia total e o resultado estético final.

Sabe-se que o comportamento biológico do CECC é localmente invasivo, porém com baixas taxas de metástase (GOLDSCHMIDT, 1984; BRANTSCH *et al.*, 2008; YOSHIKAWA *et al.*, 2012; QUE *et al.*, 2018) e que os pacientes com CECC avançado possuem prognóstico desfavorável, entretanto, alguns pacientes podem alcançar bom controle locorregional da doença com tratamento agressivo (GRANADOS-GARCÍA *et al.*, 2016), muitas vezes com a realização de cirurgias mutilantes o que foi preconizado aos gatos desse estudo com a realização de biópsias excisionais por enucleação (8%), nosectomia (8%) e exanteração

(4%).Murphy (2013) menciona que os felinos possuem melhor qualidade de vida após a realização de exérese da lesão que eventualmente tem aspecto ulcerativo, secreção serosanguinolenta e por vezes é álgica.

Considerando o estadiamento clínico proposto para o CECC felino, adaptado de Bukhari *et al.* (2015) para CECC humano, houve diferença nas proporções das classificações de estadiamento entre os estágios I e III ($p=0,0403$) e o estadiamento influenciou na sobrevida dos animais ($p=0,0476$) onde os animais com estadiamento avançado apresentaram uma sobrevida menor, dado que também foi observado nos estudos de Chapalain *et al.* (2020) com pacientes humanos com CECC e estadiamento IV apenas 6% possuiu sobrevida acima de 4 anos após o diagnóstico, no trabalho de Zhu *et al.* (2015) também com pacientes com CECC e estadiamento IV com média de sobrevida de 2 anos e o mesmo também foi visto no estudo Bukhari *et al.* (2015) os pacientes com estadiamento I possuíram 90% de sobrevida acima de 5 anos demonstrando que o estadiamento possui correlação com a sobrevida. Nesse trabalho notou-se a correlação entre o estadiamento e intervalo livre de doença ($p=0,0244$) o mesmo também foi visto no estudo de Goodfellow *et al.* (2006) com CECC localizados no plano nasal ($n= 15$), tratados com estrôncio 90 (plesioterapia), onde foram selecionados casos com estadiamento iniciais e mínima invasão obtendo-se longos intervalo livre de doença (média de 652 dias).

Dos 19 felinos com CECC incluídos no estudo, apenas 2 possuíam metástase regional (10%), diferentemente do observado no estudo de Soltero-Rivera *et al.* (2014), onde foi avaliado a prevalência de metástases regionais em pacientes felinos com carcinomas espinocelulares orais em estágio avançado ($n=49$) e obteve-se a presença de metástase em 15/49 (31%) em linfonodo mandibular. Na medicina, entretanto o principal sitio de metástase regional de CECC é o linfonodo parótideo e glândula parótida que estão relacionados a lesões faciais concentradas em região de orelhas, couro cabeludo, pálpebras, testa e bochechas (VENESS *et al.*, 2007; MUKHERJEE *et al.*, 2015; GOUVEIA *et al.*, 2016) nesse trabalho foi observado presença de metástase na amostra 2 em linfonodo mandibular, onde o gato possuía lesão em plano nasal e presença de metástase em linfonodo parótideo na amostra 23 onde o gato possuía lesão na pálpebra.

Foi visto também nesse estudo correlação significativa entre o estadiamento avançado e realização de quimioterapia ($p=0,0006$) dado que era esperado, devido a utilização de quimioterapia como tratamento paliativo onde aplica-se o tratamento em pacientes com

doença avançada, irrecorrível ou incurável (DE VOS *et al.*, 2004; STEPHENS, 2019), além da característica do felino ser uma espécie que tolera bem o tratamento em máxima dose tolerada, com poucos efeitos adversos conforme demonstrado pelo estudo de Cunha *et al.* (2018).

Outra particularidade da espécie felina é a anorexia ou hiporexia, especialmente, em pacientes de meia idade submetidos a trauma cirúrgico (LEVINE *et al.*, 1997). O apetite reduzido no pós-cirúrgico pode ocorrer por inúmeras razões, como, fatores comportamentais ou ambientais, preferências alimentares, dor e utilização de medicamentos (BRONDANI *et al.*, 2011) ou como efeito colateral após o trauma tecidual causado pela inserção das agulhas para realização da eletroquimioterapia, frequentemente em lesões localizadas no plano nasal o que foi observado no trabalho de Tellado *et al.* (2022) e por vezes requerendo tratamento de suporte nutricional com a colocação de sonda esofágica. No estudo de Formaggini (2009) onde felinos foram submetidos a esofagostomia (n= 19) após diferentes procedimentos cirúrgicos com trauma facial e/ou oral, a colocação da sonda teve ausência de complicações e foi considerado como uma alternativa eficaz vista a rapidez e custo benefício do procedimento. Visto, optou-se para os animais desse estudo com estadiamento avançados que foram submetidos a cirurgias extensas realizar a esofagostomia de maneira profilática.

Os felinos que apresentam doença avançada frequentemente são eutanasiados, devido a progressão da doença com o crescimento contínuo do tumor, cursando com redução da qualidade de vida pela presença de ulceração tumoral, hiporexia, infecção bacteriana secundária e dor (BILGIC *et al.*, 2015). Dado que foi observado nesse estudo, onde houve a correlação entre o estadiamento clínico avançado dos gatos e a realização de eutanásia ($p=0,0194$), o mesmo foi visto no trabalho de Hayes *et al.* (2007) com carcinoma espinocelular oral em felinos onde 81% dos pacientes (n=44) foram submetidos a eutanásia devido a progressão de doença.

A infecção pelas retrovírus felinas, FIV e FeLV são responsáveis por imunossupressão que os torna suscetíveis a infecções secundárias e ao desenvolvimento de neoplasias, especialmente as hematopoiéticas onde os felinos infectados pelo FeLV e FIV possuem mais chances para o desenvolvimento do linfoma, sendo, o risco 62 e 5 vezes maior respectivamente (HARTMANN, 2012). Ademais, para o carcinoma espinocelular no trabalho de Hutson *et al.* (1991), onde foi avaliado a incidência de neoplasias associada à infecção pelo vírus da imunodeficiência felina em gatos do sul da Califórnia (n=18), viu-se que desses, 7/18 (39%)

dos felinos com FIV possuíram o CEC invasor sendo, 4 orais e 3 cutâneos em plano nasal, no entanto, não há trabalhos onde se correlacione a infecção pelas retrovíruses com menor sobrevida ou intervalo livre de doença para CECC, fato que também não foi observado no presente estudo.

Quanto tempo de progressão da doença, por ser uma neoplasia de evolução comumente lenta espera-se longo tempo de desenvolvimento das lesões. Na medicina se sabe que aproximadamente 10% das queratoses actínicas evoluirão para CECC, no estudo de Fuchs e Marmur (2007) de forma retrospectiva (n=6691) foi avaliado o período de evolução da lesão precursora ao CECC onde foi visto tempo de evolução de 24,6 meses, na veterinária não existem estudos avaliando o período de progressão e nesse trabalho o tempo de progressão foi de aproximadamente 6 meses e não foi observada correlação com intervalo livre de doença ou sobrevida.

