

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Avaliação da sobrevida e de marcadores
histomorfológicos como potenciais fatores
prognósticos para carcinoma de células escamosas em
cães e gatos**

Tainã Normanton Guim

Pelotas, 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

TAINÃ NORMANTON GUIM

**AVALIAÇÃO DA SOBREVIDA E DE MARCADORES HISTOMORFOLÓGICOS
COMO POTENCIAIS FATORES PROGNÓSTICOS PARA CARCINOMA DE
CÉLULAS ESCAMOSAS EM CÃES E GATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Veterinária da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Ciências (área
do conhecimento: Patologia Animal).

Orientadora: Prof^a Dr^a Cristina Gevehr Fernandes

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Josiane Bonel Raposo

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

G963a Guim, Tainã Normanton

Avaliação da sobrevida e de marcadores histomorfológicos como potenciais fatores prognósticos para carcinoma de células escamosas em cães e gatos / Tainã Normanton Guim ; orientador Cristina Gevehr Fernandes; co-orientador Josiane Bonel Raposo. - Pelotas,2010.-65f. ; il.- Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) –Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1. Neoplasmas cutâneos 2.Carcinoma 3.Células escamosas
4.Cães. 5.Gatos 6.Fatores prognósticos I Fernandes, Cristina Gevehr (orientador) II .Título.

CDD 636.7089

Banca examinadora:

Profº Drª Cristina Gevehr Fernandes (Presidente)

Profº Drª Gilma Trindade

Profº Drª Fabiane Borelli Grecco

Profº Drª Margarida Buss Raffi

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus e aos meus pais, Pedro e Alexandra, pelo carinho, pelo incentivo aos estudos e por estarem sempre presentes em minha vida

Agradecimentos

Inicialmente agradeço a Deus pelas vitórias e conquistas adquiridas em minha vida.

Aos meus pais Pedro e Alexandra pelo incentivo e apoio em minhas escolhas, pelo amor e carinho incondicional, pela dedicação aos filhos e por acreditarem em meu potencial profissional.

Ao meu irmão e colega de pós-graduação Thomas Normanton Guim pelo carinho, pela compreensão, pela amizade e principalmente por estar sempre disposto a ajudar, inclusive para assuntos dissertativos, patológicos e emocionais. A minha irmã Thaís pelo apoio, carinho e amizade. Ao meu namorado Bernardo pela compreensão e pelo apoio incondicional durante esta fase de minha vida.

Às minhas orientadoras, Prof^a Cristina Gevehr Fernandes e Prof^a Josiane Bonel Raposo pela amizade, pela confiança, pelo companheirismo, pela disponibilidade em ajudar e pelos ensinamentos transmitidos durante esses anos.

Aos colegas de pós-graduação Clairton Marcolongo, Letícia Fiss, Michele Berselli, Fernanda Xavier, Pedro Quevedo, Thomas Normanton Guim e Fabiane Grecco (atualmente professora), agradeço pelo companheirismo, pelos dias de AFIP e pelos bons momentos juntos.

Ao professor Luiz Filipe Damé Schuch pelo auxílio na parte estatística e pela disponibilidade em ajudar na tentativa de fazer o melhor para esta dissertação.

Aos médicos veterinários do Laboratório Regional de Diagnóstico, Ana Lúcia Schild e Mauro Pereira Soares e as professoras Elisa Simone Viegas e Margarida Buss Raffi, pelos ensinamentos e pelo auxílio técnico-científico.

Aos residentes e veterinários do HCV/UFPel e as clínicas veterinárias da cidade de Pelotas pela cooperação na coleta de dados e envio das amostras.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos e a Universidade Federal de Pelotas.

Resumo

N-GUIM, Tainã, **Avaliação da sobrevida e de marcadores histomorfológicos como potenciais fatores prognósticos para carcinoma de células escamosas em cães e gatos**. 2010, 65p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Carcinoma de células escamosas (CCE) é um neoplasma cutâneo maligno comumente observado no cão e no gato. Especialmente em nosso país, o CCE representa um problema sério, uma vez que a exposição crônica à radiação ultravioleta é um dos fatores importantes para o desenvolvimento da doença. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo estabelecer marcadores histomorfológicos como fatores prognósticos e determinar o tempo e a estimativa de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos. Foi realizado um levantamento dos casos de CCEs em cães e gatos diagnosticados no Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas, durante o período de 1999 a 2009. Foram recuperadas 50 amostras provenientes de biópsias e/ou necropsias. Do total de casos estudados, 24 animais portadores da doença foram acompanhados durante um período de um ano. Neste estudo, utilizou-se o grau histológico e o tempo de sobrevida como critério de avaliação prognóstica. Os parâmetros histológicos avaliados como: infiltrado linfoplasmacítico peritumoral, eosinofilia tecidual associada a tumores, índice mitótico, arranjo, invasão para tecidos adjacentes, êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático, desmoplasia e quantificação das AgNORs, foram confrontados com o grau histológico e com a sobrevida dos animais acometidos. Quando os parâmetros histológicos foram confrontados com a sobrevida, observou-se relação estatística significativa com a intensidade de invasão para tecidos adjacentes ($p < 0,05$) e, quando confrontados com o grau histológico, a invasão somente para CCEs pouco diferenciados e a desmoplasia foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). No presente estudo, a estimativa de sobrevida para animais portadores de CCEs cutâneos foi 23,4% em um ano, independentemente de terem sido tratados ou não. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que a intensidade de invasão é um fator prognóstico preditivo importante para CCEs cutâneos em cães e gatos. Os demais parâmetros avaliados não mostraram relação com o grau histológico e/ou com a sobrevida, dessa forma, não são considerados fatores prognósticos preditivos. O tempo e a estimativa de sobrevida foram baixos e, portanto, o prognóstico para cães e gatos portadores de CCEs cutâneos é, de um modo geral, desfavorável.

Palavras-chave: neoplasmas cutâneos. carcinoma de células escamosas. fatores prognósticos. cães. gatos.

Abstract

N-GUIM, Tainã, **Evaluation of survival and histomorphological markers as potential prognostic factors for squamous cell carcinoma in dogs and cats.** 2010, 65p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Squamous cell carcinoma (SCC) is a cutaneous malignant neoplasm commonly observed in dog and cat. Especially in our country, the SCC represents a serious problem, since chronic exposure to ultraviolet radiation is one of the important factors for the development of the disease. In this way, the objective of this study was establish histomorphological markers as prognostic factors and determine the time and the estimated survival of dogs and cats carriers of SCCs. A survey of cases of SCCs in dog and cat diagnosed at the Regional Diagnostic Laboratory from the Federal University of Pelotas, was performed during the period of 1999 to 2009. Fifty samples were obtained from biopsies and/or necropsies. From the studied cases, 24 animals with the disease were followed for a period of one year. In this study, we used the histological grade and survival time of animals as a criterion to prognostic evaluation. The histological parameters evaluated as peritumoral lymphoplasmacytic infiltration, tissue eosinophilia associated with tumor, mitotic index, arrangement, invasion to adjacent tissues, emboli vascular blood and/or lymphatic, desmoplastic reaction and quantification of AgNORs were confronted with the histological grade and the survival time of affected animals. When the histological parameters were compared with survival, a significant relation was observed with the intensity of invasion to adjacent tissues ($p < 0.05$). When confronted with the histological grade, the invasion show significant results only to poorly differentiated SCCs and desmoplasia were statistically significant ($p < 0.05$). In this study, the estimate of survival was 23.4% in one year to animals with or without treatment. From the results obtained, it was concluded that the intensity of invasion is an important predictive prognostic factor for cutaneous SCCs in dogs and cats. Other parameters showed no relation with the histological grade and/or survival, thus, are not considered prognostic factors predictive. The time and the estimate of survival were low and therefore the prognosis for dogs and cats carrier of cutaneous SCCs is unfavorable.

Key-words: cutaneous neoplasms. squamous cell carcinoma. prognostic factors. dogs. cats.

Lista de figuras

- Figura 1 - Aspecto macroscópico do carcinoma de células escamosas em cães e gatos. **A)** Massa tumoral de superfície irregular contendo um nódulo firme, ulcerado e sangrante no prepúcio de um cão (seta); **B)** Lesões avermelhadas, ulceradas e crostosas em forma de placa na região cutânea abdominal de um cão (seta); **C)** Pavilhão auricular interno de um felino com lesões nodulares, crostosas e ulceradas; **D)** Nódulo ulcerado localizado na pálpebra inferior de um cão (seta); **E)** Linfadenomegalia proveniente de metástase para linfonodo inguinal em um cão com lesão primária no prepúcio; **F)** Superfície de corte branco-amarelada de nódulo metastático em linfonodo inguinal de um cão do mesmo caso da figura 5A e 5E.....31
- Figura 2 - Distribuição dos CCEs em cães e gatos conforme a graduação histológica.....32
- Figura 3 - Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Ilhas de células epiteliais neoplásicas e numerosas pérolas de queratina em CCE bem diferenciado; **B)** Trabéculas e ninhos de células epiteliais neoplásicas e ausência evidente de queratinização em CCE pouco diferenciado; **C)** Ilhas e ninhos de células epiteliais neoplásicas e discreta a moderada pérolas de queratina em CCE moderadamente diferenciado; **D)** Acentuado infiltrado inflamatório linfoplasmacítico (seta) ao redor de ninhos e ilhas de ceratinócitos neoplásicos em CCE bem diferenciado; **E)** Acentuado infiltrado eosinofílico (seta) circundando o epitélio neoplásico em CCE pouco diferenciado; **F)** Figuras de mitoses em anáfase (seta acima) e metáfase (seta abaixo) em CCE moderadamente diferenciado com elevado índice mitótico35
- Figura 4 - Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Grandes agrupamentos de células epiteliais neoplásicas na forma de trabéculas (seta acima) e ilhas (seta abaixo) em CCE bem diferenciado; **B)** Pequenos

agrupamentos de ceratinócitos neoplásicos arranjados em ninhos (seta acima) e cordões (seta abaixo) em CCE moderadamente diferenciado; **C)** Invasão para tecido cartilaginoso em CCE pouco diferenciado; **D)** Invasão para o tecido adiposo em CCE pouco diferenciado; **E)** Invasão para o tecido ósseo em CCE bem diferenciado. Observa-se a presença de ceratinócitos neoplásicos em meio à destruição óssea; **F)** Invasão para o tecido muscular em CCE pouco diferenciado. Observa-se intensa destruição muscular acompanhada por infiltrado linfoplasmacítico peritumoral36

Figura 5 - Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Invasão perineural por ninhos de ceratinócitos neoplásicos em CCE moderadamente diferenciado; **B)** Ceratinócitos neoplásicos no interior do vaso sanguíneo em CCE pouco diferenciado (seta); **C)** Êmbolos neoplásicos no interior de vasos linfáticos em CCE bem diferenciado (setas); **D)** Abundante tecido conjuntivo frouxo ao redor de ninhos de ceratinócitos neoplásicos em CCE bem diferenciado. Coloração de AgNOR: **E)** Baixa contagem AgNOR/núcleo, caracterizada por poucos pontos marrom-escuros no interior dos núcleos em CCE bem diferenciado com média de 1,00 AgNOR/núcleo; **F)** Alta contagem AgNOR/núcleo, constituída por inúmeros pontos marrom-escuros no interior do núcleo em CCE pouco diferenciado., com média de 2,51AgNOR/núcleo.....37

Figura 6 - Curva de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos conforme a intensidade de invasão do neoplasma. O prognóstico dos animais portadores de tumores menos invasivos foi significativamente melhor em relação aos portadores de tumores mais invasivos ($p < 0,05$)38

Figura 7 - Curva de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos independentemente de terem ou não sido submetidos à cirurgia39

Figura 8 - Curva de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos submetidos ou não à cirurgia.....39

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Lista de figuras	7
Sumário	9
1 Introdução.....	11
2 Revisão de literatura.....	13
2.1 Carcinoma de células escamosas	14
2.1.1 Caracterização clínica e patológica	14
2.1.2 Fatores prognósticos	15
2.1.2.1 Graduação histológica	15
2.1.2.2 Infiltrado inflamatório peritumoral	17
2.1.2.3 Eosinofilia tecidual associada a tumores	18
2.1.2.4 Mitoses	19
2.1.2.5 Invasão e metástases.....	20
2.1.2.6 Desmoplasia.....	22
2.1.2.7 Regiões organizadoras nucleolares argirofílicas	23
3 Metodologia	25
3.1 Obtenção das amostras	25
3.2 Avaliação histopatológica.....	25
3.2.1 Hematoxilina - eosina	25
3.2.1.1 Graduação histológica	25
3.2.1.2 Infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral	26
3.2.1.3 Eosinofilia tecidual associada a tumores	26
3.2.1.4 Índice mitótico.....	26
3.2.1.5 Arranjo	27
3.2.1.6 Invasão para tecidos adjacentes	27
3.2.1.7 Êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático	27
3.2.1.8 Desmoplasia.....	27
3.2.2 AgNORs	28
3.3 Avaliação da sobrevida	28
3.4 Análise estatística	29
4 Resultados.....	30

4.1 Avaliação histopatológica.....	30
4.1.1 Hematoxilina - eosina	30
4.1.1.1 Graduação histológica	30
4.1.1.2 Infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral	32
4.1.1.3 Eosinofilia tecidual associada a tumores	32
4.1.1.4 Índice mitótico.....	33
4.1.1.5 Arranjo	33
4.1.1.6 Invasão para tecidos adjacentes	33
4.1.1.7 Êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático	34
4.1.1.8 Desmoplasia.....	34
4.1.2 AgNORs	34
4.2 Avaliação da sobrevida.....	38
5 Discussão	40
6 Conclusões.....	45
Referências	46
Apêndices	53
Anexos	60

1 INTRODUÇÃO

A pele é considerada o local de maior ocorrência de neoplasmas no cão e o segundo local mais comumente observado no gato (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996). Atualmente, observa-se um aumento no número de diagnósticos relacionados a neoplasmas cutâneos, tornando importante a identificação dos mesmos e o estabelecimento do seu comportamento biológico (CHERPELIS; MARCUSEN; LANG, 2002; SOUZA et al., 2006). Dentre os tumores cutâneos que acometem cães e gatos, os carcinomas de células escamosas (CCEs) são os mais comumente observados (GROSS et al., 2005; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; SUSANECK, 1983).

