

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Determinação de Algoritmo para Classificação Prognóstica e Preditiva de
Carcinomas de Células Escamosas Cutâneos em Cães**

Luísa Grecco Corrêa

Pelotas, 2021.

Luísa Grecco Corrêa

**Determinação de Algoritmo para Classificação Prognóstica e Preditiva de
Carcinomas de Células Escamosas Cutâneos em Cães**

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

Orientadora: Cristina Gevehr Fernandes

Pelotas, 2021.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C823d Corrêa, Luísa Grecco

Determinação de algoritmo para classificação prognóstica e preditiva de carcinomas de células escamosas cutâneos em cães / Luísa Grecco Corrêa ; Cristina Gevehr Fernandes, orientadora. — Pelotas, 2021.
50 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Prognóstico. 2. CCE. 3. Classificação. 4. Algoritmo. 5. Cães. I. Fernandes, Cristina Gevehr, orient. II. Título.

CDD : 636.708982

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Luísa Grecco Corrêa

Determinação de Algoritmo para Classificação Prognóstica e Preditiva de
Carcinomas de Células Escamosas Cutâneos em Cães

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 01/03/2021

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Cristina Gevehr Fernandes (Orientador)
Doutor em Patologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Dr^a. Luísa Mariano Cerqueira da Silva
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr^a. Mariana Teixeira Tillmann
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Dedicatória

Dedico essa dissertação à Deus e ao meu eterno amigo, Bidu.

Agradecimentos

À Deus pela minha saúde, física e mental, em tempos de pandemia.

À minha mãe e meu irmão, por todo amor, apoio e companhia. Sem eles seria impossível lidar com toda a pressão de viver num país desgovernado. Amo vocês!

Aos animais, em especial, aos que fizeram parte da minha trajetória, Bidu e Sucrilhos, pelo amor incondicional. É por vocês e para vocês todo o meu esforço e meu estudo.

À minha orientadora, Prof^a. Cristina Gevehr Fernandes, por toda a paciência e pela impecável orientação, mesmo a distância. Sou muito grata pelo acolhimento e pelo aprendizado que recebi durante esses dois anos.

Ao grupo SOVet, em especial ao Thomas Guim, Luísa Mariano, Clarissa Caetano, Andressa Piovesan, Michele Berselli, Aline Xavier, Aline Amaral, Caio Mauricio, Marina Noronha e Bárbara Siqueira, por toda ajuda, companheirismo e amizade. Nossa equipe é especial e trabalhar com vocês é muito bom.

As minhas amigas que foram (e ainda que continuam sendo) importantes em diferentes tempos da minha vida, Carolina Sapin, Eduarda Bierhals, Pamela Sedrez, Mariana Kaiser, Júlia Vargas, Mariane Sievers, Katiellen Neves, Claudia Beatriz, Eugênia Barwaldt, muito obrigada pela amizade.

À Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós Graduação em Veterinária pela minha formação científica, gratuita e de qualidade.

E ao CNPq pela oportunidade de realizar o mestrado com bolsa.

*“Para resolver um problema desta natureza, o segredo é raciocinar de trás para a frente. É uma proeza da maior utilidade, mas as pessoas não costumam praticá-la.
Sherlock Holmes.*