Em relação aos critérios histopatológicos, obteve-se 1 lesão classificada como hiperplasia epitelial atípica que é considerada lesão precursora e comumente é observada no epitélio escamoso, principalmente cervical em humanos (KAMINETZKY e SWERDLOW, 1961) e caracteriza-se por células imaturas e atípicas no estrato basal e espinhoso com acantose, porém com manutenção dos estratos (PRICE *et al.*, 1988), na veterinária não se tem relatos dessa lesão. 2 lesões de queratose actínica que se caracterizam pela marcada presença de hiperqueratose, acantose e queratinócitos atípicos especialmente no estrato basal (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019) e os 19 CECC em sua totalidade eram típicos assim como visto no estudo de Yanofsky *et al.* (2011) em que 80% dos CECC eram da variante comum/típica, houve o predomínio do bem diferenciado 12/19 (63%) que é o mais comum em pele e cavidade oral de gatos (GROSS *et al.*, 2005), cavidade oral em cães conforme observado por Nemec *et al.* (2012) e possui comportamento biológico menos agressivo como visto por Larsen *et al.* (2009) para CEC oral em humanos, além de 7/19 (37%) como carcinoma espinocelular invasor pouco diferenciado, na revisão de literatura de Rowe *et al.* (1992), onde se avaliou fatores prognósticos para recorrência local para CECC localizados em orelha e lábio se demonstrou aumento de mais de três vezes na taxa de metástase para carcinomas pobremente diferenciados. No entanto nesse estudo, não foi observada correlação da diferenciação do CECC em felinos com estadiamento clínico, intervalo livre de doença ou sobrevida.

Conforme a graduação histopatológica proposta por Nagamine *et al.* (2017), nesse estudo para CECC felino foram 4/20 (20%) classificadas como grau I, 14/20 (70%) classificadas como grau II e 2/20 (10%) classificadas como grau III, diferentemente, do observado para CECC em cães, onde houve o predomínio de lesões classificadas como grau I 29/58 (50%), grau II 25/58(43%) e grau III 4/58 (7%), no entanto esse estudo não realizou correlação para intervalo livre de doença ou sobrevida com a graduação ,ademais, nesse trabalho não foi observada correlação entre essas variantes.

A respeito da margem histológica que foi avaliada conforme Meuten *et al.* (2021), houve o predomínio 10/20 (50%) de margens não contabilizadas por serem biópsias incisionais, 4/20 (20%) M2 sendo margem próxima (<2mm), 3/20 (15%) M4 sendo margem limpa (>5mm), 2/20 (10%) M1 sendo margem comprometida (0 mm) e 1/20 (5%) M3 sendo margem limpa (2-5mm). Dado que era esperado visto que no estudo houve domínio de lesões no plano nasal onde muitas vezes não era visado a realização de biopsia excisional, sendo observado também nesse trabalho a correlação da localização anatômica da lesão com a obtenção de margens livres ($p=0,0049$) o que também foi visto por Lana *et al.* (1997), onde gatos que possuíam lesão em pavilhão auricular obtiveram maiores sobrevida quando comparados os animais com lesões em plano nasal, acredita-se por maior facilidade na obtenção de margens livres. Na medicina nos estudos de Brodland e Zitelli (1992) e Phillips *et al.* (2019) foi verificada a distância da margem histopatológica de CECC de cabeça e pescoço avançado e notou-se o aumento de 5 anos na sobrevida dos pacientes com margem ≥ 5 mm, além do aumento considerável do intervalo livre de doença, o mesmo foi observado nesse estudo onde houve correlação entre a impossibilidade de ressecção cirúrgica, logo, a obtenção de margens cirúrgicas e histopatológicas com sobrevida ($p= 0,0331$). Na Medicina veterinária no trabalho de Scarpa *et al.* (2012) visou-se avaliar a margem histopatológica para prever recorrência local de tumores cutâneos malignos em cães e gatos tratados por excisão cirúrgica, obteve-se 29/60 (48%) margem livre, 11/60 (18%) próxima e 20/60 (33%) comprometida com significativamente maiores taxas de recorrência para amostras com margens próximas e comprometidas.

Sobre o índice mitótico, nesse estudo a média foi de 5 figuras de mitose/10 campos (variação de 0 a 16 figuras de mitose), no entanto, para o CECC em felinos na literatura não há ponto de corte para essa neoplasia, diferentemente de tumores como o de mama (CASSALI *et al.*, 2020), sarcomas de tecidos moles (DENNIS *et al.*, 2011) e mastocitoma caninos(DE NARDI *et al.*, 2018)

Em relação a imunexpressão da ciclogenase 2 foi observado nesse estudo expressão de aproximadamente 89,5%. Expressões elevadas em CECC felino também foram observadas nos trabalhos de Millanta *et al.* (2016) com 70 % e Bardagí *et al.* (2012) 100% de expressão respectivamente, diferentemente do observado para o CEC oral felino onde no estudo de Beam *et al.* (2003) houve a imunexpressão de 9% e Hayes *et al.* (2006) de 67%, essa disparidade nos resultados pode ser explicada devido as diferentes metodologias utilizadas para avaliação da imunexpressão. Diante da elevada expressão de COX-2 nos CECC de gatos nesse trabalho demonstra-se importância de mais estudos sobre o uso dos inibidores da ciclooxigenase 2 no manejo de pacientes com CECC, visto que a utilização desses medicamentos se mostrou eficaz no tratamento, com maiores sobrevidas em carcinoma uroteliais de bexiga em cães (KNAPP *et al.* 2013, 2014, 2020) e tumores de mama em caninas (ARENAS *et al.*, 2016). Ademais, nesse estudo não foi observada a correlação da expressão de COX-2 em lesões de CECC com estadiamento clínico, diferenciação, graduação de Nagamine, intervalo livre de doença ou sobrevida, entretanto, foi vista correlação entre a distribuição da marcação de COX-2 e índice mitótico ($p=0,0387$) diferentemente do observado no trabalho de Poggiani *et al.* (2012), onde foi investigada a relação entre a expressão de COX-2 e proliferação celular que foi avaliada pela marcação com Ki-67 em CECC de cães ($n=10$) e não houve correlação entre expressão de COX-2 e Ki-67.

Quanto a sobrevida e intervalo livre de doença, foi observado nesse estudo a correlação de sobrevida e intervalo livre de doença ($p=0,0147$) e sobrevida e presença de recidiva ($p=0,0158$), dados que eram esperados e já foram observados em trabalhos da medicina como o de Ebrahimi *et al.* (2013), onde buscou determinar se o intervalo livre de doença (ILD) possui correlação com a sobrevida de pacientes com CECC e foi visto que pacientes com ILD curto possuíam correlação significativa com mortalidade relacionada à doença e o de Sun *et al.* (2019) que visou relatar dados sobre a sobrevida em pacientes com CECC e recidiva após tratamento convencional com cirurgia e radioterapia pós-operatória, onde observou que os pacientes com recorrência da doença após tratamento possuíam baixa sobrevida com média de 7 meses, independentemente do estado imunológico.