A ocorrência de CCEs cutâneos em humanos também tem aumentado nas últimas décadas e com isso, existe a busca constante de novos fatores prognósticos (CHERPELIS; MARCUSEN; LANG, 2002). A espessura do tumor e a profundidade de invasão são fatores prognósticos mais fortemente preditivos para CCEs cutâneos em humanos (KHANNA et al., 2002; PETTER; HAUSTEIN, 2000; ROWE; CARROLL; DAY, 1992). Adicionalmente, outros fatores prognósticos também têm sido mencionados como o grau histológico, o subtipo histológico e a invasão perineural (KHANNA et al., 2002; ROWE; CARROLL; DAY, 1992). Em animais, dados estatísticos similares aos descritos em humanos são escassos ou não são relatados na literatura (GROSS et al., 2005).

Em medicina veterinária, existem vários estudos que abordam diferentes modalidades terapêuticas para CCEs cutâneos, incluindo cirurgia, criocirurgia, radioterapia e quimioterapia (FERREIRA et al., 2006; THÉON et al., 1995). Entretanto, estudos relacionados à fatores prognósticos de CCEs cutâneos em cães

e gatos são escassos e se tornam importantes pelo fato de estarem diretamente associados à resposta ao tratamento.

Neste sentido, realizou-se um estudo retrospectivo e prospectivo de CCEs cutâneos em cães e gatos, que teve como objetivos: (1) determinar marcadores histomorfológicos como potenciais fatores prognósticos e (2) avaliar a estimativa e o tempo de sobrevida dos portadores desses neoplasmas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A pele é um órgão complexo composto de muitos tecidos. Ela está exposta à uma ampla variedade de fatores químicos, físicos, agentes infecciosos e outros irritantes ambientais que podem iniciar ou promover o desenvolvimento de um neoplasma. Além disso, está sujeita a fatores genéticos e agentes internos envolvidos na gênese de tumores neoplásicos e não neoplásicos (PULLEY; STANNARD, 1990; VAIL; WITHROW, 2007).

Dentre todos os neoplasmas, as desordens proliferativas da pele são as mais comumente encontradas em pequenos animais (VAIL; WITHROW, 2007). Neoplasmas cutâneos são os tumores mais comumente observados em cães, responsáveis por cerca de um terço de todos os tumores que acometem esta espécie. Em gatos, depois das neoplasias do sistema linfóide, as neoplasias cutâneas são o segundo grupo em ordem de frequência, responsáveis por aproximadamente um quarto de todos os tumores que acometem esta espécie (BOSTOCK, 1986; SUSANECK, 1983).

Muitos tipos de tumores ocorrem na pele, já que esta é composta por uma ampla variedade de tipos celulares potencialmente capazes de se transformar em neoplasia. Dentre os tumores cutâneos que mais acometem cães e gatos estão os mastocitomas, os carcinomas de células escamosas, os tumores sebáceos, os papilomas, os tumores de folículo piloso, os lipomas, os histiocitomas, os melanomas, os fibrossarcomas, os hemangiomas e os hemangiossarcomas (BOSTOCK, 1986; GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002; SOUZA et al., 2006; VAIL; WITHROW, 2007).

2.1. Carcinoma de células escamosas

2.1.1. Caracterização clínica e patológica

CCE é um neoplasma cutâneo maligno comumente observado em cães e gatos (GROSS et al., 2005; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; VAIL; WITHROW, 2007). Especialmente no Brasil, o CCE representa um problema clínico-cirúrgico sério, uma vez que a exposição crônica à radiação ultravioleta é um dos fatores importantes para o desenvolvimento da doença (FERREIRA et al., 2006; GUEDES; SHMITT; PIPPI, 1998). Isso porque o Brasil, por sua posição geográfica, sofre as influências das alterações na camada de ozônio com maior incidência da radiação ultravioleta na atmosfera (SOUSA et al., 2009).

As lesões surgem em locais revestidos por poucos pêlos ou de pigmentação clara (BOSTOCK, 1986; GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002; VAIL; WITHROW, 2007). Em cães, as lesões ocorrem mais comumente no leito ungueal, no escroto, plano nasal, membros, ânus, abdômen e flanco (GROSS et al., 2005; VAIL; WITHROW, 2007). Em gatos, as lesões são geralmente localizadas no plano nasal, orelha e pálpebra inferior (BOSTOCK, 1986; SUSANECK, 1983; VAIL; WITHROW, 2007).

Os CCEs podem se manifestar na forma erosiva ou proliferativa (VAIL; WITHROW, 2007). Lesões proliferativas podem variar de uma placa firme avermelhada até uma lesão nodular. As lesões erosivas, mais comumente observadas no gato, são inicialmente superficiais e crostosas (SUSANECK, 1983; VAIL; WITHROW, 2007). As duas formas podem cursar com ulceração (VAIL; WITHROW, 2007). Lascelles et al. (2000) relatam que cães com CCE no plano nasal apresentam sangramento, espirros e inchaço, podendo desenvolver obstrução nasal, estertor e dispnéia. As lesões são localmente invasivas, pouco delimitadas e comumente sangram (SUSANECK, 1983).

Histologicamente, os CCEs caracterizam-se pela proliferação de células epiteliais neoplásicas arranjadas em ilhas, cordões, trabéculas e ninhos associados ou não com a epiderme subjacente. A presença de queratina varia conforme o grau de diferenciação histológica, assim, pérolas de queratina são freqüentemente

observadas em tumores bem diferenciados enquanto que os tumores pouco diferenciados apresentam somente queratinização de células individuais (GOLDSCHIMIDT et al., 1998; GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002).

2.1.2. Fatores prognósticos

Um fator prognóstico pode ser definido como sendo uma ou mais características clínicas, patológicas e biológicas dos indivíduos e de seus neoplasmas que permitem prever a evolução clínica e o tempo de sobrevida do paciente, sem que o mesmo tenha sido submetido a terapias adicionais e adjuvantes após a cirurgia (CAVALCANTI; CASSALI, 2006). Geralmente, esses dados devem ser confrontados entre si ou com o tempo de sobrevida dos animais (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; HELLMÉN et al., 1993).

Em humanos, há uma ampla variedade de fatores prognósticos associados aos CCEs cutâneos, dentre eles a imunossupressão, a etiologia (cicatrices, ulceração crônica ou dermatose solar), o tamanho da massa tumoral, a localização anatômica, o grau histológico, os subtipos histológicos, a invasão perineural, a invasão para tecidos adjacentes e a espessura do neoplasma (ALAM; RATNER, 2001; KANE et al., 2004; KHANNA et al., 2002).

Em medicina veterinária, o prognóstico para os CCEs cutâneos em cães e gatos é fortemente preditivo pelo estadiamento clínico do tumor. Outros fatores prognósticos podem ser preditivos para os CCEs em cães e gatos como o grau histológico, técnicas histoquímicas (AgNOR) e imunoistoquímicas (PCNA, Ki-67) de proliferação celular, morfometria nuclear, taxa de apoptose e fator de crescimento endotelial (VAIL; WITHROW, 2007).

2.1.2.1. Graduação histológica

CCEs são usualmente graduados em bem diferenciados, moderadamente diferenciados e pouco diferenciados (GOLDSCHIMIDT et al., 1998; GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2005; KANE et al., 2004). Adicionalmente, duas variantes histológicas incomuns têm sido descritas:

acantolítico (adenóide ou pseudoglandular) e o de células fusiformes (GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2005; JOHNSON; HELWING, 1966; LIM et al., 2008; PETTER; HAUSTEIN, 2000).

Em humanos, a graduação histológica tem sido estabelecida como um critério importante e útil para o prognóstico em CCEs cutâneos (ROWE; CARROLL; DAY, 1992). Em felinos, Bostock (1972), relacionou o tempo de sobrevida pós-cirúrgico com a localização anatômica e o grau de diferenciação. Os resultados mostraram que tumores cutâneos bem diferenciados, apresentaram um prognóstico melhor em relação aos tumores pouco diferenciados, enquanto que o prognóstico dos animais portadores de CCE na cavidade oral foi desfavorável e, neste caso, o grau de diferenciação do tumor não foi um fator prognóstico importante.

Théon et al. (1995), demonstraram que a graduação histológica não apresentou valor prognóstico significativo. Ela foi correlacionada ao tempo de sobrevida livre da doença em felinos com CCE de plano nasal submetidos à radioterapia. Por outro lado, a imunomarcagem da fração proliferativa do tumor (PCNA) e o tamanho do tumor apresentaram valor prognóstico significativo. Do mesmo modo, em cães com CCE de plano nasal, o grau histológico não apresentou valor prognóstico significativo (LASCELLES et al., 2000).

Atualmente, os subtipos histológicos em humanos têm sido considerados fatores prognósticos. Segundo Kane et al. (2004), as variantes dos CCEs como doença de Bowen, queratoacantoma e carcinoma verrucoso apresentam um potencial menos maligno do que os típicos CCEs invasivos. Diversos relatos em relação ao prognóstico dos CCEs acantolíticos têm sido publicados, porém, mais estudos são necessários para determinar o verdadeiro comportamento desta variante histológica. Alguns autores acreditam que os CCEs de células fusiformes sejam potencialmente mais agressivos, mostrando maior taxa de recorrência e metástases (KANE et al., 2004; PETTER; HAUSTEIN, 2000).

Dados referentes à graduação histológica ou subtipo em medicina veterinária, são escassos. Neste sentido, estudos são necessários para permitir uma abordagem terapêutica adequada e um prognóstico fidedigno em CCEs de cães e gatos (GROSS et al, 2005).

2.1.2.2. Infiltrado inflamatório peritumoral

A presença de infiltrado de linfócitos e macrófagos dentro e ao redor de vários tipos tumorais em muitas espécies sugere que os tumores podem desencadear uma resposta imune. Neste sentido, postulou-se que o sistema imunológico é capaz de reconhecer autoantígenos nas células tumorais como estranhas e atacar as células que carregam esses antígenos, processo denominado como imunovigilância. Discute-se que a efetiva imunovigilância suprime o desenvolvimento tumoral (KUSEWITT; RUSH, 2009).

O papel da inflamação no desenvolvimento tumoral ainda não está claro. O recrutamento de células inflamatórias é utilizado para conter o desenvolvimento tumoral, representando uma tentativa do hospedeiro de suprimir o crescimento neoplásico (KUSEWITT; RUSH, 2009). Entretanto, a liberação de fatores de crescimento e sobrevivência, angiogênese, linfangiogênese, dano de DNA induzido, remodelamento da matriz extracelular e alteração no padrão de expressão de receptores de adesão também possibilitam a progressão neoplásica e a evasão do sistema imune (COUSSENS; WERB, 2002).

Sadanaga et al. (1994), mencionam que a resposta imune local pode prevenir a invasão neoplásica, no entanto, a ausência da expressão de antígenos por células tumorais é um fator significativo que facilita a invasão tumoral em CCEs esofágicos. Isso ocorre porque as células tumorais empregam uma variedade de mecanismos para evitar o ataque de linfócitos (KUSEWITT; RUSH, 2009).

Pérez et al. (1999a), utilizando imunoistoquímica, relacionaram o grau histológico e a invasividade com a presença de infiltrado inflamatório constituído por linfócito T, linfócito B e células plasmáticas em CCEs cutâneos em felinos. Neste estudo, os CCEs bem diferenciados eram menos invasivos e exibiam um número significativamente maior de infiltrado linfoplasmacítico em relação aos CCEs moderadamente diferenciados, que apresentavam um comportamento mais agressivo. Em ovinos, a infiltração peritumoral linfoplasmacítica foi mais pronunciada nos estágios iniciais quando comparados com os estágios avançados e metastáticos (PÉREZ et al., 1997). Em equinos, um abundante infiltrado inflamatório linfoplasmacítico foi associado com a maioria dos CCEs e lesões de queratose

actínica, mas não houve correlação entre infiltrado inflamatório e grau histológico ou invasão (PÉREZ et al., 1999b).

Em humanos, a presença de extensos infiltrados inflamatórios de células mononucleares, principalmente linfócitos, plasmócitos e/ou macrófagos, está sendo correlacionado com um prognóstico favorável e são descritos em uma ampla variedade de tumores (CLEMENTE et al., 1996; MORITA et al., 2001; ROPPONEN et al., 1997). Pérez et al. (1999a), através de seus resultados, sugerem que um abundante infiltrado de linfócitos T peritumoral poderia ser um fator prognóstico para CCEs em felinos. Entretanto, estudos adicionais que estabeleçam a taxa recorrência e/ou metástases e a natureza do infiltrado de linfócitos T são necessários para validar o infiltrado linfoplasmacítico peritumoral como um fator prognóstico preditivo em CCEs (PÉREZ et al., 1999a).

2.1.2.3. Eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT)

A presença de eosinófilos em neoplasmas tem sido mencionada em diversos estudos e foi denominada como eosinofilia tecidual associada a tumores (DORTA, 2000). Ela tem sido observada em uma ampla variedade de tumores, tanto em humanos (DORTA, 2000) como em animais (MASUDA, 2007).

Os eosinófilos contêm uma variedade de grânulos que exercem efeitos biológicos nos micro-organismos e nos tecidos onde os micro-organismos se replicam. Os grânulos denominados como “pequenos grânulos” apresentam enzimas, tais como arilsulfatases, fosfatases ácidas, metaloproteinases e gelatinases. Adicionalmente, os eosinófilos elaboram citocinas como a interleucina 1 e 3 (IL-1/IL-3), fator estimulador de macrófagos e granulócitos (GM-CSF), fator transformador do crescimento α e β (TGF- α /TGF- β) e quimiocinas (ACKERMANN, 2009).

O significado e o mecanismo de atração dos eosinófilos em carcinomas invasivos ainda não foram bem esclarecidos. Ono et al. (1997), sugerem que o infiltrado eosinofílico pode ser promovido por um fator quimiotático eosinofílico derivado do tumor. Um estudo recente indicou que os eosinófilos presentes no estroma de CCEs podem desempenhar um papel importante na invasão tumoral através da ativação da 92-kd gelatinase, presente nos “pequenos grânulos” dos eosinófilos. Na sua forma ativa, a 92-kd gelatinase possui capacidade de degradar

componentes da membrana basal e do estroma dérmico favorecendo a invasão tumoral (STAHLE-BACKDAHL; PARKS, 1993). Ghiabi, Gallagher e Wong (1992), demonstraram que a produção de TGF α por eosinófilos, poderia mediar uma série de atividades biológicas (mitogênese, angiogênese e reabsorção óssea), podendo favorecer o desenvolvimento do neoplasma.