Resumo

CORRÊA, Luísa Grecco. **Determinação de Algoritmo para Classificação Prognóstica e Preditiva de Carcinomas de Células Escamosas Cutâneos em Cães.** 2021. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O carcinoma de células escamosas é um tumor epitelial maligno de queratinócitos, composto por células heterogêneas com variados fenótipos, que ocorre principalmente em regiões glabras, com pouca ou nenhuma pigmentação. A neoplasia é comum em cães, gatos, equinos e bovinos, relativamente incomum em ovinos e rara em caprinos e suínos. Na medicina veterinária, a classificação histológica mais adotada se baseia no grau de diferenciação, diferindo da medicina humana, em que são utilizados diversos sistemas de classificação para CCEs orais e cutâneos, sendo mais utilizado o sistema de classificação de malignidade, multifatorial, que avalia aspectos morfológicos das células neoplásicas. Assim este estudo teve como objetivo definir elementos morfológicos com potencial prognóstico através do sistema de classificação multifatorial para carcinomas de células escamosas cutâneos em cães. A dissertação consiste de dois artigos científicos, sendo que no primeiro consta o estudo das classificações histopatológicas de CCEs e o segundo, demonstra os resultados da avaliação comparativa dos sistemas de classificação de CCEs cutâneos em cães por parâmetros histomorfológicos ou pelo grau de diferenciação. Realizou-se um estudo retrospectivo dos casos de CCEs cutâneos em cães, no período de 2016 a 2020 diagnosticados no Serviço de Oncologia Veterinário da Universidade Federal de Pelotas (SOVet/UFPel). Foram selecionados 67 casos provenientes de biópsias ou necropsias, destes 30 casos foram acompanhados para a avaliação de sobrevida. As lâminas histológicas de todos os casos já diagnosticados foram revisados e as lesões graduadas de acordo com o algoritmo adaptado de Nagamine. Para a comparação entre os métodos de classificação dos CCEs cutâneos em cães foi realizado índice Kappa (k). Buscou-se também avaliar a utilidade dos parâmetros do sistema de graduação como preditores prognósticos através de estimativas de sensibilidade e especificidade e valor preditivo positivo. A análise dos dados de sobrevida foi realizada pelo método de Kaplan-Meier. O acompanhamento de sobrevida dos animais do estudo foi realizado através do contato telefônico trimestral com os tutores, por no mínimo 12 meses. Quanto a avaliação do índice Kappa, o valor obtido foi de $K = 0,266$, indicando que há pouca concordância entre os modelos diagnósticos. Na avaliação da utilidade dos parâmetros morfológicos como preditores prognósticos, a queratinização e o pleomorfismo nuclear, do escore 1, inflamação e padrão de invasão, do escore 2 e mitoses, do escore 4, apresentaram valores maiores de sensibilidade e de VPP. Neste estudo, o tempo médio de sobrevida de cães portadores de CCEs cutâneos foi de 8,1 meses após o diagnóstico.

Palavras-chave: prognóstico; CCE; classificação; algoritmo; cães.

Abstract

CORRÊA, Luísa Grecco. **Determination of Algorithm for Prognostic and Predictive Classification of Cutaneous Squamous Cell Carcinomas in Dogs.** 2021. 50f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Squamous cell carcinoma is a malignant epithelial tumor of keratinocytes, composed of heterogeneous cells with varied phenotypes, which occurs mainly in glabrous regions, with little or no pigmentation. The neoplasm is common in dogs, cats, horses and cattle, relatively uncommon in sheep and rare in goats and pigs. In veterinary medicine, the most widely used histological classification is based on the degree of differentiation, differing from human medicine, in which several classification systems are used for oral and cutaneous SCCs, with the multifactorial malignancy classification system, which evaluates morphological characteristics of neoplastic cells. Thus, this study aimed to define morphological elements with potential prognosis through the multifactorial classification system for cutaneous squamous cell carcinomas in dogs. The dissertation consists of two scientific articles, the first of which includes the study of the histopathological classifications of SCCs and the second shows the results of the comparative evaluation of the classification systems of cutaneous SCCs in dogs by histomorphological parameters or by the degree of differentiation. A retrospective study of cutaneous SCC cases in dogs, from 2016 to 2020 diagnosed at the Veterinary Oncology Service of the Federal University of Pelotas (SOVet / UFPel), was carried out. 67 cases were selected from biopsies or necropsies, of these 30 cases were followed up for survival assessment. The histological slides of all cases already diagnosed were reviewed and the lesions graded according to the adapted Nagamine algorithm. The Kappa index (k) was used to compare the methods of classifying cutaneous SCCs in dogs. We also sought to evaluate the utility of the graduation system parameters as prognostic predictors through estimates of sensitivity and specificity and positive predictive value. The analysis of survival data was performed using the Kaplan-Meier method. The survival monitoring of the animals in the study was carried out through quarterly telephone contact with the tutors, for at least 12 months. As for the evaluation of the Kappa index, the value obtained was $K = 0.266$, indicating that there is little agreement between the diagnostic models. In assessing the usefulness of morphological parameters as prognostic predictors, keratinization and nuclear pleomorphism, score 1, inflammation and invasion pattern, score 2 and mitosis, score 4, showed higher values of sensitivity and PPV. In this study, the average survival time for dogs with cutaneous SCCs was 8.1 months after diagnosis.

Keywords: prognosis; CCE; classification; algorithm; dogs.