9. CONCLUSÃO

Evidenciou-se com esse estudo elevada imunoexpressão de COX-2 no CECC felino entretanto não foi observada correlação com estadiamento clínico, diferenciação, graduação histopatológica, intervalo livre de doença ou sobrevida, sendo assim, novos estudos com maior número de casos e diferentes formas de avaliação da expressão de COX-2 podem elucidar sua importância prognóstica para essa neoplasia.

10. REFERÊNCIAS

ABDO, J. M.; SOPKO, N. A.; MILNER, S. M. The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. **Wound Medicine**, v. 28, p. 100179, mar. 2020.

AGARWAL, S.; KRISHNAMURTHY, K. **Histology, Skin**. [s.l: s.n.].

AGOSTINI, T. et al. Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Lower Lip: Analysis of the 5-Year Survival Rate. **Archives of Craniofacial Surgery**, v. 18, n. 2, p. 105–111, 20 jun. 2017.

ALBINI, A. et al. Tumor Inflammatory Angiogenesis and Its Chemoprevention. **Cancer Research**, v. 65, n. 23, p. 10637–10641, 1 dez. 2005.

ALMEIDA, E. M. P. et al. Photodamage in Feline Skin: Clinical and Histomorphometric Analysis. **Veterinary Pathology**, v. 45, n. 3, p. 327–335, 1 maio 2008

ALVES, D. S.; BAESSO CAVALCA, A. M.; FONSECA ALVES, C. E. A Critical Review of the risk factors associated with Canine Squamous Cell Carcinoma development. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 31 mar. 2022.

AMLANI, L. et al. Expression of P53 and Prognosis in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC). **International Journal of Cancer and Clinical Research**, v. 6, n. 4, 9 ago. 2019.

ARENAS, C. et al. Adjuvant therapy for highly malignant canine mammary tumours: Cox-2 inhibitor versus chemotherapy: a case-control prospective study. **Veterinary Record**, v. 179, n. 5, p. 125–125, jul. 2016.

BADEN, H. P. Keratinization in the epidermis. **Pharmacology e Therapeutics**, v. 7, n. 2, p. 393–411, jan. 1979.

BARABAS, K. et al. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 1, p. 1–18, mar. 2008.

BARDAGÍ, M.; FONDEVILA, D.; FERRER, L. Immunohistochemical Detection of COX-2 in Feline and Canine Actinic Keratoses and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 146, n. 1, p. 11–17, jan. 2012.

BEAM, S. L. et al. An Immunohistochemical Study of Cyclooxygenase-2 Expression in Various Feline Neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 5, p. 496–500, 26 set. 2003.

- BECKHAM, T. H. et al. Long-term survival in patients with metastatic head and neck squamous cell carcinoma treated with metastasis-directed therapy. **British Journal of Cancer**, v. 121, n. 11, p. 897–903, 26 nov. 2019.
- BENJAMIN, C.; ANANTHASWAMY, H. p53 and the pathogenesis of skin cancer. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 224, n. 3, p. 241–248, 1 nov. 2007.
- BIKLE, D. D.; XIE, Z.; TU, C.-L. Calcium regulation of keratinocyte differentiation. **Expert Review of Endocrinology e Metabolism**, v. 7, n. 4, p. 461–472, 10 jul. 2012.
- BILGIC, O. et al. Feline Oral Squamous Cell Carcinoma: Clinical Manifestations and Literature Review. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 32, n. 1, p. 30–40, 1 mar. 2015.
- BOISEN, J. et al. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma with Invasion through Ear Cartilage. **Case Reports in Dermatological Medicine**, v. 2016, p. 1–3, 2016.
- BONERANDI, J. J. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous squamous cell carcinoma and precursor lesions. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 25, p. 1–51, dez. 2011.
- BRANTSCH, K. D. et al. Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. **The Lancet Oncology**, v. 9, n. 8, p. 713–720, ago. 2008.
- BREGAZZI, V. S. et al. RESPONSE OF FELINE ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA TO PALLIATIVE RADIATION THERAPY. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v. 42, n. 1, p. 77–79, jan. 2001.
- BREUNINGER, H.; BLACK, B.; RASSNER, G. Microstaging of Squamous Cell Carcinomas: **American Journal of Clinical Pathology**, v. 94, n. 5, p. 624–627, 1 nov. 1990.
- BRODERS, A. C. SQUAMOUS-CELL EPITHELIOMA OF THE LIP. **Journal of the American Medical Association**, v. 74, n. 10, p. 656, 6 mar. 1920.
- BRODLAND, D. G.; ZITELLI, J. A. Surgical margins for excision of primary cutaneous squamous cell carcinoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 27, n. 2, p. 241–248, ago. 1992.

- BRONDANI, J. T.; LUNA, S. P. L.; PADOVANI, C. R. Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 2, p. 174–183, fev. 2011.
- BRYNE, M. et al. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 18, n. 8, p. 432–437, set. 1989.
- BUKHARI, M. et al. Histopathological and immunohistochemistry observations based bukhari grading for squamous cell carcinoma. **Acta Medica International**, v. 2, n. 2, p. 54, 2015.
- CARNEIRO, C. S. et al. Feline injection site sarcoma: immunohistochemical characteristics. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 4, p. 314–321, 23 abr. 2019.
- CASSALI, G. et al. Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors - 2019. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 13, n. 3, p. 555–574, 26 nov. 2020.
- CEMAZAR, M. et al. Electrochemotherapy in Veterinary Oncology. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 826–831, jul. 2008.
- CEMAZAR, M.; SERSA, G. Recent Advances in Electrochemotherapy. **Bioelectricity**, v. 1, n. 4, p. 204–213, 1 dez. 2019.
- CHAPALAIN, M. et al. Stage IV cutaneous squamous cell carcinoma: treatment outcomes in a series of 42 patients. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 34, n. 6, p. 1202–1209, 12 jun. 2020.
- CHOCKALINGAM, R.; DOWNING, C.; TYRING, S. Cutaneous Squamous Cell Carcinomas in Organ Transplant Recipients. **Journal of Clinical Medicine**, v. 4, n. 6, p. 1229–1239, 3 jun. 2015.
- CLARK, G. M. et al. Clinical Utility of Epidermal Growth Factor Receptor Expression for Selecting Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer for Treatment with Erlotinib. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 1, n. 8, p. 837–846, out. 2006.
- COLLINS, L.; QUINN, A.; STASKO, T. Skin Cancer and Immunosuppression. **Dermatologic Clinics**, v. 37, n. 1, p. 83–94, jan. 2019.