Em humanos, o ETAT mostrou ser um fator prognóstico favorável em CCEs da cavidade oral. Os pacientes que apresentaram tumores com intensa eosinofilia tiveram uma maior sobrevida (DORTA, 2000). Tepper, Coffman e Leder (1992), acreditam que as citocinas secretadas pelos eosinófilos podem contribuir para a citotoxicidade tumoral, tanto pela ação direta, como pela ativação autócrina dos eosinófilos ou mesmo pela estimulação de populações adicionais de células efectoras. No entanto, Said et al. (2005) sugerem que a contagem elevada de eosinófilos em neoplasias escamosas da laringe é uma figura morfológica associada com a invasão tumoral.

Masuda (2007), em um estudo com CCEs no trato alimentar superior de bovinos, mostrou que o ETAT não apresentou correlação estatística significativa quando comparada com o grau histológico e a presença de metástases. Entretanto, a intensidade do ETAT foi observada em bovinos mais jovens, sugerindo que a idade poderia influenciar de alguma forma na resposta inflamatória tumoral.

O mecanismo de atração dos eosinófilos e o seu papel nos tumores ainda não foram definidos, sendo correlacionados tanto com um prognóstico favorável, como desfavorável, ou mesmo não apresentando qualquer relação com a evolução dos pacientes (DORTA, 2000). Neste sentido, mais estudos são necessários para elucidar esses achados (MARTINELLI-KLAY; MENDIS; LOMBARDI, 2009).

2.1.2.4. Mitoses

Diferentes métodos para mensurar a proliferação em células neoplásicas têm sido desenvolvidos nos últimos anos. Dentre as mais utilizadas estão a técnica histoquímica das regiões organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNORs) (ROMANSIK et al., 2007), a morfometria microscópica, a citometria de fluxo, a radiomarcagem de nucleotídeos e as técnicas de imunohistoquímica. Entretanto, limitações técnicas e/ou econômicas estão relacionadas com cada uma das técnicas mencionadas, de modo que a contagem de figuras mitóticas ainda é o método mais

conveniente e amplamente usado para mensurar a proliferação celular (SARLI et al., 1998).

Em medicina humana, o índice mitótico (IM) tem sido utilizado como um fator preditivo do comportamento tumoral e prognóstico em uma ampla variedade de tumores, incluindo neoplasias mamárias (BIESTERFELD; REITMAIER, 2001) e carcinoma de tireóide (VOLANTE; CAVALLO; PAPOTTI, 2004). Em medicina veterinária, o IM tem sido utilizado em sarcomas de tecidos moles em cães (KUNTZ et al., 1997), tumores sólidos cutâneos e mamários em cães e gatos (SARLI et al., 1998) e mastocitomas em cães (ROMANSIK et al., 2007).

Lascelles et al. (2000), em um estudo realizado com dezessete cães com CCE de plano nasal, avaliaram a relação entre IM e o tempo de sobrevida dos pacientes após diferentes protocolos terapêuticos. Os resultados mostraram que o IM não apresentou diferença estatística significativa em relação ao tempo de sobrevida e recorrência dos pacientes, independentes do tipo de tratamento utilizado.

2.1.2.5. Invasão e metástases

Tanto a invasão como as metástases são conhecidos por afetar o prognóstico dos pacientes com câncer. Assim, predizer o potencial metastático dos neoplasmas em uma fase inicial é extremamente importante (KURAHARA et al., 1999).

O mecanismo de invasão, que inicia o processo de metástase, consiste nas seguintes etapas: separação das células tumorais, adesão aos componentes da matriz extracelular (MEC), proteólise do tecido adjacente e migração das células neoplásicas (STEEG, 2006). As células epiteliais, que normalmente estão unidas umas as outras por moléculas de adesão, perdem sua capacidade de coesão (KUSEWITT; RUSH, 2009). A importância da caderina E (E-cad), que é uma molécula de adesão, na biologia do câncer é relatada em muitos estudos, estando relacionada com a tumorigênese e invasão neoplásica (FRIXEN et al., 1991). Matos et al. (2006), utilizando a técnica de imunistoquímica em neoplasias mamárias caninas, sugerem que a diminuição da expressão da E-cad está relacionada com a invasão e metástase tumoral. Isso indica que a perda da expressão da E-cad pode ter um valor prognóstico, mas que estudos relatando o curso clínico da doença são

necessários para estabelecer a expressão da E-cad como fator prognóstico (MATOS et al., 2006). Ao mesmo tempo em que as células tumorais desprendem-se uma das outras, elas também devem manter contato com os componentes da MEC. Em razão disso, as células tumorais expressam uma variedade de receptores como, por exemplo, as integrinas, que se ligam a uma gama de componentes da MEC, como fibronectina, laminina, colágeno e vitronectina (KUSEWITT; RUSH, 2009).

O processo de invasão é seguido pela produção de várias proteases por células tumorais (KUSEWITT; RUSH, 2009). As metaloproteinases são proteases associadas com a degradação da MEC e da membrana basal (NELSON et al., 2000). Estudos em CCEs da cavidade oral utilizando a técnica de imunistoquímica têm revelado que tanto o aumento da expressão das metaloproteinases quanto a diminuição da expressão da matriz extracelular, estão associadas com a invasão e metástase tumoral (KURAHARA et al., 1999).

A migração das células tumorais é mediada por alterações coordenadas no citoesqueleto e pelas estruturas de adesão celular com as quais estão intimamente associadas. O fator de crescimento autócrino, como o fator de crescimento de hepatócitos e a clivagem dos componentes da MEC também estimulam a migração das células tumorais (KUSEWITT; RUSH, 2009).

Após a invasão do tecido adjacente, as células tumorais entram em vasos linfáticos ou sanguíneos, sobrevivem na circulação e extravasam para os tecidos, crescendo em um novo sítio (STEEG, 2006).

Diversos autores têm relatado que os CCEs cutâneos em cães e gatos apresentam um comportamento invasivo, mas com baixo potencial metastático (GINN; MENSETT; RUKICH, 2007; GOLDSCHIMIDT; HENDRICK, 2002; GROSS et al., 2005). Rogers, Helman e Walker (1995), em um estudo de oito casos de CCEs no plano nasal de cães, relatam que macroscopicamente as lesões são localmente invasivas com envolvimento do tecido subcutâneo, fáscia, cartilagem e tecido ósseo em dois casos, sendo que metástases não foram observadas. Segundo Bostock (1972), os CCEs pouco diferenciados são mais metastáticos do que os CCEs bem diferenciados, embora estes também possam metastizar. Entretanto, Schuh (1986), em um estudo em CCEs da mucosa oral, nasal e faringeal de eqüinos, demonstrou que a presença de metástases não apresentou correlação positiva com o grau histológico. Por outro lado, Pérez et al. (1999a), mencionaram que o potencial

invasivo está diretamente relacionado com a graduação histológica em CCEs de gatos.

2.1.2.6. Desmoplasia

A desmoplasia ou reação desmoplásica corresponde à proliferação de tecido conjuntivo associado às células epiteliais neoplásicas invasoras. (CULLEN; PAGE; MISDORP, 2002; KUSEWITT; RUSH, 2009). Apesar de muitos tumores, benignos e malignos, estarem associados com a desmoplasia, este fenômeno é mais freqüentemente associado com os carcinomas invasivos (BARSKY; GROTENDORST; LIOTTA, 1982).

Durante um período de tempo, a desmoplasia foi considerada uma reação do hospedeiro, na qual as células do estroma sintetizavam maior quantidade de colágeno em uma tentativa de resposta contra tumor invasivo (BARSKY; GROTENDORST; LIOTTA, 1982). Atualmente, se aceita a hipótese que as células tumorais produzem moléculas sinalizadoras, como fatores do crescimento, citocinas, hormônios e mediadores inflamatórios, que estimulam os fibroblastos associados ao tumor a aumentarem a produção de colágeno (BARSKY; GROTENDORST; LIOTTA, 1982; KUSEWITT; RUSH, 2009).

O estroma desmoplásico dos tumores contém grande quantidade de colágeno fibrilar, fibronectinas, proteoglicanos e tenascina C. Em humanos, a tenascina C, normalmente ausente na glândula mamária, é expressa em neoplasias mamárias, conseqüentemente sua presença correlaciona-se a um prognóstico reservado em carcinoma de mama (ISHIHARA et al., 1995). Por outro lado, outros componentes da matriz extracelular desmoplásica inibem a progressão do tumor. Em um estudo utilizando ratos como modelo, a aplicação de uma substância inibidora de fibras colágenas, aumentou a invasão e metástases em melanomas cutâneos (BARSKY; GOPALAKRISHNA, 1987).

Gross et al. (2005) mencionam que a desmoplasia observada em CCEs bem diferenciados de cães e gatos é moderada a abundante, enquanto que nos CCEs pouco diferenciados e mais invasivos, a produção de colágeno estromal é menos intensa. Entretanto, Ginn, Mensett e Rukich (2007) mencionam que uma marcada desmoplasia usualmente é associada com a invasão de células neoplásicas.

A resposta desmoplásica e os efeitos exercidos sobre o crescimento tumoral ainda são desconhecidos. Estudos na área são escassos porque a reação desmoplásica envolve interações complexas entre célula e hospedeiro (BARKSKY; GOPALAKRISHNA, 1987).

2.1.2.7. Regiões organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNORs)

A técnica histoquímica da AgNOR consiste na impregnação pela prata das proteínas associadas às regiões organizadoras nucleolares (NORs) e constitui um recurso para analisar a proliferação celular, uma vez que estas estruturas estão relacionadas com o nível de atividade celular e nuclear. Nas células em proliferação, o número das NORs aumenta, tornando possível a relação entre a contagem das NORs e a proliferação celular (DERENZINI, 2000; TRERÈ, 2000). Alguns autores demonstraram a relação do número de NORs e a atividade mitótica utilizando como parâmetro marcadores imunoistoquímicos de proliferação celular. Houve uma correlação positiva entre o aumento do número de NORs e expressão de marcadores como Ki-67 e PCNA em humanos (COSTA et al., 1999) e Ki-67 em caninos (WEBSTER et al., 2007).

As NORs são definidas como alças de DNA que possuem os genes para a transcrição de RNA ribossômico, dos quais decorre a formação de ribossomos e conseqüentemente a síntese protéica. Através da impregnação pela prata, uma série de proteínas ácidas associadas às NORs e correlacionadas diretamente com a atividade transicional e proliferativa das células se tornam evidentes à microscopia de luz, como pontos escuros distribuídos pelo núcleo e nucléolo, sendo o número e a configuração das NORs relacionados com atividade nuclear (DERENZINI, 2000).

A atividade proliferativa celular é representada pelo aumento do número de NORs/núcleo, refletindo seu estágio de mitose. A célula interfásica possui NORs volumosas e agregadas ao núcleo, apresentando uma ou duas NORs/núcleo. Por outro lado, quando a célula entra em mitose, o nucléolo se fragmenta, dando origem a NORs numerosas e pequenas observadas no núcleo (DERENZINI, 2000).

Em animais domésticos, a contagem da AgNOR tem sido utilizada como método auxiliar no diagnóstico e como importante ferramenta prognóstica em tumores cutâneos em caninos (DIAS, 2006; GIRALDO et al., 2003; WEBSTER et al., 2007), tumores mamários em cadelas (DESTEXHE; VANMANSHOVEN;

COIGNOUL, 1995; GUIM, 2007; LÖHR et al., 1997; MENDES, 2006), tumores mamários em felinos (SPADER, 2009) e CCEs do trato alimentar em bovinos (MASUDA, 2007).

Giraldo et al. (2003), caracterizaram as AgNORs em mastocitomas, CCEs e tumor basocelular em cães. Os resultados mostram que a quantificação das AgNORs em mastocitomas foi significativa quando correlacionada com a graduação histológica. No entanto, neste mesmo estudo, não foi realizada a correlação das AgNORs com a graduação histológica nos CCEs, pois o tamanho da amostra não era significativo.

3 METODOLOGIA

3.1. Obtenção das amostras

Para a realização deste estudo, foram resgatados dos arquivos do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel), 50 casos de carcinomas de células escamosas de cães e gatos provenientes de biópsias ou necropsias avaliadas no período de 1999 a 2009. Do total de amostras, 24 animais portadores do neoplasma foram acompanhados para a avaliação da estimativa e do tempo de sobrevida.

3.2. Avaliação histopatológica

3.2.1. Hematoxilina-eosina (HE)

A partir do material incluído em parafina, foram obtidos cortes de 3 μ m, os quais foram montados em lâminas histológicas. Estas foram coradas com hematoxilina-eosina e avaliadas através de microscopia de luz. As amostras foram analisadas conforme (1) grau histológico, (2) infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral, (3) eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT), (4) índice mitótico (IM), (5) arranjo predominante, (6) invasão tecidual, (7) êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático e (8) desmoplasia (Apêndice A). Os parâmetros histológicos obtidos das amostras estão representados no Apêndice B.

3.2.1.1. Graduação histológica

Foram atribuídos os seguintes graus histológicos para os CCEs: bem diferenciados (BD), moderadamente diferenciados (MD) e pouco diferenciados (PD),

conforme o sistema de classificação preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os critérios utilizados para determinar o grau histológico foram: morfologia das células, grau de queratinização e pleomorfismo celular e nuclear (LASCELLES et al., 2000).

3.2.1.2. Infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral

O infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral foi classificado conforme a intensidade em: ausente (0), leve (1), moderado (2) ou acentuado (3). Para a avaliação, foram selecionadas áreas representativas do corte histológico, geralmente ao redor dos ninhos, ilhas, trabéculas e/ou cordões dos ceratinócitos neoplásicos. Áreas ulceradas e/ou necróticas não foram incluídas na análise.