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Sistema de classificação histopatológica de Broders 1925, baseado no princípio fundamental de diferenciação celular, divididos em quatro graus, variando de 1 a 4 para CCEs orais e cutâneos..... 23
- Figura 2 Sistema de classificação de Bryne et al 1992, também chamado sistema de gradação de margens invasivas para CCEs orais em humanos..... 23
- Figura 3 Sistema de classificação multifatorial de malignidade de Nagamine et al. 2017 para CCEs orais e cutâneos em cães..... 24
- Figura 4 Aspectos importantes para caracterização histológica de Carcinomas de Células Escamosas. (A) pérola de queratina; (B) disqueratose e queratinização rudimentar; (C) invasão para tecidos adjacentes em padrão de ninhos; (D) número de mitoses (setas) por campo..... 26

Artigo 2

- Figura 1 Curva de sobrevida de 30 cães diagnosticados com CCE cutâneo..... 41

Lista de Quadros

Artigo 2

Quadro 1	Algoritmo de classificação histomorfológica dos Carcinomas de Células Escamosas cutâneos em cães (Nagamine et al. 2017)	41
Quadro 2	Sensibilidade, especificidade, VPP de variáveis úteis como preditores prognósticos para Carcinomas de Células Escamosas cutâneos em cães diagnosticados no SOVet-UFPel.....	42

Lista de Tabelas

Artigo 2

Tabela 1	Classificação histológica dos CCEs cutâneo em cães diagnosticados no SOVET-UFPeI (2016-2020)	43
Tabela 2	Carcinomas de células escamosas cutâneos em cães diagnosticados no SOVET-UFPeI (2016-2020) classificados conforme graduação histomorfológica e ao grau de diferenciação.....	43
Tabela 3	Distribuição dos escores dos CCEs cutâneos em cães diagnosticados no SOVET-UFPeI (2016-2020) de acordo com o grau de diferenciação.....	44

Lista de Abreviaturas e Siglas

AgNORs	Regiões organizadoras nucleolares argirofílicas
CCE	Carcinoma de Células Escamosas
Cga	Campo de grande aumento
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ETAT	Eosinofilia tecidual associada a tumores
pTNM	Estadiamento clínico-patológico de tumores
TEM	Transição Epitelial Mesenquimal
TNM	Estadiamento clínico de tumores
UV	Radiação ultravioleta
UV-B	Radiação ultravioleta B

Sumário

1 Introdução.....	15
2 Artigos.....	17
2.1 Artigo 1.....	17
2.2 Artigo 2.....	31
3 Considerações Finais.....	45
Referências.....	46
Anexos.....	50

1 Introdução

A expectativa de vida dos animais de companhia está cada vez mais alta. Esse aumento da longevidade se dá em decorrência da proximidade dos animais com seus tutores, sendo considerados membros da família. Ainda assim, ao mesmo tempo em que a expectativa de vida cresce, cresce também a propensão ao desenvolvimento de variados problemas de saúde, em especial as neoplasias (DE NARDI et al., 2002). O CCE é responsável por 15% dos tumores de pele em gatos (MURPHY, 2016) e 15,3% a 27,4% dos tumores de pele em cães (BASTOS et al., 2017; LIMA et al., 2018), dependendo da posição geográfica. Por esse fato, optou-se realizar o estudo apenas em cães devido à alta demanda de material encaminhado para exame anatomopatológico.

Considerando os cães, as regiões expostas a luz solar quando em decúbito dorsal são as mais acometidas (HOGGARD et al., 2018). A idade média relatada de CCEs em cães é de 8 a 9 anos e as principais raças acometidas são dálmatas, boxers, bull terriers, beagles, basset hounds e pointers, entretanto, nenhuma predileção por sexo foi identificada (WILLCOX, 2019).

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoplasia maligna de células epidérmicas, de crescimento lento, comum em várias espécies domésticas, entre elas cães e gatos (MELO et al., 2018). Tem origem na epiderme, ocorrendo principalmente em regiões glabras, desprovidas ou com pouca pigmentação, constituídas por epitélio escamoso estratificado e superfícies mucosas. Sugere-se que a exposição à luz ultravioleta seja a principal causa iniciadora do CCE, com consequente lesão do ácido desoxirribonucleico (DNA) e mutagênese associada. O comportamento do neoplasma é considerado localmente invasivo, com uma taxa variável de metástases e um prognóstico que depende em grande parte da localização anatômica e da extensão da doença (WILLCOX et al., 2019).