- CONCEIÇÃO, L. G. et al. Squamous cell carcinoma (Bowen's disease) in situ in three cats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 3, p. 816–820, jun. 2007.
- COTCHIN, E. Skin Tumours of Cats. **Research in Veterinary Science**, v. 2, n. 4, p. 353–364, out. 1961.
- CUNHA, S. C. et al. Radiation therapy for feline cutaneous squamous cell carcinoma using a hypofractionated protocol. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 4, p. 306–313, 1 abr. 2010.
- CUNHA, S. C. DOS S. et al. Retrospective Study of Adverse Events of Chemotherapy in Cats. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p. 12, 16 maio 2018.
- CUSHING, T. et al. Pseudoangiomatous Squamous Cell Carcinoma in the Oral Cavity of a Dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 2, p. 299–302, 1 mar. 2010.
- DE BAKKER, T. et al. Restoring p53 Function in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma to Improve Treatments. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 6 jan. 2022.
- DE CAMPOS, C. B. et al. Evaluation of prognostic factors and survival rates in malignant feline mammary gland neoplasms. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 12, p. 1003–1012, 10 dez. 2016.
- DE NARDI, A. B. et al. BRAZILIAN CONSENSUS FOR THE DIAGNOSIS, TREATMENT AND PROGNOSIS OF CUTANEOUS MAST CELL TUMORS IN DOGS. **INVESTIGAÇÃO**, v. 17, n. 1, 2 fev. 2018.
- DE OLIVEIRA, E. C. V. et al. Actinic keratosis - review for clinical practice. **International Journal of Dermatology**, v. 58, n. 4, p. 400–407, abr. 2019.
- DE VOS, J. P.; BURM, A. G. O.; FOCKER, B. P. Results from the treatment of advanced stage squamous cell carcinoma of the nasal planum in cats, using a combination of intralesional carboplatin and superficial radiotherapy: a pilot study. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 2, n. 2, p. 75–81, jun. 2004.
- DEMIRUTKU, A. et al. Pinnal squamous cell carcinoma in cats and the effectiveness of treatment with radical pinnectomy. **Veterinární medicína**, v. 57, n. 8, p. 420–429, 31 ago. 2012.

- DENNIS, M. M. et al. Prognostic Factors for Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas in Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 73–84, 7 jan. 2011.
- DHALIWAL, R. S.; KUFUOR-MENSAH, E. Metastatic squamous cell carcinoma in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 9, n. 1, p. 61–66, 11 fev. 2007.
- D’ORAZIO, J. et al. UV Radiation and the Skin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 6, p. 12222–12248, 7 jun. 2013.
- DORÉ, M. Cyclooxygenase-2 Expression in Animal Cancers. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 254–265, 27 jan. 2011.
- DORN, C. R.; TAYLOR, D. O.; SCHNEIDER, R. Sunlight exposure and risk of developing cutaneous and oral squamous cell carcinomas in white cats. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 46, n. 5, p. 1073–1078, maio 1971.
- DOS ANJOS, D. S. et al. Comparison of two different doses of bleomycin in electrochemotherapy protocols for feline cutaneous squamous cell carcinoma nonsegregated from ultraviolet light exposure. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 18362, 27 out. 2020.
- DUNFIELD, E. M. et al. A survey of stereotactic radiation therapy in veterinary medicine. **Veterinary Radiology e Ultrasound**, v. 59, n. 6, p. 786–795, nov. 2018.
- EBRAHIMI, A. et al. Prognostic significance of disease-free interval in head and neck cutaneous squamous cell carcinoma with nodal metastases. **Head e Neck**, v. 35, n. 8, p. 1138–1143, ago. 2013.
- ECKERT, R. L.; RORKE, E. A. Molecular biology of keratinocyte differentiation. **Environmental Health Perspectives**, v. 80, p. 109–116, mar. 1989.
- FANIA, L. et al. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches. **Biomedicines**, v. 9, n. 2, p. 171, 9 fev. 2021.
- FAVROT, C. et al. Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Analyses of Feline Squamous Cell Carcinoma In Situ. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 1, p. 25–33, 1 jan. 2009.
- FELLER, L. et al. Basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma and melanoma of the head and face. **Head e Face Medicine**, v. 12, n. 1, p. 11, 5 dez. 2016.

FIDEL, J. L. et al. PROTON IRRADIATION OF FELINE NASAL PLANUM SQUAMOUS CELL CARCINOMAS USING AN ACCELERATED PROTOCOL. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v. 42, n. 6, p. 569–575, nov. 2001.

FITZPATRICK, T. B. The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI. **Archives of Dermatology**, v. 124, n. 6, p. 869, 1 jun. 1988.

FLORENCE, M. E. B. et al. Angiogenesis in the progression of cutaneous squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study of endothelial markers. **Clinics**, v. 66, n. 3, p. 465–468, jan. 2011.

FORMAGGINI, L. Normograde, minimally invasive technique for oesophagostomy in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 6, p. 481–486, 1 jun. 2009.

FREJBORG, E.; SALO, T.; SALEM, A. Role of Cyclooxygenase-2 in Head and Neck Tumorigenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 23, p. 9246, 3 dez. 2020.

FU, W.; COCKERELL, C. J. The Actinic (Solar) Keratosis. **Archives of Dermatology**, v. 139, n. 1, p. 66–70, 1 jan. 2003.

FUCHS, A.; MARMUR, E. The Kinetics of Skin Cancer: Progression of Actinic Keratosis to Squamous Cell Carcinoma. **Dermatologic Surgery**, v. 33, n. 9, p. 1099–1101, set. 2007.

GALLO, R. L. **Human Skin Is the Largest Epithelial Surface for Interaction with Microbes**. **Journal of Investigative Dermatology** Elsevier B.V., , 1 jun. 2017.

GARMA-AVIÑA, A. The Cytology of Squamous Cell Carcinomas in Domestic Animals. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 2, p. 238–246, 25 abr. 1994.

GIEGER, T.; NOLAN, M. Management of Radiation Side Effects to the Skin. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 6, p. 1165–1180, nov. 2017.

GOLDSCHMIDT, M. H. Basal- and squamous-cell neoplasms of dogs and cats. **The American Journal of Dermatopathology**, v. 6, n. 2, p. 199–206, abr. 1984.

GOLDSCHMIDT, M. H.; GOLDSCHMIDT, K. H. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. Em: **Tumors in Domestic Animals**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley e Sons, Inc., 2016. p. 88–141.

GOLDSMITH, L. A. Recent advances in epidermal biology: Relevance to epidermal malignancies. **Journal of Surgical Oncology**, v. 23, n. 2, p. 104–106, jun. 1983.

GOODFELLOW, M. et al. A retrospective study of ⁹⁰ Strontium plesiotherapy for feline squamous cell carcinoma of the nasal planum. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 8, n. 3, p. 169–176, 11 jun. 2006.

GOUVEIA, B. M. et al. The prognostic importance of parotid involvement by head and neck squamous cell carcinoma - Case report. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 3, p. 351–353, jun. 2016.

GRAF, R. et al. Swiss Feline Cancer Registry: A Retrospective Study of the Occurrence of Tumours in Cats in Switzerland from 1965 to 2008. **Journal of Comparative Pathology**, v. 153, n. 4, p. 266–277, nov. 2015.