3.2.1.3. Eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT)

A eosinofilia tecidual associada a tumores foi classificada conforme a intensidade em ausente (0), leve (1), moderada (2) ou acentuada (3). Para a avaliação da ETAT, foram consideradas áreas representativas do corte histológico. Os locais escolhidos foram aqueles em que o infiltrado de eosinófilos circundava o epitélio neoplásico. Regiões necrosadas e/ou ulceradas foram excluídas da análise.

3.2.1.4. Índice mitótico (IM)

O índice mitótico foi obtido através da soma do número de mitoses contadas em cinco campos aleatórios de grande aumento (cga; 400x) divididos por cinco, resultando na média de mitoses/campo. As mitoses foram classificadas quanto à intensidade em: ausente (0); baixo (1), quando contadas uma a duas mitoses/cga; moderada (2), quando contadas de três a quatro mitoses/cga e acentuada (3), quando contadas cinco ou mais mitoses/cga. Foram excluídas da análise áreas ulceradas, necróticas ou autolíticas, nas quais a morfologia celular e as figuras mitóticas não eram nítidas.

3.2.1.5. Arranjo

O arranjo das células tumorais foi classificado em dois grupos conforme o padrão predominante: (1) ilhas e trabéculas e (2) ninhos e cordões. O padrão em ilhas foi classificado quando havia grandes agrupamentos bem delimitados de células neoplásicas. O padrão trabecular foi definido como um extenso agrupamento de células epiteliais neoplásicas que emitiam feixes em vários sentidos, unidos uns aos outros. O arranjo em ninhos foi considerado quando pequenos agregados bem delimitados de células epiteliais neoplásicas foram observados. O padrão cordonal foi considerado quando havia estruturas alongadas formando fileiras ou feixes únicos de células neoplásicas.

3.2.1.6. Invasão para tecidos adjacentes

A invasão para tecidos adjacentes foi avaliada a partir da presença de células neoplásicas individuais ou coletivas em forma de ilhas, ninhos, trabéculas ou cordões na derme superficial e profunda e/ou nos tecidos ósseo, muscular, cartilaginoso e adiposo adjacentes. Posteriormente, a invasividade dos CCEs foi classificada conforme a intensidade em discreta ou acentuada.

3.2.1.7. Êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático

A embolia vascular sanguínea e/ou linfática foi obtida a partir da avaliação minuciosa da presença de células epiteliais neoplásicas no interior de vasos sanguíneos e/ou linfáticos e foi categorizada como ausente ou presente.

3.2.1.8. Desmoplasia

A desmoplasia foi avaliada a partir da presença ou ausência evidente de tecido conjuntivo neoformado denso ou frouxo ao redor dos ninhos, ilhas, cordões ou trabéculas de células epiteliais neoplásicas.

3.2.2. AgNORs

Para a obtenção das lâminas, foram realizados cortes de 3µm, montados em lâminas histológicas e corados através da impregnação pela prata (Anexo A).

Para a quantificação das AgNORs, foi realizada a contagem direta à microscopia óptica dos grânulos argentafins no interior dos núcleos. Foram selecionados cinco campos representativos e aleatórios em aumento de 1000x, procedendo-se a contagem dos grânulos em 100 células neoplásicas (20 células cada campo). A frequência individual em cada neoplasma foi obtida dividindo-se o número total de grânulos contados por 100. A contagem foi realizada por dois observadores, em momentos distintos, sem que nenhum deles tivesse conhecimento prévio do grau histológico da amostra avaliada.

3.3. Avaliação da sobrevida

Para avaliação da sobrevida, os animais foram acompanhados através de contato telefônico com os proprietários e/ou por exames periódicos de rotina realizados no Hospital Veterinário da UFPel ou clínicas veterinárias particulares. Na ocasião, se os animais estivessem vivos, os proprietários eram interrogados em relação ao estado geral do animal e ocorrência de recidivas ou metástases e, quando mortos, procuraram-se informações em relação à data e condições do óbito (Anexo B).

De um total de 50 cães e gatos, 24 animais foram acompanhados. O período de acompanhamento dos animais foi no mínimo de 7 meses e máximo de 24 meses. Dentre os casos acompanhados, dois animais não foram computados porque a morte ocorreu por causas não relacionadas ao tumor.

Neste estudo foram estabelecidos dois grupos: (1) representado por 10 cães e 4 gatos portadores de CCEs cutâneos submetidos a procedimento cirúrgico; e (2) representado por 2 cães e 6 gatos portadores de CCEs cutâneos não submetidos a procedimento cirúrgico. Quando submetidos à terapia cirúrgica, o acompanhamento foi realizado a partir da data do procedimento cirúrgico e quando não tratados, o acompanhamento foi realizado a partir da primeira avaliação clínica (Apêndice C).

3.4. Análise estatística

Buscou-se avaliar o papel dos parâmetros histológicos como fatores prognósticos. Inicialmente eles foram confrontados entre si, ou seja: o grau histológico considerado variável dependente, sendo analisado frente aos demais parâmetros histológicos avaliados (itens 3.2.1.2 a 3.2.2). Para tal, foi utilizado o teste Qui-quadrado para as variáveis invasão e arranjo e o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis ETAT, desmoplasia, infiltrado inflamatório linfoplasmacítico, índice mitótico, AgNORs e êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático, sendo considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Posteriormente, os resultados de sobrevida foram avaliados em relação a todos os parâmetros histológicos (itens 3.2.1.1 a 3.2.2). Para estas análises, utilizou-se o teste de log-rank e os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. As curvas de sobrevida foram obtidas através das estimativas de Kaplan-Meier.

Para determinar a estimativa de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos no período de um ano, sem considerar a terapia, foi utilizada a curva de sobrevida de Kaplan-Meier. Para relacionar a sobrevida dos animais tratados e não tratados durante um período de um ano, utilizou-se o teste de log-rank e as estimativas de Kaplan-Meier para a representação das curvas de sobrevida.

4 RESULTADOS

Macroscopicamente, observaram-se lesões proliferativas com aspecto nodular (Fig. 1A) ou na forma de placas firmes e avermelhadas (Fig. 1B). Estas freqüentemente eram ulceradas e crostosas. As lesões estavam presentes em locais de pigmentação clara e pêlos esparsos tais como: prepúcio (Fig. 1A), região abdominal (Fig. 1B), ponta da orelha (Fig. 1C) e pálpebra inferior (Fig. 1D). As metástases, quando presentes, eram locais e não distantes (Fig. 1E e Fig. 1F).

4.1. Avaliação histopatológica

4.1.1. Hematoxilina-eosina (HE)

4.1.1.1. Graduação histológica

Quanto à graduação histológica, verificou-se que 30% (n=15) eram bem diferenciados, 34% (n=17) eram pouco diferenciados e 36% (n=18) eram moderadamente diferenciados (Fig. 2). Os CCEs se caracterizaram como ceratinócitos neoplásicos arranjados em trabéculas, ilhas, ninhos e cordões. Morfologicamente, as células epiteliais neoplásicas eram poliédricas, com citoplasma eosinofílico abundante, núcleos grandes, redondos ou alongados e, algumas vezes, vesiculosos. Os nucléolos eram evidentes com variações no tamanho, na forma e na quantidade e foram mais facilmente visualizados através da coloração pela prata. O pleomorfismo celular e nuclear era variável. Havia a presença de material queratinizado no interior dos agrupamentos celulares. Estes eram comumente observados em CCEs bem diferenciados na forma de pérolas (Fig. 3A) enquanto que, em CCEs pouco diferenciados, havia somente queratinização de células individuais ou mesmo ausência de queratinização (Fig. 3B). Em CCEs moderadamente diferenciados, a queratinização era menos intensa do que nos tumores bem diferenciados (Fig. 3C).



Figura 1 - Aspecto macroscópico do carcinoma de células escamosas em cães e gatos. **A)** Massa tumoral de superfície irregular contendo um nódulo firme, ulcerado e sangrante no prepúcio de um cão (seta); **B)** Lesões avermelhadas, ulceradas e crostosas em forma de placa na região cutânea abdominal de um cão (seta); **C)** Pavilhão auricular interno de um felino com lesões nodulares, crostosas e ulceradas; **D)** Nódulo ulcerado localizado na pálpebra inferior de um cão (seta); **E)** Linfadenomegalia proveniente de metástase para linfonodo inguinal em um cão com lesão primária no prepúcio; **F)** Superfície de corte branco-amarelada de nódulo metastático em linfonodo inguinal de um cão do mesmo caso da figura 5A e 5E.

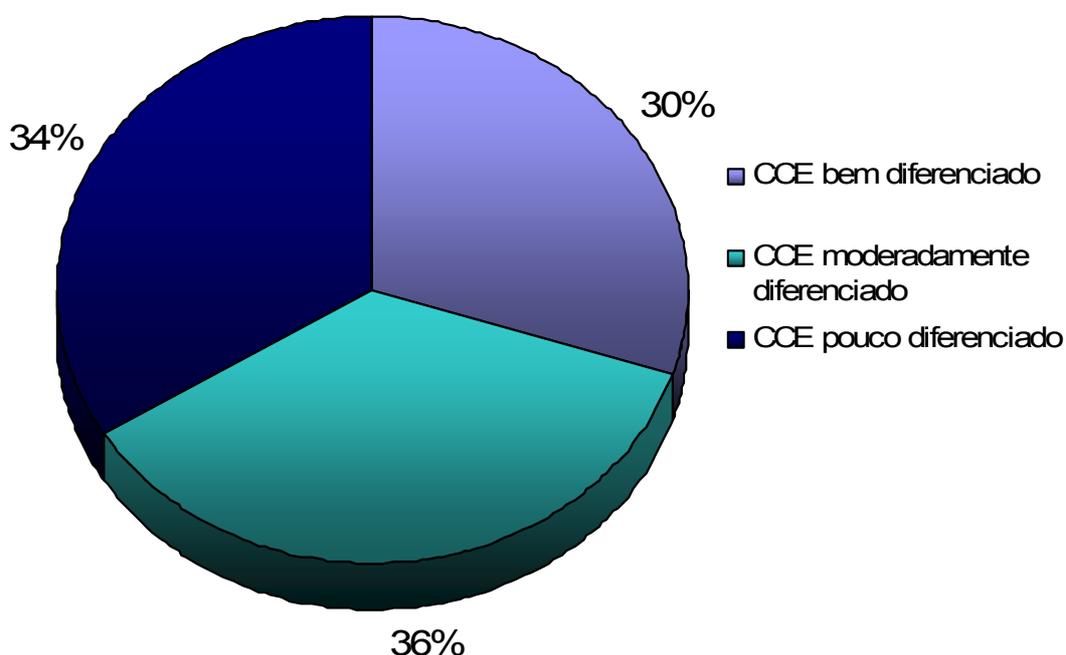


Figura 2 - Distribuição dos CCEs em cães e gatos conforme a graduação histológica.

4.1.1.2. Infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral

Do total de casos avaliados, observou-se que em 78% (39/50) havia presença de infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral (Fig. 3D) com vários graus de intensidade, distribuídos de modo similar nos diferentes subtipos. Entretanto, o infiltrado inflamatório linfoplasmacítico não apresentou diferença estatística significativa com o grau histológico ($p=0,09$).

4.1.1.3. Eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT)

Os eosinófilos foram identificados como células apresentando grânulos intracitoplasmáticos acidofílicos (Fig. 3E) visualizados através da microscopia de luz. A ETAT estava presente em apenas 22% (11/50) com variações da intensidade de leve (7/11) a moderada (4/11). A ETAT não apresentou relevância estatística significativa com o grau histológico ($p=0,05$).

4.1.1.4. Índice mitótico (IM)

As figuras de mitoses foram identificadas como estruturas com ausência de membrana nuclear e presença de cromatina condensada, estando presentes nas fases de metáfase, anáfase ou telófase (Fig. 3F). A partir da análise da contagem mitótica, verificou-se que 42% (21/50) dos CCEs apresentaram alto índice mitótico, seguido de baixo (16/50), moderado (11/50) e ausente (2/50). No entanto, a contagem mitótica não foi significativa quando relacionada com o grau histológico ($p=0,65$).

4.1.1.5. Arranjo

Quanto ao arranjo, observou-se que em 62% (31/50) dos casos o padrão predominante foi representado por grandes agrupamentos de células epiteliais neoplásicas na forma de trabéculas e ilhas (Fig. 4A) e em 38% (19/50) dos casos o padrão predominante foi representado por pequenos agrupamentos de ceratinócitos neoplásicos na forma de ninhos e cordões (Fig. 4B). Observou-se que os cortes histológicos apresentavam mais de um padrão ou arranjo. Nestes casos, levou-se em consideração o padrão predominante. O padrão histológico não apresentou diferença estatística com o grau histológico ($p=0,27$).

4.1.1.6. Invasão para tecidos adjacentes

Em relação à invasão, observou-se que em 72% (36/50) dos casos a invasão foi acentuada e em 28% (14/50) dos casos a invasão foi discreta. A presença de células neoplásicas individuais ou coletivas em forma de ilhas, ninhos, trabéculas ou cordões estava presente nos tecidos cartilaginoso (Fig. 4C), adiposo (Fig. 4D), ósseo (Fig. 4E), muscular (Fig. 4F), nervoso periférico (Fig. 5A) e na derme superficial e profunda.

A invasão, quando relacionada com o grau histológico, apresentou diferença estatística significativa para CCEs pouco diferenciados ($p=0,03$). Os tumores bem e moderadamente diferenciados também foram potencialmente invasivos, entretanto, não houve diferença estatística significativa.

4.1.1.7. Êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático

A embolia vascular sanguínea (Fig. 5B) foi observada em 6% (3/50) dos casos e a embolia vascular linfática (Fig. 5C) em 2% (1/50) dos casos. A presença de células neoplásicas no interior de vasos sanguíneos e/ou linfáticos não apresentou relação estatística significativa com o grau histológico ($p=0,94$).

4.1.1.8. Desmoplasia

A desmoplasia foi observada em 72% (36/50) dos casos de CCEs avaliados. Em tumores bem e moderadamente diferenciados, havia moderada a acentuada formação de estroma colagenoso (Fig. 5D), enquanto que a maioria dos tumores pouco diferenciados observou-se ausência de reação estromal ao redor das células epiteliais neoplásicas. Portanto, a ocorrência de reação desmoplásica foi estatisticamente significativa com o grau histológico ($p=0,0001$).