GRANADOS-GARCÍA, M. et al. Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: The Current Role of Cetuximab. **ORL**, v. 78, n. 6, p. 320–333, 2016.

GRASSINGER, J. et al. Correlation of BRAF Variant V595E, Breed, Histological Grade and Cyclooxygenase-2 Expression in Canine Transitional Cell Carcinomas. **Veterinary Sciences**, v. 6, n. 1, p. 31, 19 mar. 2019.

GREGHI, J. R. et al. Avaliação termográfica do efeito do piroxicam como tratamento adjuvante em neoplasias mamárias de cadelas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e18710212236, 10 fev. 2021.

GREGÓRIO, H. et al. The role of COX expression in the prognostication of overall survival of canine and feline cancer: A systematic review. **Veterinary Medicine and Science**, v. 7, n. 4, p. 1107–1119, 10 jul. 2021.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 107–124, 29 mar. 2021.

GREVOT, A. et al. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeIV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v. 12, n. 3, p. 271–275, 15 set. 2005.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883–899, mar. 2010.

GROSS, T. L. et al. **Skin Diseases of the Dog and Cat**. Blackwell Science ed. [s.l.] Wiley, 2005.

HARTMANN, K. Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. **Viruses**, v. 4, n. 11, p. 2684–2710, 31 out. 2012.

HASHEMI GORADEL, N. et al. Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 5, p. 5683–5699, 20 maio 2019.

HASLETON, P. S. The internal surface area of the adult human lung. **Journal of anatomy**, v. 112, n. Pt 3, p. 391–400, set. 1972.

HAYES, A. et al. COX-1 and COX-2 Expression in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 135, n. 2–3, p. 93–99, ago. 2006.

HAYES, A. M. et al. Survival of 54 cats with oral squamous cell carcinoma in United Kingdom general practice. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 7, p. 394–399, jul. 2007.

HEDBERG, M. L. et al. Molecular Mechanisms of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 7, p. 3478, 23 mar. 2022.

HELANDER, H. F.; FÄNDRIS, L. Surface area of the digestive tract – revisited. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 49, n. 6, p. 681–689, 2 jun. 2014.

HO, N. T.; SMITH, K. C.; DOBROMYLSKYJ, M. J. Retrospective study of more than 9000 feline cutaneous tumours in the UK: 2006–2013. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 20, n. 2, p. 128–134, 23 fev. 2018.

HOGGARD, N.; MUNDAY, J. S.; LUFF, J. Localization of *Felis catus* Papillomavirus Type 2 E6 and E7 RNA in Feline Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 3, p. 409–416, 17 maio 2018.

HUTSON, C. A.; RIDEOUT, B. A.; PEDERSEN, N. C. Neoplasia associated with feline immunodeficiency virus infection in cats of southern California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1357–62, 15 nov. 1991.

JENNINGS, L.; SCHMULTS, C. D. Management of high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. **The Journal of clinical and aesthetic dermatology**, v. 3, n. 4, p. 39–48, abr. 2010.

KAMINETZKY, H. A.; SWERDLOW, M. Atypical epithelial hyperplasia of the uterine cervix. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 82, n. 4, p. 903–908, out. 1961.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457–481, jun. 1958.

KARIA, P. S. et al. Clinical and Incidental Perineural Invasion of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **JAMA Dermatology**, v. 153, n. 8, p. 781, 1 ago. 2017.

KEEPMAN, S. J.; PELLIN, M. A. Low dose meloxicam is safe and tolerable when combined with toceranib phosphate in cancer-bearing cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 24, n. 12, p. 1187–1194, 18 dez. 2022.

KNAPP, D. W. et al. Randomized Trial of Cisplatin versus Firocoxib versus Cisplatin/Firocoxib in Dogs with Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 1, p. 126–133, jan. 2013.

KNAPP, D. W. et al. Urinary Bladder Cancer in Dogs, a Naturally Occurring Model for Cancer Biology and Drug Development. **ILAR Journal**, v. 55, n. 1, p. 100–118, 1 jan. 2014.

KNAPP, D. W. et al. Naturally-Occurring Invasive Urothelial Carcinoma in Dogs, a Unique Model to Drive Advances in Managing Muscle Invasive Bladder Cancer in Humans. **Frontiers in Oncology**, v. 9, 21 jan. 2020.

KOLARSICK, P. A. J.; KOLARSICK, M. A.; GOODWIN, C. Anatomy and Physiology of the Skin. **Journal of the Dermatology Nurses' Association**, v. 3, n. 4, p. 203–213, jul. 2011.

KOSTER, M. I. Making an Epidermis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1170, n. 1, p. 7–10, jul. 2009.

KUKANICH, K. et al. Effects of low-dose meloxicam in cats with chronic kidney disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n. 2, p. 138–148, 29 fev. 2021.

LANA, S. et al. Feline cutaneous squamous cell carcinoma of the nasal planum and the pinnae: 61 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 33, n. 4, p. 329–332, 1 jul. 1997.

LARSEN, S. R. et al. The prognostic significance of histological features in oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology e Medicine**, v. 38, n. 8, p. 657–662, set. 2009.

LARUE, S. M.; CUSTIS, J. T. Advances in Veterinary Radiation Therapy. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 44, n. 5, p. 909–923, set. 2014.

- LAVALLE, G. E. et al. Cox-2 Expression in Canine Mammary Carcinomas. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 6, p. 1275–1280, 15 nov. 2009.
- LEVINE, P.; SMALLWOOD, L.; BUBACK, J. Esophagostomy tubes as a method of nutritional management in cats: a retrospective study. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 33, n. 5, p. 405–410, 1 set. 1997.
- LIMA, P. A. et al. Estudo retrospectivo da casuística de felinos domésticos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de 2005 a 2014. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1775–1783, dez. 2018.
- LINOS, E.; KATZ, K. A.; COLDITZ, G. A. Skin Cancer—The Importance of Prevention. **JAMA Internal Medicine**, v. 176, n. 10, p. 1435, 1 out. 2016.
- LOGGINI, B. et al. CD34 Microvessel Density and VEGF Expression in Basal and Squamous Cell Carcinoma. **Pathology - Research and Practice**, v. 199, n. 11, p. 705–712, jan. 2003.
- MACNEILL, A. L. Cytology of Canine and Feline Cutaneous and Subcutaneous Lesions and Lymph Nodes. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, n. 2, p. 62–76, maio 2011.
- MAGLIETTI, F. et al. Combined local and systemic bleomycin administration in electrochemotherapy to reduce the number of treatment sessions. **Radiology and Oncology**, v. 50, n. 1, p. 58–63, 16 fev. 2016.
- MANCIBO, S. E.; WANG, S. Q. Skin cancer: role of ultraviolet radiation in carcinogenesis. **Reviews on Environmental Health**, v. 29, n. 3, p. 265–273, 1 jan. 2014.
- MANUALI, E. et al. Tumours in European Shorthair cats: a retrospective study of 680 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 22, n. 12, p. 1095–1102, 12 dez. 2020.
- MARTENS, M. C. et al. Photocarcinogenesis and Skin Cancer Prevention Strategies: An Update. **Anticancer Research**, v. 38, n. 2, 20 jan. 2018.
- MARTINCORENA, I. et al. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. **Science**, v. 348, n. 6237, p. 880–886, 22 maio 2015.
- MARTY, M. et al. Electrochemotherapy – An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. **European Journal of Cancer Supplements**, v. 4, n. 11, p. 3–13, nov. 2006.

MATTS, P. J. Solar Ultraviolet Radiation: Definitions and Terminology. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 1–8, jan. 2006.

MCENTEE, M. C. Veterinary Radiation Therapy: Review and Current State of the Art. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 42, n. 2, p. 94–109, 1 mar. 2006.

MELEO, K. A. Tumors of the Skin and Associated Structures. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 73–94, jan. 1997.

MELNIKOVA, V. O.; ANANTHASWAMY, H. N. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 571, n. 1–2, p. 91–106, 1 abr. 2005.

MEUTEN, D. J. et al. International Guidelines for Veterinary Tumor Pathology: A Call to Action. **Veterinary Pathology**, v. 58, n. 5, p. 766–794, 20 set. 2021.

MILLANTA, F. et al. Correlation Between Cyclo-oxygenase-2 and Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Canine and Feline Squamous Cell Carcinomas. **Journal of Comparative Pathology**, v. 154, n. 4, p. 297–303, maio 2016.

MILLER, M. A. et al. Cutaneous Neoplasia in 340 Cats. **Veterinary Pathology**, v. 28, n. 5, p. 389–395, 26 set. 1991.

MIR, L. M. Bases and rationale of the electrochemotherapy. **European Journal of Cancer Supplements**, v. 4, n. 11, p. 38–44, nov. 2006.

MIR, L. M.; ORLOWSKI, S. The Basis of Electrochemotherapy. Em: **Electrochemotherapy, Electrochemotherapy, and Transdermal Drug Delivery**. New Jersey: Humana Press, p. 99–117.

MOAN, J. et al. The relationship between UV exposure and incidence of skin cancer. **Photodermatology, Photoimmunology e Photomedicine**, v. 31, n. 1, p. 26–35, jan. 2015.

MOSTELLER, R. D. Simplified Calculation of Body-Surface Area. **New England Journal of Medicine**, v. 317, n. 17, p. 1098–1098, 22 out. 1987.

MOTHÉ, G. B. et al. Ocular lesions in a domestic feline: **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 58, p. e183219, 8 jul. 2021.

MUKHERJEE, C. et al. Eyelid-parotid metastasis: do we screen for coexisting masses? A case series. **The Journal of Laryngology e Otology**, v. 129, n. 11, p. 1140–1142, 24 nov. 2015.

MUKHTAR, H.; ELMETS, C. A. Photocarcinogenesis: Mechanisms, Models and Human Health Implications: Introduction. **Photochemistry and Photobiology**, v. 63, n. 4, p. 356–357, abr. 1996.

MUKKANWAR, R. N. et al. Clear cell variant of oral squamous cell carcinoma: case report and review. **Autopsy Case Reports**, v. 12, p. e2021388, 2022.

MUNDAY, J. S.; GIBSON, I.; FRENCH, A. F. Papillomaviral DNA and increased p16CDKN2A protein are frequently present within feline cutaneous squamous cell carcinomas in ultraviolet-protected skin. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 4, p. 360–366, ago. 2011.

MURAKAMI, Y. et al. Immunohistochemical Analysis of Cyclin A, Cyclin D1 and P53 in Mammary Tumors, Squamous Cell Carcinomas and Basal Cell Tumors of Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, n. 7, p. 743–750, 2000.

MURPHY, S. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in the Cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 5, p. 401–407, 19 maio 2013.

NAFISI, S.; MAIBACH, H. I. Skin penetration of nanoparticles. Em: **Emerging Nanotechnologies in Immunology**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 47–88.

NAGAMINE, E. et al. Invasive Front Grading and Epithelial-Mesenchymal Transition in Canine Oral and Cutaneous Squamous Cell Carcinomas. **Veterinary Pathology**, v. 54, n. 5, p. 783–791, 11 set. 2017.

NARAYANAN, D. L.; SALADI, R. N.; FOX, J. L. Review: Ultraviolet radiation and skin cancer. **International Journal of Dermatology**, v. 49, n. 9, p. 978–986, 30 ago. 2010.

NASSAR, A. et al. COX-2 Expression in Invasive Breast Cancer. **Applied Immunohistochemistry e Molecular Morphology**, v. 15, n. 3, p. 255–259, set. 2007.

NEAGU, M. et al. Inflammation: A key process in skin tumorigenesis (Review). **Oncology Letters**, 19 nov. 2018.

NEMEC, A. et al. Histological Subtypes of Oral Non-tonsillar Squamous Cell Carcinoma in Dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 147, n. 2–3, p. 111–120, ago. 2012.

NGUYEN, S. M. et al. Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): a Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 3, p. 176–183, set. 2015.

NISCHAL, U.; NISCHAL, K.; KHOPKAR, U. Techniques of skin biopsy and practical considerations. **Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery**, v. 1, n. 2, p. 107, 2008.

NOLAN, M. W.; DOBSON, J. M. The future of radiotherapy in small animals - should the fractions be coarse or fine? **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, n. 9, p. 521–530, set. 2018.

NOLÊTO, F. DE F. Z. et al. PERFIL DOS TUTORES DE GATOS E ASPECTOS RELACIONADOS À SUA CRIAÇÃO. **Acta Biomédica Brasiliensia**, v. 8, n. 1, p. 84, 21 jul. 2017.

NUNES, D. H. et al. Incidência do carcinoma de células escamosas da pele na cidade de Tubarão (SC) - Brasil nos anos de 2000, 2003 e 2006. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 482–488, out. 2009.

O'CALLAGHAN, G.; HOUSTON, A. Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 22, p. 5239–5250, nov. 2015.

ODDONE, N. et al. Metastatic cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. **Cancer**, v. 115, n. 9, p. 1883–1891, 1 maio 2009.

OGILVIE, G. K. et al. Papillary squamous cell carcinoma in three young dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 7, p. 933–6, 1 abr. 1988.

OGILVIE, G. K. et al. Toxicoses and efficacy associated with administration of mitoxantrone to cats with malignant tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 11, p. 1839–44, 1 jun. 1993.

OLARTE SAUCEDO, M. et al. Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en animales domésticos. Revisión. **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias**, v. 10, n. 2, p. 416–432, 17 jun. 2019.

PAREKH, V.; SEYKORA, J. T. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 37, n. 3, p. 503–525, set. 2017.

PARISI, F. et al. Skin Photodamage Lesions in a Bilateral Feline Auricular Primary Fibrosarcoma. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 10, p. 548, 5 out. 2022.

PATHAK, J. et al. Histopathological variants of oral squamous cell carcinoma-institutional case reports. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 18, n. 1, p. 143, 2014.