4.1.2. AgNORs

As regiões organizadoras nucleolares argirofílicas foram identificadas como grânulos pretos ou marrom-escuros presentes no interior do núcleo das células neoplásicas. Morfologicamente, as AgNORs estavam presentes como grânulos pequenos, médios ou grandes, redondos e uniformes (Fig. 5E) localizados no centro ou na periferia do núcleo. Em alguns casos, havia uma a duas AgNORs grandes, redondas e uniformes com tendência a localizar-se no centro do núcleo, acompanhadas por várias outras menores. As AgNORs pleomórficas apresentavam formas e tamanhos variados e eram distribuídas difusamente no núcleo das células (Fig. 5F). A média AgNOR/núcleo obtida no presente estudo foi 1,41 AgNOR/núcleo, apresentando uma variação de 1,00 AgNOR/núcleo (Fig. 5E) até 2,51 AgNOR/núcleo (Fig. 5F). A quantificação das AgNORs não apresentou diferença estatística significativa com o grau histológico ($p=0,18$).

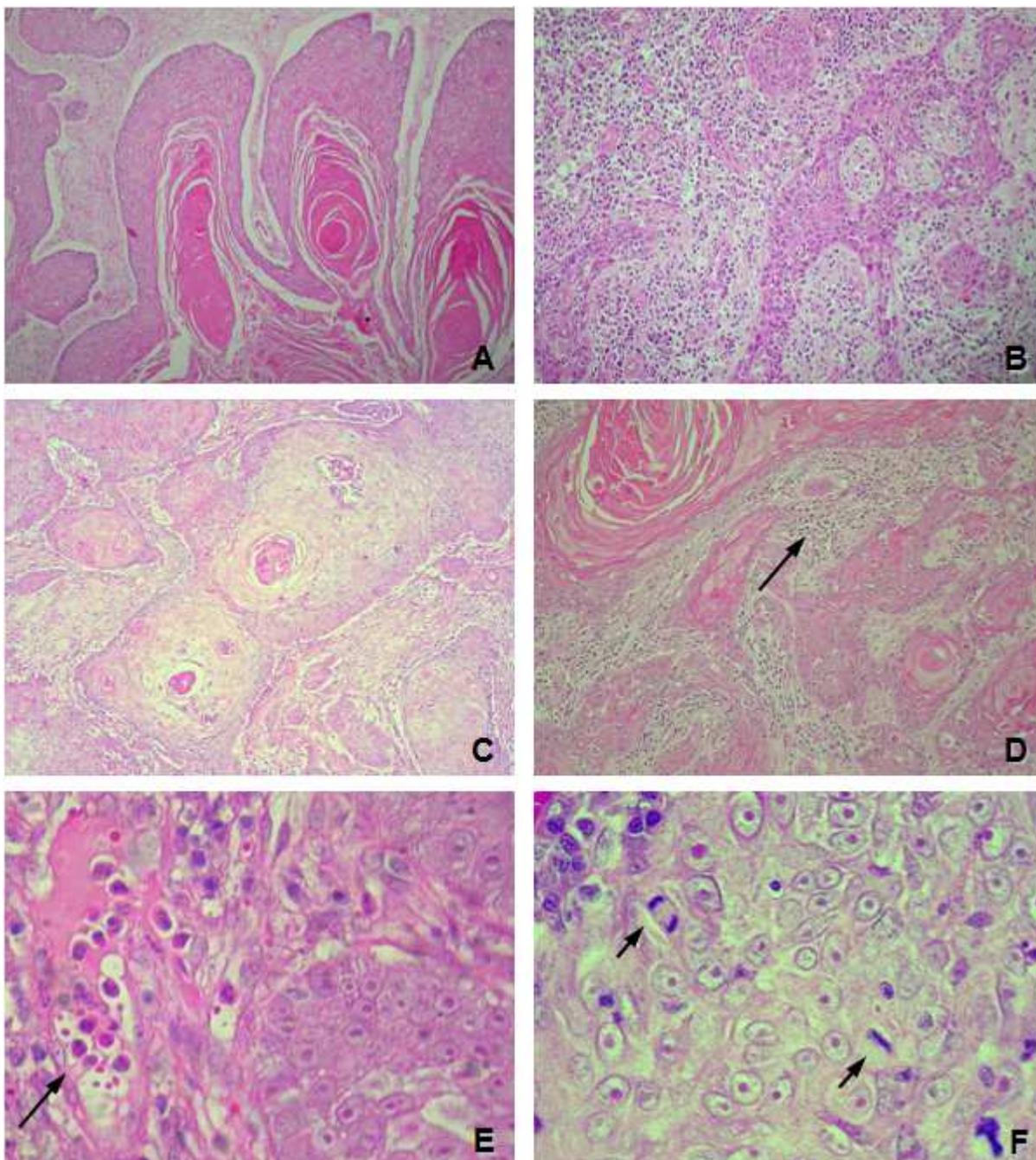


Figura 3 - Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Ilhas de células epiteliais neoplásicas e numerosas pérolas de queratina em CCE bem diferenciado; **B)** Trabéculas e ninhos de células epiteliais neoplásicas e ausência evidente de queratinização em CCE pouco diferenciado; **C)** Ilhas e ninhos de células epiteliais neoplásicas e discreta a moderada pérolas de queratina em CCE moderadamente diferenciado; **D)** Acentuado infiltrado inflamatório linfoplasmacítico (seta) ao redor de ninhos e ilhas de ceratinócitos neoplásicos em CCE bem diferenciado; **E)** Acentuado infiltrado eosinofílico (seta) circundando o epitélio neoplásico em CCE pouco diferenciado; **F)** Figuras de mitoses em anáfase (seta acima) e metáfase (seta abaixo) em CCE moderadamente diferenciado com elevado índice mitótico.

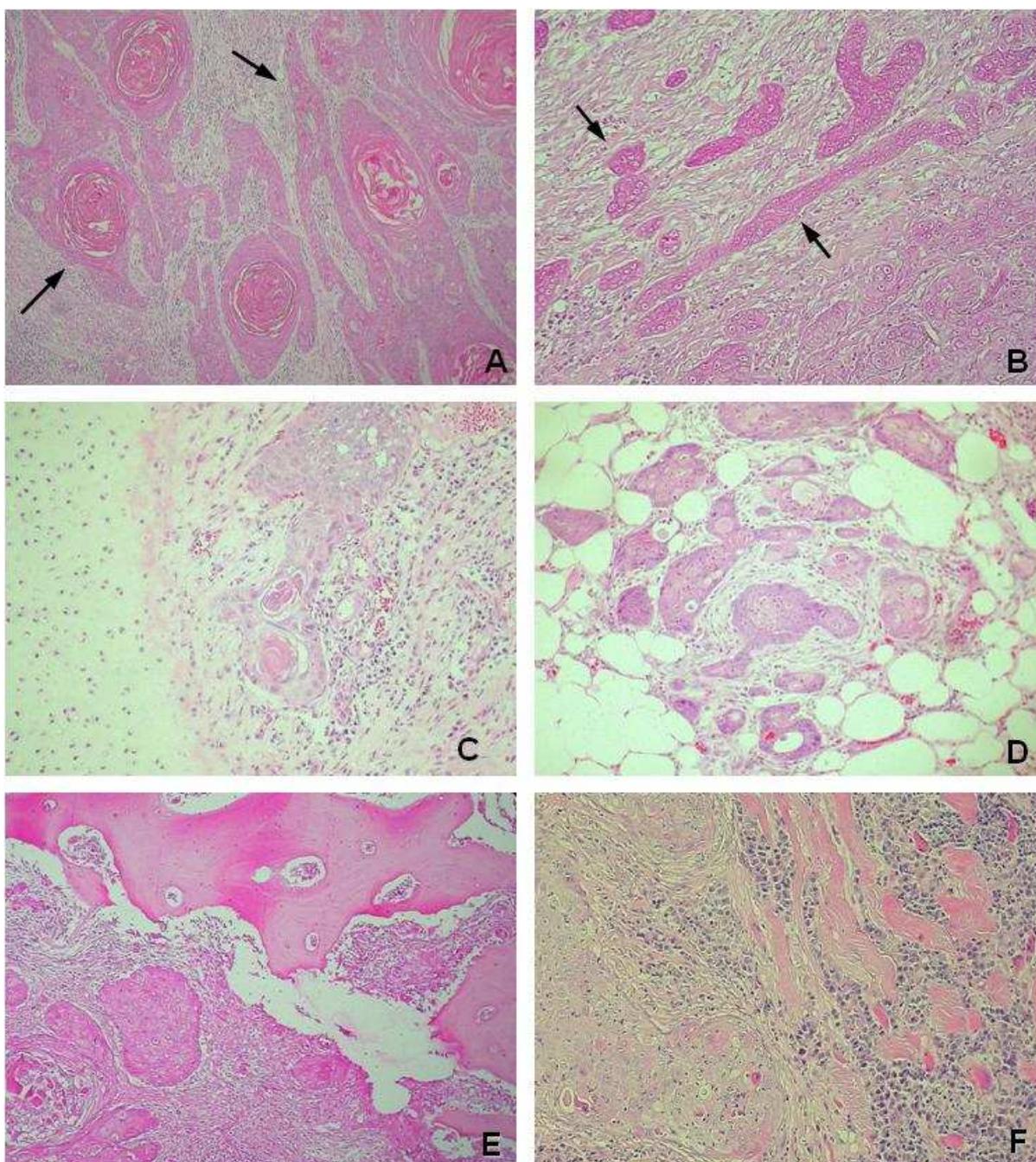


Figura 4 – Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Grandes agrupamentos de células epiteliais neoplásicas na forma de trabéculas (seta acima) e ilhas (seta abaixo) em CCE bem diferenciado; **B)** Pequenos agrupamentos de ceratinócitos neoplásicos arranjados em ninhos (seta acima) e cordões (seta abaixo) em CCE moderadamente diferenciado; **C)** Invasão para tecido cartilaginoso em CCE pouco diferenciado; **D)** Invasão para o tecido adiposo em CCE pouco diferenciado; **E)** Invasão para o tecido ósseo em CCE bem diferenciado. Observa-se a presença de ceratinócitos neoplásicos em meio à destruição óssea; **F)** Invasão para o tecido muscular em CCE pouco diferenciado. Observa-se intensa destruição muscular acompanhada por infiltrado linfoplasmacítico peritumoral.

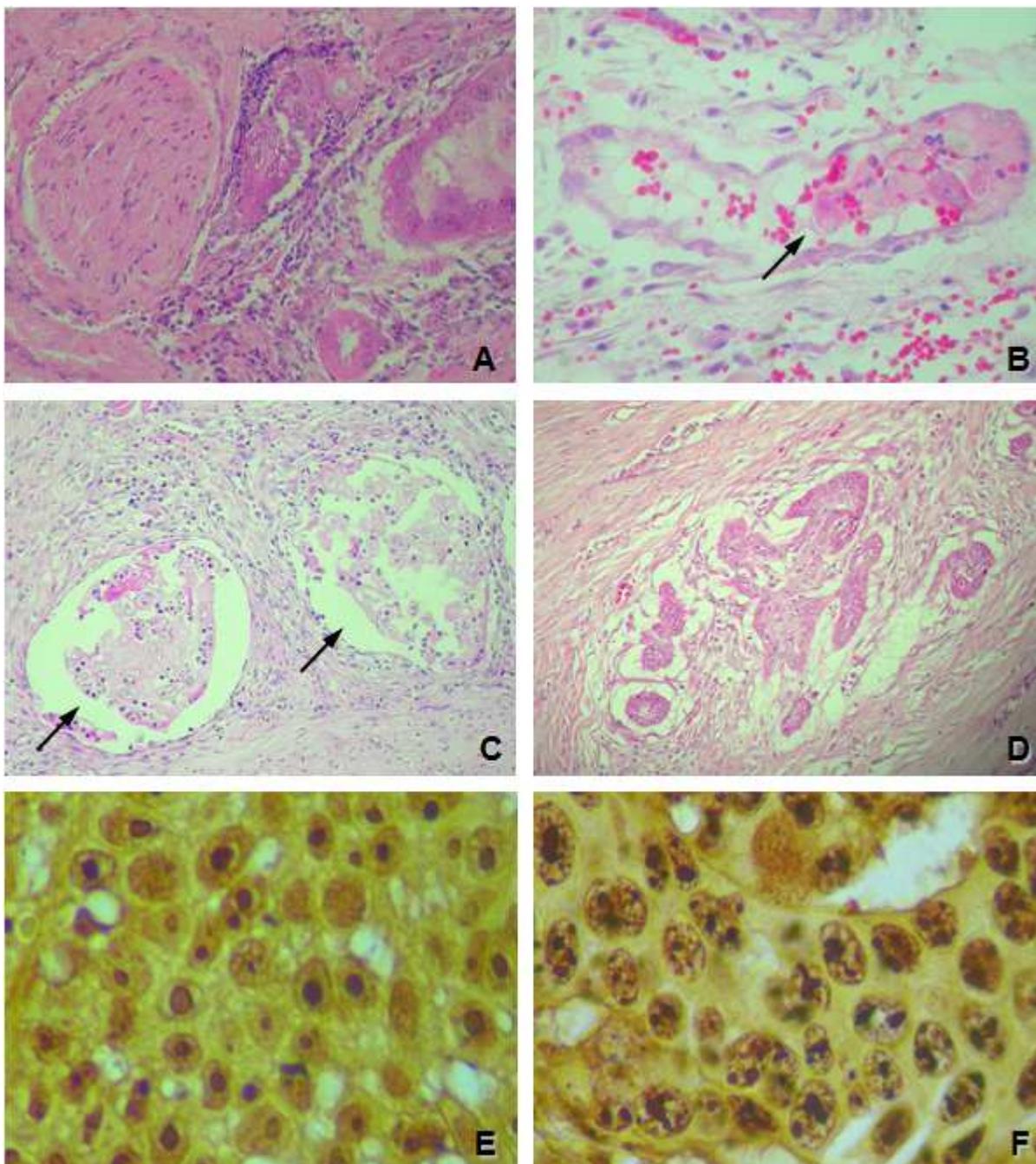


Figura 5 - Características microscópicas do carcinoma de células escamosas (CCE) em cães e gatos. Coloração HE: **A)** Invasão perineural por ninhos de ceratinócitos neoplásicos em CCE moderadamente diferenciado; **B)** Ceratinócitos neoplásicos no interior do vaso sanguíneo em CCE pouco diferenciado (seta); **C)** Êmbolos neoplásicos no interior de vasos linfáticos em CCE bem diferenciado (setas); **D)** Abundante tecido conjuntivo frouxo ao redor de ninhos de ceratinócitos neoplásicos em CCE bem diferenciado. Coloração de AgNOR: **E)** Baixa contagem AgNOR/núcleo, caracterizada por poucos pontos marrom-escuros no interior dos núcleos em CCE bem diferenciado com média de 1,00 AgNOR/núcleo; **F)** Alta contagem AgNOR/núcleo, constituída por inúmeros pontos marrom-escuros no interior do núcleo em CCE pouco diferenciado., com média de 2,51AgNOR/núcleo.