PATRONEK, G. J.; RAUCH, A. Systematic review of comparative studies examining alternatives to the harmful use of animals in biomedical education. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 1, p. 37–43, 1 jan. 2007.

PETRUCCI, G. N. et al. Adjuvant doxorubicin vs metronomic cyclophosphamide and meloxicam vs surgery alone for cats with mammary carcinomas: A retrospective study of 137 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 19, n. 4, p. 714–723, 9 dez. 2021.

PHILLIPS, T. J. et al. Pathological margins and advanced cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. **Journal of Otolaryngology - Head e Neck Surgery**, v. 48, n. 1, p. 55, 25 dez. 2019.

PINELLO, K. et al. Vet-OncoNet: Malignancy Analysis of Neoplasms in Dogs and Cats. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 10, p. 535, 28 set. 2022.

PLASMEIJER, E. I. et al. Cutaneous squamous cell carcinoma (cSCC) and immunosurveillance – the impact of immunosuppression on frequency of cSCC. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. S8, p. 33–37, 13 dez. 2019.

POETA, M. L. et al. *TP53* Mutations and Survival in Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 25, p. 2552–2561, 20 dez. 2007.

POGGIANI, S. D. S. C. et al. Expression of Cyclooxygenase-2 and Ki-67 in Actinic Keratosis and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in Dogs. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 02, n. 02, p. 41–47, 2012.

PRESCOTT, S. M.; FITZPATRICK, F. A. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1470, n. 2, p. M69–M78, mar. 2000.

PRICE, M. L. et al. Distinctive epidermal atypia in immunosuppression-associated cutaneous malignancy. **Histopathology**, v. 13, n. 1, p. 89–94, jul. 1988.

PRIEBE, A. P. S. et al. Ocorrência de neoplasias em cães e gatos da mesorregião metropolitana de Belém, PA entre 2005 e 2010. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1583–1586, dez. 2011.

PRIESTER, W. A. Skin Tumors in Domestic Animals. Data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine 2. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 50, n. 2, p. 457–466, fev. 1973.

QUE, S. K. T.; ZWALD, F. O.; SCHMULTS, C. D. Cutaneous squamous cell carcinoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 78, n. 2, p. 237–247, fev. 2018.

QUIMBY, J. et al. 2021 AAHA/AAFP Feline Life Stage Guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n. 3, p. 211–233, 25 mar. 2021.

RAMASAMY, K. et al. Ultraviolet radiation-induced carcinogenesis: Mechanisms and experimental models. **Journal of Radiation and Cancer Research**, v. 8, n. 1, p. 4, 2017.

RANGEL, M. M. M. et al. Electrochemotherapy in the treatment of neoplasms in dogs and cats. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 51, n. 2, p. 45–51, maio 2019.

RATUSHNY, V. et al. From keratinocyte to cancer: the pathogenesis and modeling of cutaneous squamous cell carcinoma. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 2, p. 464–472, 1 fev. 2012.

RENZI, A. et al. Prevalence of p53 dysregulations in feline oral squamous cell carcinoma and non-neoplastic oral mucosa. **PLOS ONE**, v. 14, n. 4, p. e0215621, 18 abr. 2019.

RICE, J. C. et al. Efficacy of incisional vs punch biopsy in the histological diagnosis of periocular skin tumours. **Eye**, v. 17, n. 4, p. 478–481, 15 maio 2003.

RINKER, M. H. et al. Histologic Variants of Squamous Cell Carcinoma of the Skin. **Cancer Control**, v. 8, n. 4, p. 354–363, 30 jul. 2001.

RODRÍGUEZ GUISADO, F.; SUÁREZ-BONNET, A.; RAMÍREZ, G. A. Cutaneous Spindle Cell Squamous Cell Carcinoma in Cats: Clinical, Histological, and Immunohistochemical Study. **Veterinary Pathology**, v. 58, n. 3, p. 503–507, 12 maio 2021.

ROSSI, F. et al. The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 4, p. 497–504, dez. 2018.

ROWE, D. E.; CARROLL, R. J.; DAY, C. L. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 26, n. 6, p. 976–990, jun. 1992.

RUNDHAUG, J. E. et al. A role for cyclooxygenase-2 in ultraviolet light-induced skin carcinogenesis. **Molecular Carcinogenesis**, v. 46, n. 8, p. 692–698, ago. 2007.

RUNDHAUG, J. E.; FISCHER, S. M. Cyclo-oxygenase-2 Plays a Critical Role in UV-induced Skin Carcinogenesis. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, n. 2, p. 322–329, mar. 2008.

SABATTINI, S. et al. Epidermal growth factor receptor expression is predictive of poor prognosis in feline cutaneous squamous cell carcinoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 10, p. 760–768, 1 out. 2010.

SAMPEDRO-CARRILLO, E. A. Sample Preparation and Fixation for Histology and Pathology. Em: [s.l: s.n.]. p. 33–45.

SCARPA, F. et al. Use of histologic margin evaluation to predict recurrence of cutaneous malignant tumors in dogs and cats after surgical excision. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 240, n. 10, p. 1181–1187, 15 maio 2012.

SCHALKA, S. et al. Brazilian Consensus on Photoprotection. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 6 suppl 1, p. 1–74, dez. 2014.

SCHMIDT, J. M. et al. Feline paediatric oncology: retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 6, p. 306–311, 11 maio 2010.

SCHMITT, J. et al. Occupational ultraviolet light exposure increases the risk for the development of cutaneous squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Dermatology**, v. 164, n. 2, p. 291–307, fev. 2011.

SCHMITZ, L.; KANITAKIS, J. Histological classification of cutaneous squamous cell carcinomas with different severity. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. S8, p. 11–15, 13 dez. 2019.

SEKHAR, P.; RAJ, L. M. Variants of oral squamous cell carcinoma with emphasis on histopathological features, biomarkers. **International Journal of Community Dentistry**, v. 9, n. 2, p. 87, 2021.

SILVA, I. et al. Metastatic submandibular acantholytic squamous cell carcinoma in a dog. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 11, n. 1, p. 19–23, 23 abr. 2018.

SILVERBERG, M. J. et al. HIV Infection Status, Immunodeficiency, and the Incidence of Non-Melanoma Skin Cancer. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 105, n. 5, p. 350–360, 6 mar. 2013.

SIMČIČ, P. et al. A Retrospective Multicentric Study of Electrochemotherapy in the Treatment of Feline Nasal Planum Squamous Cell Carcinoma. **Veterinary Sciences**, v. 8, n. 3, p. 53, 22 mar. 2021.

SIMMS, L.; BARRACLOUGH, H.; GOVINDAN, R. Biostatistics Primer: What a Clinician Ought to Know—Prognostic and Predictive Factors. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 8, n. 6, p. 808–813, jun. 2013.

SNYDER, L. A. et al. p53 Expression and Environmental Tobacco Smoke Exposure in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 3, p. 209–214, 26 maio 2004.

SOLTERO-RIVERA, M. M. et al. Prevalence of regional and distant metastasis in cats with advanced oral squamous cell carcinoma: 49 cases (2005–2011). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 2, p. 164–169, 11 fev. 2014.