4.2. Avaliação da sobrevida

Quanto à correlação dos parâmetros histológicos com a sobrevida, somente a intensidade de invasão apresentou relação estatística significativa. ($p=0,002$). Adicionalmente, observou-se que os animais portadores de tumores menos invasivos, apresentaram uma estimativa de sobrevida de 75% em um período de um ano (Fig. 6). Os demais parâmetros histológicos avaliados como: grau histológico ($p=0,05$), infiltrado linfoplasmacítico peritumoral ($p=0,43$), ETAT ($p=0,89$), IM ($p=0,15$), arranjo ($p=0,30$), êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático ($p=0,16$), desmoplasia ($p=0,31$) e contagem de AgNORs ($p=0,93$) não foram estatisticamente significativos.

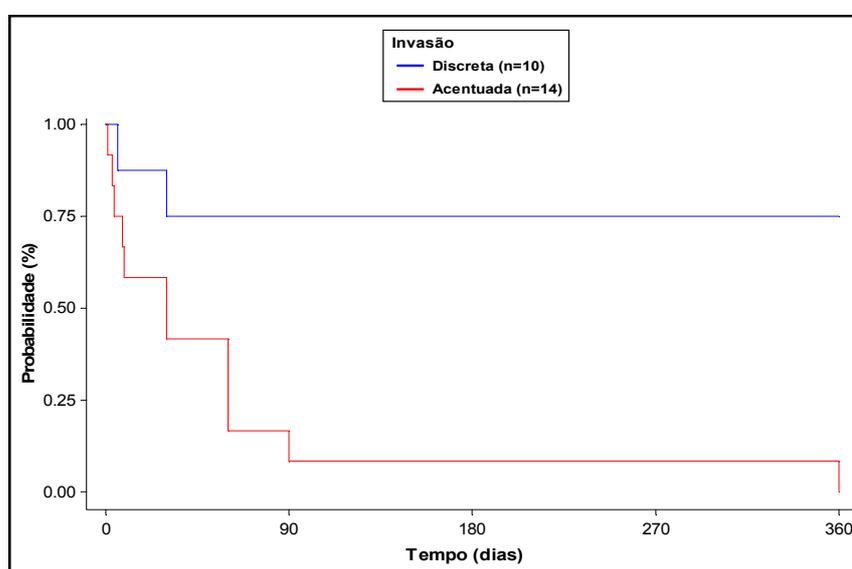


Figura 6. - Curva de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos conforme a intensidade de invasão do neoplasma. O prognóstico dos animais portadores de tumores menos invasivos foi significativamente melhor em relação aos portadores de tumores mais invasivos ($p<0,05$).

A estimativa de sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos foi 23,4% em um período de um ano. Observou-se que grande parte dos animais morreu nos primeiros noventa dias, independentemente de terem sido ou não submetidos à terapia cirúrgica (Fig. 7). Neste estudo, o óbito dos animais foi proveniente da morte natural ou eutanásia decorrente do tumor e/ou de outras complicações relacionadas à doença.

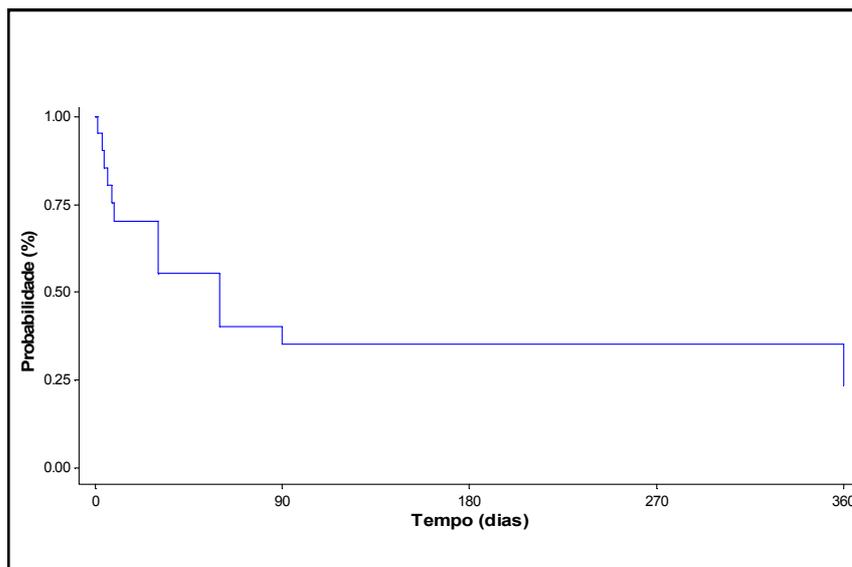


Figura 7 - Curva de sobrevivência de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos independentemente de terem ou não sido submetidos à cirurgia.

Em relação aos animais que foram submetidos à terapia cirúrgica (16/24), a estimativa de sobrevivência foi 47,1% após o período de sessenta dias e 31,4% após um ano. Observou-se que os animais que foram tratados apresentaram um maior tempo de sobrevivência, embora tenha ocorrido um maior número de mortes nos primeiros noventa dias (Fig. 8). Além disso, não houve diferença estatística significativa em relação ao tempo de sobrevivência, quando comparados animais tratados e não tratados cirurgicamente ($p=0,34$).

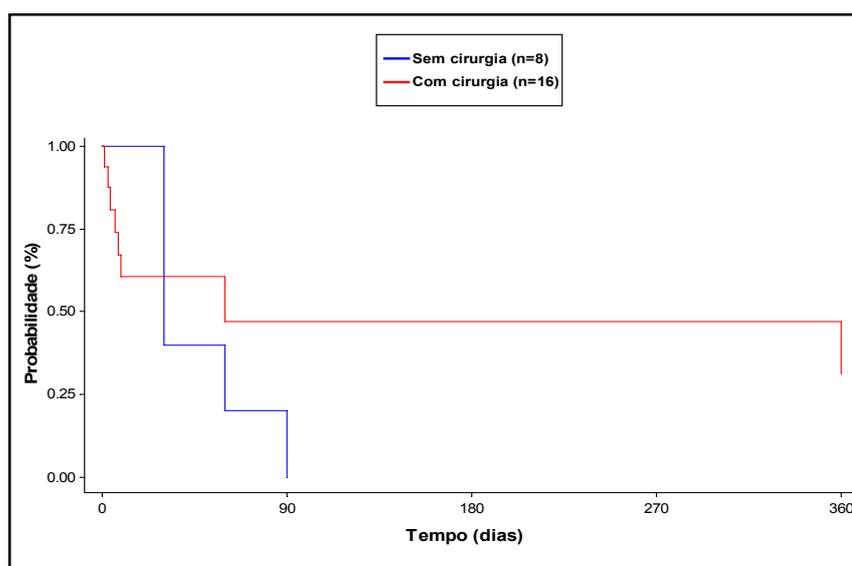


Figura 8 - Curva de sobrevivência de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos submetidos ou não à cirurgia.

5 DISCUSSÃO

A capacidade de prever o prognóstico de animais portadores de neoplasias depende da definição de fatores que influenciam o comportamento biológico tumoral. Neste estudo, utilizou-se o grau histológico e o tempo de sobrevida dos animais como critério de avaliação do prognóstico. De acordo com Benjamin, Lee e Saunders (1999), o tempo de sobrevida é considerado um critério útil para avaliação do prognóstico.

Observou-se que a graduação histológica não influenciou na sobrevida dos animais portadores de CCEs cutâneos ($p=0,05$). Estes resultados foram semelhantes aos observados por outros autores (LASCELLES et al., 2000; ROGERS; HELMAN; WALKER, 1995; THÉON et al., 1995). Contudo, Bostock (1972) demonstrou que os animais com tumores bem diferenciados apresentaram um prognóstico melhor em relação aos animais portadores de tumores pouco diferenciados. Adicionalmente, observou-se neste estudo, que os tumores moderadamente diferenciados (18/50) foram mais numerosos do que os demais tipos, não diferindo dos resultados obtidos por Théon et al. (1995). Existe uma discrepância entre autores em relação à prevalência do grau histológico. Vários autores relatam que CCEs bem diferenciados são mais frequentemente encontrados (BOSTOCK, 1986; GROSS et al., 2005; ROGERS; HELMAN; WALKER, 1995; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996). Por outro lado, em estudo realizado por Bostock (1972), os CCEs pouco diferenciados foram mais comumente observados.

A intensidade de invasão influenciou na sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos ($p<0,05$). Os animais, portadores de tumores menos invasivos, apresentaram uma estimativa de sobrevida maior em um ano quando comparados à sobrevida dos animais portadores de tumores mais invasivos. A partir destes resultados, observou-se que a intensidade de invasão foi um fator

prognóstico preditivo importante. Adicionalmente, a relação entre grau histológico e invasão foi estatisticamente significativa somente para CCEs pouco diferenciados ($p < 0,05$). No entanto, do total de CCEs avaliados, 72% (36/50) mostraram um comportamento muito invasivo. Esses resultados demonstram que a invasividade foi uma variável que não depende do grau histológico. Alguns autores tem proposto que o grau de invasão CCEs pode interferir na eficácia da terapia. Assim, animais portadores de tumores mais invasivos teriam uma chance de cura menor em relação aqueles com tumores menos invasivos (ROGERS; HELMAN; WALKER, 1995).

A contagem de mitoses tem se revelado um importante fator na avaliação prognóstica para cães portadores de mastocitomas cutâneos (ROMANSIK et al., 2007), entretanto, há poucos estudos deste fator nos CCEs de cães e gatos. A determinação da contagem mitótica como marcador de atividade proliferativa tumoral permanece controversa. Diversos estudos acreditam na confiabilidade da técnica, desde que sejam estabelecidos critérios que envolvam a escolha da área/campo e exista uma avaliação criteriosa para identificar as figuras de mitose no corte histológico (CLAYTON, 1991). Neste estudo, apesar de 42% (21/50) dos casos apresentarem contagem mitótica elevada, não houve relação estatística significativa com a sobrevida e com o grau histológico. Os resultados obtidos foram semelhantes aos relatados nos poucos estudos na literatura veterinária (LASCELLES et al., 2000; ROGERS; HELMAN; WALKER, 1995).

Quanto à eosinofilia tecidual associada a tumores, não houve diferença estatística significativa na relação com a sobrevida e o grau histológico. Na literatura atualmente disponível, não há relatos da importância da ETAT como ferramenta prognóstica em CCEs cutâneos em cães e gatos. Em um estudo com CCEs no trato alimentar superior de bovinos, o ETAT não apresentou correlação estatística significativa quando comparada com o grau histológico e a presença de metástases (MASUDA, 2007). Dorta (2000) relata que o mecanismo de atração dos eosinófilos e o seu papel nos tumores ainda não foram definidos, sendo associado com um prognóstico tanto favorável como desfavorável, ou mesmo não apresentando qualquer relação com a evolução dos pacientes. Martinelli-Klay, Mendis e Lombardi (2009), acreditam que mais estudos são necessários para esclarecer esses achados. O presente trabalho corrobora com estes autores.

A presença de infiltrado inflamatório linfoplasmacítico peritumoral tem sido considerada uma característica da resposta imunológica do hospedeiro (KUSEWITT; RUSH, 2009). Morita et al. (2001), sugerem que o infiltrado possa ser eventualmente um fator prognóstico preditivo em neoplasias esofágicas em humanos. Perez et al., (1999a), em estudo dirigido a CCEs em gatos, utilizando técnicas de imunomarcção para linfócitos e plasmócitos, determinaram que a presença de acentuado infiltrado inflamatório linfoplasmacítico foi associada à CCEs bem diferenciados e pouco invasivos. No presente trabalho, 78% (39/50) dos CCEs apresentaram infiltrado inflamatório linfoplasmacítico em vários graus de intensidade, distribuídos de modo similar nos diferentes subtipos histológicos. No entanto, não foi observada relação estatística significativa com o grau histológico ($p=0,09$) e com a sobrevida ($p=0,43$).

Autores relatam que tumores pouco diferenciados apresentam um padrão constituído principalmente por ninhos e cordões ao invés de ilhas e trabéculas (GROSS et al., 2005). Em humanos, a presença de pequenos ninhos e cordões foi considerada um fator prognóstico preditivo para metástases em CCEs cutâneos (CHERPELIS; MARCUSEN; LANG, 2002). No presente estudo, o arranjo não influenciou a relação com a sobrevida ($p=0,30$) e o grau histológico ($p=0,27$). Na maioria das amostras avaliadas, observou-se a presença de mais de um padrão histológico e por isso, houve dificuldade em determinar um padrão único para os CCEs cutâneos. Para a avaliação considerou-se o arranjo predominante. Ressalta-se a importância da busca de novos métodos de avaliação histológica que contribuam para uma melhor determinação do padrão e para a identificação de células individuais no estroma tumoral. O mesmo é referendado por Masuda (2007).

No presente estudo, a contagem das AgNORs/núcleo não representou valor prognóstico significativo. Na literatura atual, poucos são os trabalhos que quantificam as AgNORs de CCEs cutâneos em cães e gatos, o que dificulta a discussão dos resultados obtidos. Giraldo et al. (2003), utilizando a contagem das AgNORs em CCEs cutâneos em cães, não confrontaram os seus resultados com o grau de diferenciação histológica, pois o tamanho da amostra foi insuficiente para a análise. Adicionalmente, observaram que a média AgNORs/núcleo observada foi 3,95 enquanto que outros autores encontraram 1,7 a 4,0, dependendo do grau histológico (GIRALDO et al., 2003). A média de AgNORs/núcleo observada neste estudo foi 1,41. Apesar da contagem de AgNORs/núcleo não ter demonstrado

resultados significativos para os CCEs, a técnica tem sido utilizada como método auxiliar no diagnóstico e como fator prognóstico em uma variedade de tumores cutâneos e mamários (GUIM, 2007; GIRALDO et al., 2003; MENDES, 2006; SPADER, 2009).