SONTHEIMER, R. D. Skin Is Not the Largest Organ. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, n. 2, p. 581–582, fev. 2014.

SOUKUP, J. W. et al. Clinical, Histologic, and Computed Tomographic Features of Oral Papillary Squamous Cell Carcinoma in Dogs: 9 Cases (2008–2011). **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 30, n. 1, p. 18–24, 1 mar. 2013.

SPARKES, A. H. et al. ISFM and AAFP Consensus Guidelines: Long-Term use of NSAIDs in Cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 7, p. 521–538, 1 jul. 2010.

SPUGNINI, E. P. et al. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: A preliminary report. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p. 117–120, jan. 2009.

STEPHENS, T. The Use of Chemotherapy to Prolong the Life of Dogs Suffering from Cancer: The Ethical Dilemma. **Animals**, v. 9, n. 7, p. 441, 14 jul. 2019.

STRAVODIMOU, A. et al. Evaluation of T-lymphocyte subpopulations in actinic keratosis, in situ and invasive squamous cell carcinoma of the skin. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 45, n. 5, p. 337–347, maio 2018.

STROMBERG, P. C.; MEUTEN, D. J. Trimming Tumors for Diagnosis and Prognosis. Em: **Tumors in Domestic Animals**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley e Sons, Inc., 2016. p. 27–43.

SUN, L. et al. Association of Disease Recurrence With Survival Outcomes in Patients With Cutaneous Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated With Multimodality Therapy. **JAMA Dermatology**, v. 155, n. 4, p. 442, 1 abr. 2019.

SUN, T.-T.; GREEN, H. Differentiation of the epidermal keratinocyte in cell culture: Formation of the cornified envelope. **Cell**, v. 9, n. 4, p. 511–521, dez. 1976.

SWAN, M. B.; MORROW, D. M.; LURIE, D. M. Pilot study evaluating stereotactic body radiation therapy for feline facial squamous cell carcinomas. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n. 12, p. 1081–1088, 22 dez. 2021.

TEIFKE, J. P.; LÖHR, C. V. Immunohistochemical detection of P53 overexpression in paraffin wax-embedded squamous cell carcinomas of cattle, horses, cats and dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 114, n. 2, p. 205–210, fev. 1996.

TELLADO, M. et al. Electrochemotherapy using thin-needle electrode improves recovery in feline nasal planum squamous cell carcinoma - a translational model. **Cancer Drug Resistance**, v. 5, n. 3, p. 595–611, 2022.

TEMANEH-NYAH, C.; MUKWEKWE, L. **An investigation on the effect of operating temperature on power output of the photovoltaic system at University of Namibia Faculty of Engineering and I.T campus**. 2015 Third International Conference on Digital Information, Networking, and Wireless Communications (DINWC). **Anais...IEEE**, fev. 2015.

THAIWONG, T. et al. Immunohistochemical Characterization of Canine Oral Papillary Squamous Cell Carcinoma. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 2, p. 224–232, 20 mar. 2018.

THÉON, A. P.; VANVECHTEN, M. K.; MADEWELL, B. R. Intratumoral administration of carboplatin for treatment of squamous cell carcinomas of the nasal plane in cats. **American journal of veterinary research**, v. 57, n. 2, p. 205–10, fev. 1996.

THOMPSON, L. D. R. Squamous cell carcinoma variants of the head and neck. **Current Diagnostic Pathology**, v. 9, n. 6, p. 384–396, dez. 2003.

TOGNI, M. et al. Estudo retrospectivo de 207 casos de tumores mamários em gatas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 353–358, mar. 2013.

TOZON, N. et al. Electrochemotherapy with intravenous bleomycin injection: an observational study in superficial squamous cell carcinoma in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 4, p. 291–299, 14 abr. 2014.

URSO, B. et al. Risk factors and prevention strategies for cutaneous squamous cell carcinoma in transplant recipients. **International Journal of Dermatology**, v. 61, n. 10, p. 1218–1224, 26 out. 2022.

VEGA-MEMIJE, E. et al. Cytodiagnosis of cutaneous basal and squamous cell carcinoma. **International Journal of Dermatology**, v. 39, n. 2, p. 116–120, fev. 2000.

VENESS, M. J. et al. Cutaneous head and neck squamous cell carcinoma metastatic to parotid and cervical lymph nodes. **Head e Neck**, v. 29, n. 7, p. 621–631, jul. 2007.

WANG, D.; DUBOIS, R. N. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. **Oncogene**, v. 29, n. 6, p. 781–788, 11 fev. 2010.

WATT, F. M. Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 1, n. 6, p. 1107–1115, dez. 1989.

WEISS, E.; FRESE, K. Tumours of the skin. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 50, n. 1–2, p. 79–100, 1974.

WILLCOX, J. L. et al. Clinical features and outcome of dermal squamous cell carcinoma in 193 dogs (1987-2017). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 2, p. 130–138, 13 jun. 2019.

YANO, K. et al. Ultraviolet B irradiation of human skin induces an angiogenic switch that is mediated by upregulation of vascular endothelial growth factor and by downregulation of thrombospondin-1. **British Journal of Dermatology**, v. 152, n. 1, p. 115–121, jan. 2005.

YANOFSKY, V. R.; MERCER, S. E.; PHELPS, R. G. Histopathological Variants of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Review. **Journal of Skin Cancer**, v. 2011, p. 1–13, 2011.

YILDIZ, P. et al. Measurement of Tumor Thickness in Cutaneous Squamous Cell Carcinomas: Do the Different Methods Provide Better Prognostic Data? **The American Journal of Dermatopathology**, v. 42, n. 5, p. 337–342, maio 2020.

YOSHIKAWA, H. et al. Immunohistochemical characterization of feline oral squamous cell carcinoma. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 11, p. 1801–1806, nov. 2012.

ZHU, G. A.; LYNN SU CHANG, A. Overall and progression-free survival of stage 4 cutaneous squamous cell carcinoma at a single large referral center. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 1, p. 165–166, jul. 2015.

ZINK, B. S. Câncer de pele: a importância do seu diagnóstico, tratamento e prevenção. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 5, 5 ago. 2014.

ANEXOS

ANEXO 01 – Documento Protocolo Comissão de ética no Uso Animal (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Perfil imunohistoquímico dos carcinomas espinocelulares cutâneos em gatos e correlação com o prognóstico e resposta terapêutica", protocolo do CEUA: 126/2022 sob a responsabilidade de Rodrigo dos Santos Horta que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 27/06/2022.

Vigência da Autorização	27/06/2022 a 26/06/2027
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Banco de amostras / BRD
Nº de animais	40
Peso/idade	4kg / 8(anos)
Sexo	Indiferente
Origem	Hospital Veterinário da UFMG

Considerações posteriores:

27/06/2022	Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 27/06/2022. Validade: 27/06/2022 a 26/06/2027.
------------	---

Belo Horizonte, 27/06/2022.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG
https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - ceua@jornal.ufmg.br