A reação desmoplásica tem sido considerada um fator indicativo de progressão e invasão neoplásica (PETTER; HAUSTEIN, 2000). Em humanos, uma variante histológica conhecida como CCE desmoplásico, mostrou ser potencialmente mais maligno do que os típicos CCEs invasivos. Os CCEs desmoplásicos não estão inseridos no sistema de classificação histológica de tumores dos animais domésticos, entretanto, a invasão de células tumorais é usualmente associada à desmoplasia marcada (GINN; MENSETT; RUKICH, 2007). No presente estudo, a desmoplasia foi estatisticamente significativa quando comparada com o grau histológico ($p < 0,05$). Os CCEs bem diferenciados apresentaram marcada desmoplasia em relação aos CCEs pouco diferenciados. Os resultados foram similares aos citados por Gross et al. (2005), que menciona que tumores bem diferenciados apresentam moderada a abundante desmoplasia, enquanto que os tumores pouco diferenciados, e mais invasivos, apresentam menor quantidade de colágeno estromal. A desmoplasia e os efeitos exercidos sobre o crescimento tumoral ainda são desconhecidos. Assim, tanto a presença como a ausência de desmoplasia podem estar associadas com a invasão e progressão tumoral (BARSKY; GOPALAKRISHNA, 1987; GINN; MENSETT; RUKICH, 2007).

Quanto à sobrevida de cães e gatos portadores de CCEs cutâneos incluídos neste estudo, submetidos ou não a cirurgia, a estimativa de sobrevida foi de 23,4% em um ano. O tempo médio de sobrevida pós cirúrgica foi 4,6 meses e para os animais não tratados foi de um mês. Lascelles et al. (2000) relatam que a média de sobrevida pós cirúrgica em cães portadores de CCE do plano nasal foi 3,1 meses, enquanto que para Rogers, Helman e Walker (1995), a média de sobrevida, para animais com e sem tratamento, foi de 5,4 meses.

A terapia cirúrgica inadequada sem a remoção de amplas margens cirúrgicas pode estar relacionada com a sobrevida dos pacientes. Embora neste estudo tenha se verificado um tempo de sobrevida maior em animais tratados cirurgicamente, houve um grande número de mortes nos primeiros noventa dias após o procedimento. Além disso, não houve diferença estatística significativa em relação ao tempo de sobrevida, quando comparados animais tratados e não tratados

cirurgicamente ($p > 0,05$). Esses achados sugerem que houve uma possível falha no tratamento, decorrente de uma remoção cirúrgica inadequada, resultando em recidiva local e/ou complicações relacionadas à doença. Rowe, Carroll e Day (1992), consideram que o tratamento prévio inadequado é um fator prognóstico preditivo para recidivas e metástases em CCEs cutâneos em humanos. Estudos adicionais com avaliação das margens cirúrgicas são necessários para estabelecer o tratamento prévio inadequado como um fator prognóstico em CCEs cutâneos de cães e gatos.

6 CONCLUSÕES

1) A intensidade de invasão é uma ferramenta prognóstica preditiva importante para o comportamento biológico dos CCEs cutâneos em cães e gatos.

2) O infiltrado linfoplasmacítico peritumoral, a eosinofilia tecidual associada a tumores, o índice mitótico, o arranjo, o êmbolo vascular sanguíneo e/ou linfático, a desmoplasia e a quantificação das AgNORs não são fatores prognósticos preditivos.

3) O prognóstico dos animais portadores de CCEs cutâneos foi desfavorável, devido ao curto tempo e a baixa estimativa de sobrevida, independentemente de terem sido tratados ou não.

Referências

- ACKERMANN, M.R. Inflamação crônica e cicatrização de feridas. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p.153-191.
- ALAM, M.; RATNER, D. Cutaneous squamous cell carcinoma. **The New England Journal of Medicine**. v.344, p.975-983, 2001.
- BARSKY, S. H.; GOPALAKRISHNA, R. Increased invasion and spontaneous metastasis of BL6 melanoma with inhibition of the desmoplastic response in C57 BL/6 mice. **Cancer Research**. v. 47, p.1663-1667, 1987.
- BARSKY, S.H.; GROTENDORST, G.R.; LIOTTA, L.A. Increased content of type v collagen in desmoplasia of human breast carcinoma. **American Association of Pathologists**. v.108, p.276-283, 1982.
- BENJAMIN, S.A.; LEE, A.C.; SAUNDERS, W.J. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles. **Veterinary Pathology**. v.36, p.423-436, 1999.
- BIESTERFELD, S.; REITMAIER, M. Re-evaluation of prognostic mitotic figure counting in breast cancer: results of a prospective clinical follow-up study. **Anticancer Research**. v.21, p.589-594, 2001.
- BOSTOCK, D.E. The prognosis in cats bearing squamous cell carcinoma. **Journal of Small Animal Practice**. v.13, p.119-125, 1972.
- BOSTOCK, D.E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dog and cats. **British Veterinary Journal**. v.142, p.1-19, 1986.
- CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas - revisão. **Clínica Veterinária**, n.61, p.56-64, 2006.
- CHERPELIS, B.S.; MARCUSEN, C.; LANG, P.G. Prognostic factors for metastasis in squamous cell carcinoma of the skin. **Dermatologic Surgery**. v.28, p.268-273, 2002.
- CLAYTON, F. Pathologic correlates of survival in 378 lymph node-negative infiltrating ductal breast carcinomas: mitotic count is the best single predictor. **Cancer**. v.168, p.1309-1317, 1991.
- CLEMENTE, C.G.; MIHM, M.C.; BUFALINO, R.; ZURRIDA, S.; COLLINI, P.; CASCINELLI, N. Prognostic value of tumor Infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. **American Cancer Society**, v.77, p.1303-1310, 1996.

COSTA, A.L.L.; ARAUJO, N.S.; PINTO JR, D.S.; ARAUJO, V.C. PCNA/AgNOR and Ki-67/ AgNOR double staining in oral squamous cell carcinoma. **Journal Oral Pathology Medicine**, v.28, p.438-441, 1999.

COUSSENS, L.M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**. v.420, p.860-867, 2002.

CULLEN, J.M.; PAGE, R.; MISDORP, W. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In: MEUTEN, D.J. **Tumours in domestic animals**. 4th ed. Ames: Iowa State Press, 2002.p.3-44.

DERENZINI, M. The AgNORs. **Micron**, v.31, p.117-120, 2000.

DESTEXHE; E.; VANMANSHOVEN; P.; COIGNOUL, F. Comparison of argiophilic nucleolar organizer regions by counting and image analysis in canine mammary tumors. **American Journal of Veterinary Research**. v.56, p.185-187, 1995.

DIAS, M.F. **Estudo da aplicabilidade de critérios morfológicos e morfométricos para a graduação de mastocitomas caninos**. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal)-Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DORTA, R.G. **Eosinofilia tecidual como fator prognóstico em carcinomas espinocelulares de boca**. 2000. 110p. Dissertação (Mestrado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

FERREIRA, I.; RAHAL, S.C.; FERREIRA, J.; CORRÊA, T.P. Terapêutica no carcinoma de células escamosas cutâneos em gatos. **Ciência Rural**. v.36, p.1027-1033, 2006.

FRIXEN, U.H.; BEHRENS, J.; SACHS, M.; EBERLE, G.; VOSS, B.; WARDA, A.; LTEHNER, D.; BIRCLUNEIER, W. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. **The Journal of Cell Biology**. v.113, p.173-185, 1991.

GHIABI, M.; GALLAGHER, G.T.; WONG, D.T. Eosinophils, tissue eosinophilia, and eosinophil-derived transforming growth factor alpha in hamster oral carcinogenesis. **Cancer Research**. v.52, p.389-393, 1992.

GINN, P.E.; MENSETT, J.E. K. L.; RUKICH, P.M. Skin and Appendages. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N.; MAXIE, M.G. **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals**. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007.p.746-780.

GIRALDO, G.E.; ARANZAZU, D.A.; RODRIGUEZ, B.J.; PÉREZ, M.M.; RAMÍREZ, M.C. Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares coloreadas com plata (AgNORs) en tumores cutâneos caninos. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.16, p.132-138, 2003.

GOLDSCHIMIDT, M.H.; DUSTAN, R.W.; STANNARD, A.A.; TSCHARNER, C.; WALDER, E.J.; YAGER, J.A. Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of the skin of domestic animals. 2th ed. Washington: **Armed Forces Institute of Pathology**, 1998, 101p.

GOLDSCHIMIDT, M.H.; HENDRICK, M.J. Tumors of the skin and soft tissues. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 4th ed. Ames: Iowa State Press, 2002. p.44-117.

GROSS, T.L.; IHRKE, P.J.; WALDER, E.J.; AFFOLTER, V.K. **Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis**. 2th ed. Oxford: Blackwell Science, 2005. p.560-603.

GUEDES, A.G.P.; SHMITT, I.; PIPPI, N.L. Dermatite solar felina associada a carcinoma epidermóide. **Ciência Rural**. v.28, p.707-713, 1998.

GUIM, T.N. **Estudo dos critérios para classificação histológica, avaliação da sobrevida e quantificação das AgNORs em tumores mistos mamários caninos**. 2007. 90f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

HELLMÉN, E.; BERGSTRÖN, R.; HOLMBERG, L.; SPANBERG, I.B.; HANSSON, K. LINDGREN, A. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. **Veterinary Pathology**, v.30, p.20-27, 1993.

ISHIHARA, A.; YOSHIDA, T.; TAMAKI, H.; SAKAKURA, T. Tenascin expression in cancer cells and stroma of human breast cancer and its prognostic significance. **Clinical Cancer Research**. v. 1, p.1035-1041, 1995.

JOHNSON, W.C.; HELWING, E.B. Adenoid squamous cell carcinoma (adenocanthoma): a clinicopathologic study of 155 patients. **Cancer**. v.19, p.1639-1650, 1966.

KANE, C.L.; KEEHN, C.A.; SMITHBERGER, E.; GLASS, L.F. Histopathology of cutaneous squamous cell carcinoma and its variants. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**. v.23, p.54-61, 2004.

KHANNA, M.; FORTIER-RIBERDY, G.; SMOLLER, B.; DINEHART, S.; Reporting tumor thickness for cutaneous squamous cell carcinoma. **Journal of Cutaneous Pathology**. v.29, p.321-323, 2002.

KUNTZ, C.A.; DERNELL, W.S.; POWERS, B.E.; DEVITT, C.; STRAW, R.C.; WITHROW, S.J. Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986–1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.211, p.1147-1151, 1997.

KURAHARA, S.; SHINOHARA, M.; IKEBE, T.; NAKAMURA, S.; BEPPU, M.; HIRAKI, A.; TAKEUCHI, H.; SHIRASUNA, K. Expression of MMPs, MT-MMP, and TIMPs in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlations with tumor invasion and metastasis. **Head & Neck**. v.21, p.627-638, 1999.

KUSEWITT, D.F.; RUSH, L.J. Neoplasia e biologia tumoral. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p.253-298.

LASCELLES, B.D.X.; PARRY, A.T., STIDWORTHY, M.F.; DOBSON, J.M.; WHITE, R.A.S. Squamous cell carcinoma of the nasal planum in 17 dogs. **Veterinary Record**. v.147, p.473-476, 2000.

LIM, J.; DO, M.; KIM, S.; HAHM, J.; WHANG, K. A Case of Acantholytic Squamous Cell Carcinoma. **Annals of Dermatology**. v.20, p.267-270, 2008.

LÖHR, C.V.; TEIFKE, J.P.; FAILING, K.; WEISS, E. Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. **Veterinary Pathology**, v.34, p.212-221, 1997.

MARTINELLI-KLAY, C.P.; MENDIS, B. R. R. N.; LOMBARDI, T. Eosinophils and oral squamous cell carcinoma: a short review. **Journal of Oncology**. p.1-6, 2009.

MASUDA, E.K. **Morfologia, proliferação celular e imunoistoquímica de carcinoma de células escamosas do trato alimentar superior de bovinos associados ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*)**. 2007. 126f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.

MATOS, A.J.F.; LOPES, C.; CARVALHEIRA, J.; SANTOS, M.; RUTTEMAN, G.R.; GARTNER, F. E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables. **Journal of Comparative Pathology**. v.134, p.134-189, 2006.

MENDES, T.C. **Avaliação comparativa de dois sistemas de classificação histológica e da validade da quantificação da AgNOR para adenomas e carcinomas mamários caninos**. 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MORITA, M.; KUWANO, H.; ARAKI, K.; EGASHIRA, A.; KAWAGUCHI, H.; SAEKI, H.; KITAMURA, K.; OHNO, S.; SUGIMACHI, K. Prognostic significance of lymphocyte infiltration following preoperative chemoradiotherapy and hyperthermia for esophageal cancer. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v.49, p.1259-1266, 2001.

NELSON, A.R.; FINGLETON, B.; ROTHENBERG, M.L.; MATRISIAN, L.M. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. **Journal of Clinical Oncology**. v.18, p.1135-1149, 2000.

ONO, Y.; FUJII, M.; KAMEYAMA, K.; OTANI, Y.; SAKURAI, Y.; KANZAKI, J. Expression of matrix metalloproteinase-1 mRNA related to eosinophilia and interleukin-5 gene expression in head and neck tumor tissue. **Virchows Archives**. v.431, p.305-310, 1997.

- PÉREZ, J.; DAY, M.J.; MARTÍN, M.P.; GONZÁLEZ, S.; MOZOS, E. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with feline cutaneous squamous cell carcinomas and precancerous lesions (actinic keratosis). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.69, p.33-46, 1999.
- PÉREZ, J.; MÉNDES, A.; CHACÓN-M. DE LARA, F.; MARTÍN, M.P.; MOZOS, E. Ovine squamous cell carcinoma: immunocharacterisation of neoplastic cells and peritumoural cellular infiltrate. **Research in Veterinary Science**, v.63, p.43-47, 1997.
- PÉREZ, J.; MOZOS, E.; MARTÍN, M.P.; DAY, M.J. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with equine squamous cell carcinoma. **Journal of Comparative Pathology**, v.121, p.385-397, 1999.
- PETTER, G.; HAUSTEIN, U. Histologic subtyping and malignancy assessment of cutaneous squamous cell carcinoma. **Dermatologic Surgery**. v.26, p.521-530, 2000.
- PULLEY, L.T.; STANNARD, A.A. Tumours of the skin and soft tissues. In: MOULTON, J.E. **Tumours in Domestic Animals**. Berkeley: California Press, 1990. p.23-87.
- ROGERS, K.S.; HELMAN, R.G.; WALKER, M.A. Squamous cell carcinoma of the canine nasal planum: eight cases (1988-1994). **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.31, p.377-378, 1995.
- ROMANSIK, E. M.; REILLY, C. M.; KASS, P. H.; MOORE, P. F.; LONDON, C. A. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. **Veterinary Pathology**. v.44, p.335-341, 2007.
- ROPPONEN, K.M.; ESKELINEN, M.J.; LIPPONEN, P.K.; ALHAVA, E.; KOSMA, V.M. Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (tils) in colorectal cancer. **Journal of Pathology**, v.182, p.318-324, 1997.
- 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: implications for treatment modality selection. **Journal of the American Academy Dermatology**. v.26, p.976-990, 1992.
- SADANAGA, N.; KUWANO, H.; WATANABE, M.; MAEKAWA, S.; MORI, M.; SUGIMACHI, K. Local immune response to tumor invasion in esophageal squamous cell carcinoma. **Cancer**, v.74, p.586-591, 1994.
- SAID, M.; WISEMAN, S.; YANG, J.; ALRAWI, S.; DOUGLAS, W.; CHENEY, R.; HICKS, W.; RIGUAL, N.; LOREE, T.; SPIEGEL, G.; TAN, D. Tissue eosinophilia: a morphologic marker for assessing stromal invasion in laryngeal squamous neoplasms. **BMC Clinical Pathology**. v.5, p.1-8, 2005.
- SARLI, G.; BENAZZI, C.; PREZIOSI, R.; DALLA SALDA, L.; BETTINI, G.; MARCATO, P.S. Evaluating mitotic activity in canine and feline solid tumors: standardizing the parameter. **Biotechnic & Histochemistry**. v.74, p.64-76, 1998.

SCHUH, J.C.L. Squamous cell carcinoma of the oral, pharyngeal and nasal mucosa in the horse. **Veterinary Pathology**. v.23, p.205-207, 1986.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Tumores neoplásicos e não neoplásicos. **Dermatologia de Pequenos Animais**. 5th ed. Rio de Janeiro: Interlivros; p.935-940, 1996.

SOUSA, S.R.P.; BORGES, J.C.A.; PAULO, P.A.F.; JUNIOR, R.F.A. Uma perspectiva mundial do carcinoma de células escamosas de pele. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v.8, p.91-97, 2009.

SOUZA, T.M.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Ciência Rural**. v.36, p.555-560, 2006.

SPADER, M. **Estudo epidemiológico, classificação histológica e fatores prognósticos pela técnica de quantificação das AgNORs em tumores mamários felinos**. 2009. 57f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

STAHLE-BACKDAHL, M.; PARKS, W.C. 92-kd gelatinase is actively expressed by eosinophils and stored by neutrophils in squamous cell carcinoma. **American Journal of Pathology**. v.142, p.995-1000, 1993.

STEEG, P.S. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. **Nature Medicine**. v.12, p.895-904, 2006.

SUSANECK, S.J. Feline skin tumors. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. v.5, p.251-259, 1983.

TEPPER, R.; COFFMAN, R.L.; LEDER, P. An eosinophil dependent mechanism for the antitumor effect of interleukin-4. **Science**. v.257, p.548-551, 1992.

THÉON, A.P.; MADEWELL, B.R.; SHEARN, V.I.; MOULTON, J.E. Prognostic factors associated with radiotherapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.206, p.991-996, 1995.

TRERÈ, D. AgNOR staining and quantification. **Micron**, v.31, p.127-131, 2000.

VAIL, D.M.; WITHROW S.J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: WITHROW S.J., VAIL D.M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. St Louis: Saunders, 2007, p. 375-397.

VOLANTE, M.; CAVALLO, G.P.; PAPOTTI, M. Prognostic factors of clinical interest in poorly differentiated carcinomas of the thyroid. **Endocrine Pathology**. v.15, p.313-317, 2004.

WEBSTER, J. D.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; MILLER, R.A.; KANEENE, J.B.; KIUPEL, M. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations

with c-kit and its role in prognostication. **Veterinary Pathology**. v.44, p.298-308, 2007.

Apêndices

Apêndice A – Ficha dos parâmetros histomorfológicos avaliados para carcinoma de células escamosas



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
Departamento de Patologia Animal/LRD
ONCOVET- UFPel



Avaliação da sobrevida e de marcadores histomorfológicos como potenciais fatores prognósticos para carcinoma de células escamosas em cães e gatos

Ficha LRD: _____

1 AVALIAÇÃO HISTOMORFOLÓGICA

1.1. GRAU HISTOLÓGICO

- CCE bem diferenciado
 CCE moderadamente diferenciado
 CCE pouco diferenciado

1.2. INFILTRADO LINFOPLASMÁCÍTICO PERITUMORAL

- ausência
 leve
 moderado
 acentuado

1.3. EOSINOFILIA TECIDUAL ASSOCIADO A TUMORES (ETAT)

- ausência
 leve
 moderado
 acentuado

1.4. MITOSES: Escores (0-3):

1.4.3 Índice mitótico:

campo 1: _____ campo 2: _____ campo 3: _____ campo 4: _____ campo 5: _____ média: _____

- ausência de mitoses/campo
 uma a duas figuras de mitose/campo
 três a quatro figuras de mitose/campo
 cinco ou mais figuras de mitose/campo

1.5. ARRANJO

- ninhos ilhas cordões trabéculas

1.6. INVASÃO PARA TECIDOS ADJACENTES

- discreta acentuada

1.7. ÊMBOLO VASCULAR SANGUÍNEO OU LINFÁTICO:

- ausente presente

1.8. REAÇÃO DESMOPLÁSICA PERITUMORAL

- ausente presente

Observação:

Apêndice B – Tabela das características histológicas (HE) e contagem das AgNOR/núcleo individuais das amostras avaliadas neste estudo.

LRD	GRAU	MITOSES	ARRANJO	INVASÃO	INFILTRADO	DESMOPLASIA	ÊMBOLIA	EOSINOFILIA	AgNORs
216	MD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	leve	ausente	ausente	ausente	1,26
421	MD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	ausente	presente	ausente	ausente	1,05
438	BD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,12
2393	BD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,21
2739	MD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	moderado	presente	ausente	ausente	1,87
3757	BD	ausente	ninho/ cordão	discreta	ausente	presente	ausente	ausente	1,46
3931	PD	leve	ninho/ cordão	acentuada	ausente	presente	ausente	ausente	1,19
4077	MD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	leve	presente	ausente	ausente	1,09
4250	PD	moderado	ninho/ cordão	discreta	acentuado	ausente	ausente	ausente	1,14
4468	PD	acentuado	ninho/ cordão	acentuada	acentuado	presente	ausente	presente	1,04
4508	BD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	presente	presente	1,12
4772	BD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	ausente	presente	ausente	ausente	1,55
5014	BD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	presente	ausente	ausente	2,12
5033	BD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	presente	ausente	ausente	1,19
5111	PD	leve	ninho/ cordão	acentuada	ausente	ausente	ausente	ausente	1,02
5243	PD	acentuado	ninho/ cordão	acentuada	acentuado	presente	ausente	presente	1,07
5307	PD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	ausente	ausente	presente	1,15
5313	PD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	ausente	ausente	ausente	1,09
5649	BD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	ausente	presente	ausente	ausente	1,00
6071	MD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	presente	ausente	ausente	1,08
6346	BD	leve	ilha/ trabécula	discreta	ausente	presente	ausente	presente	2,48
6404	PD	acentuado	ninho/ cordão	acentuada	leve	presente	presente	ausente	1,07
6499	MD	acentuado	ninho/ cordão	acentuada	moderado	presente	ausente	ausente	1,71
6658	MD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	ausente	ausente	ausente	ausente	1,61
6727	BD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	leve	presente	presente	ausente	1,93
6732	BD	moderado	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,15
6734	MD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	moderado	ausente	ausente	ausente	1,06
7116	PD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	leve	presente	ausente	presente	1,08
7132	BD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	moderado	presente	ausente	ausente	2,42
7172	MD	leve	ilha/ trabécula	discreta	moderado	presente	ausente	ausente	1,75
7581	PD	leve	ilha/ trabécula	discreta	moderado	ausente	ausente	ausente	1,17
7818	PD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	leve	ausente	ausente	presente	2,51
7855	MD	moderado	ninho/ cordão	acentuada	moderado	presente	ausente	ausente	1,75
7903	PD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	moderado	ausente	ausente	presente	1,13
8050	MD	moderado	ilha/ trabécula	discreta	ausente	presente	ausente	ausente	1,51
8073	BD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,07
8259	MD	acentuado	ninho/ cordão	discreta	moderado	presente	ausente	ausente	1,80
8350	PD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	moderado	ausente	ausente	ausente	1,81
8413	PD	leve	ninho/ cordão	acentuada	acentuado	ausente	ausente	presente	1,12
8438	MD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	leve	ausente	ausente	ausente	1,18
8538	MD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	ausente	presente	ausente	presente	1,50
8573	MD	leve	ninho/ cordão	acentuada	acentuado	presente	ausente	ausente	1,17
8738	MD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	moderado	presente	ausente	ausente	1,81
8839	PD	moderado	ilha/ trabécula	acentuada	moderado	ausente	ausente	ausente	1,19
8886	PD	leve	ilha/ trabécula	acentuada	acentuado	presente	ausente	presente	1,17
8978	MD	moderado	ilha/ trabécula	discreta	ausente	presente	ausente	ausente	1,59
9060	MD	acentuado	ilha/ trabécula	discreta	acentuado	presente	ausente	ausente	1,35
8990	PD	acentuado	ilha/ trabécula	acentuada	leve	presente	presente	ausente	1,64
9000	BD	acentuado	ninho/ cordão	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,48
9074	BD	leve	ninho/ cordão	acentuada	leve	presente	ausente	ausente	1,50

* BD= bem diferenciado; MD= moderadamente diferenciado; PD= pouco diferenciado.

Apêndice C – Tabela do tempo de sobrevivência após cirurgia ou consulta dos animais acompanhados neste estudo.

Anexos

Anexo A - Método de AgNOR

Soluções:

Nitrato de prata 50%

Nitrato de prata....50 g

Água deionizada..100 ml

Solução de gelatina

Gelatina.....2 g

Ácido fórmico.....1 ml

Água deionizada.....100 ml

Misturar primeiro o ácido fórmico e após a gelatina.

Solução de trabalho

Nitrato de prata.....8 ml (2 partes)

Solução de gelatina..4 ml (1 parte)

usar 12 ml de Nitrato de Prata e 6 ml de gelatina.

Misture a solução acima imediatamente antes do uso. O volume da solução de trabalho usada depende do número de lâminas a serem coradas. Este volume é adequado para corar aproximadamente 5 lâminas (em caixinha plástica para guardar lâminas).

Amarelo da Metanila

Amarelo de metanila.....1 g

Água desidratada.....100 ml

Ácido acético.....0,25 ml

Procedimento

Tempo: 1 hora.

Desparafine (20 minutos em xilol na estufa á 60°C) e hidrate as lâminas em água deionizada (somente para biópsias)

Neste ponto começa o procedimento para esfregaços

Coloque as lâminas na solução de trabalho em uma caixinha plástica por 45 minutos em estufa a 37°C.

Lave as lâminas em água deionizada por 1 minuto

Opcional: contraporar com amarelo de metanila por 3 minutos (lavar com água deionizada)

Desidrate (30 segundos em cada álcool), clarifique e monte a lâmina usando resina sintética.

Para esfregaços:

Deixe as lâminas em temperatura ambiente

Secar ao ar

Fixar em cetona por 10 minutos

Secar novamente

Começar no passo 3 da técnica acima.

Resultados

Locais AgNOR – pontos pretos intranucleares

Fundo – amarelo pálido

Anexo B – Ficha de acompanhamento de cães e gatos portadores de carcinoma de células escamosas



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
GRUPO DE ESTUDO EM ONCOLOGIA (GEO)**



FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES ONCOLÓGICOS

Ficha HCV: _____ **Ficha LRD:** _____ **Responsável:** _____

Terapia antineoplásica:

- () realizada (data do procedimento: _____)
 () cirurgia () quimioterapia () crioterapia () radioterapia () outros _____
 () não realizada (data do procedimento: _____)
 eutanásia () sim () não _____
 () metástase (local: _____)
 () local difícil de remoção cirúrgica
 (...) invasão (local: _____)
 () estado geral inadequado

Diagnóstico histopatológico: _____

1 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

- () ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

- () não () sim – Onde? _____
 () não sabe informar

3 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

- () ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

- () não () sim – Onde? _____
 () não sabe informar

5 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

- () ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

- () não () sim – Onde? _____
 () não sabe informar

7 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

- () ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

- () não () sim – Onde? _____
 () não sabe informar

9 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

- () ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

- () não () sim – Onde? _____
 () não sabe informar

Campo para preenchimento em caso de óbito (data do contato: _____)

Data da morte: _____

Qual foi a causa da morte?

- () tumor como sendo a causa da morte (metástases ou outras complicações)
 () outra causa (ex: atropelamento, cardiopatia, nefropatia, doença infecciosa, outros)
 () não sabe informar
 (...) eutanásia

Apresentou aumento de volume em alguma região do corpo antes da morte?

- () não () sim – Onde? () mesma região () outra região _____

Apresentou algum sinal clínico antes da morte?

- () não () sim Qual? () dificuldade respiratória
 () não sabe () dificuldade de locomoção
 () sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 () outros _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)