A carcinogênese pode iniciar-se de forma espontânea ou ser provocada pela ação de agentes carcinogênicos atuando como promotores da proliferação celular, criando assim condições propícias para mutações por erros de transcrição do DNA (DEVITA et al., 2005). Acredita-se que a causa primária de CCEs é a exposição

excessiva à radiação ultravioleta (UV), especialmente o UV-B, potencializando a mutação do gene p53. Outro fator de desenvolvimento dos CCEs é a infecção por papilomavírus, induzindo assim a proliferação de células atípicas. (HOGGARD et al., 2018). Porém, em cada espécie animal há uma variedade de informações referentes à biologia e ao microambiente tumoral, envolvendo aspectos celulares e moleculares dos tumores. Nos cães, há relatos de CCEs no local de vacinação após aplicação da vacina de papilomavírus autógena. O período de latência relatado nesses casos é de 11–34 meses. A neoplasia não apresenta características únicas que permitam diferenciá-la de outros casos de CCEs, incluindo os CCEs invasivos, além de apresentar uma localização bastante incomum (GOLDSCHMIDT; GOLDSCHMIDT, 2017).

Essa neoplasia maligna é composta por células heterogêneas com vários fenótipos. As células tumorais localizadas centralmente são mais diferenciadas em comparação com aquelas que invadem o estroma (NAGAMINE et al. 2017). Atualmente, a classificação histológica mais adotada é baseada no grau de diferenciação das células neoplásicas, onde os CCEs podem ser classificados em bem diferenciados, diferenciados e indiferenciados (WEISS; FRESE, 1974). O CCE bem diferenciado é aquele que se assemelha ao epitélio escamoso normal com presença de pérolas de queratina. O CCE diferenciado apresenta pleomorfismo nuclear, aumento do número de mitoses e da queratinização e com significativa paraqueratose. Já o CCE indiferenciado, apresenta predomínio de células imaturas com numerosas mitoses e pouca ou nenhuma queratinização, sendo pouco semelhantes ao tecido original (BONHIN, et al. 2014). Estudos em humanos evidenciam um melhor valor prognóstico quando realizado um sistema de classificação de malignidade, multifatorial, que avalia as células neoplásicas morfológicamente (NAGAMINE et al., 2017) e que hoje, em medicina veterinária, ainda não é usualmente utilizado. A avaliação de vários parâmetros histomorfológicos proporciona tanto para o patologista quanto para o clínico, maiores informações acerca do neoplasma, garantindo assim laudos mais completos e prognóstico mais fidedigno para o paciente em questão.

Assim, diante do progresso nos estudos sobre os fatores prognósticos e da possibilidade de implantação de novos sistemas de classificação para complementação diagnóstica, este trabalho teve como objetivo definir elementos morfológicos com potencial prognóstico através do sistema de classificação multifatorial para carcinomas de células escamosas cutâneas em cães.

2 Artigos

2.1 Artigo 1

Carcinoma de Células Escamosas: classificações histopatológicas

Luísa Grecco Corrêa, Clarissa Caetano de Castro, Luísa Mariano Cerqueira da Silva,
Andressa Dutra Piovesan Rossato, Michele Berselli, Fabiane Borelli Grecco, Thomas
Normanton Guim, Cristina Gevehr Fernandes

Aceito para publicação na revista Research, Society and Development

Fatores Prognósticos e seu Papel na Classificação Histológica dos Carcinoma de Células Escamosas Cutâneos

Cutaneous squamous cell carcinoma: Prognostic Factors in histopathological classifications

Factores pronósticos y su papel en la clasificación histológica del carcinoma cutáneo de células escamosas

Recebido: 14/05/2021 | Revisado: 22/05/2021 | Aceito: 24/05/2021 | Publicado: 00/00/2021

Luísa Grecco Corrêa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1355-2907>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: luisagcorrea@gmail.com

Clarissa Caetano de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4822-034X>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: clarissac.decastro@gmail.com

Luísa Mariano Cerqueira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6158-4204>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: luisamarianovet@yahoo.com.br

Andressa Dutra Piovesan Rossato

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5760-9392>
Instituto de Desenvolvimento Educacional do Alto Uruguai, Brasil
E-mail: andressa-piovesan@hotmail.com

Michele Berselli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0563-4139>
Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil
E-mail: michele.berselli@gmail.com

Fabiane Borelli Grecco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3996-315X>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: fabianegrecco18@gmail.com

Thomas Normanton Guim

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8278-1397>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: thomasguim@hotmail.com

Cristina Gevehr Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0729-2099>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: crisgevf@yahoo.com.br

Resumo

O carcinoma de células escamosas (CCEs) é um tumor epitelial maligno de queratinócitos, composto por células heterogêneas com variados fenótipos, que ocorre principalmente em regiões glabras, com pouca ou nenhuma pigmentação. Ele é uma neoplasia comum em cães, gatos, equinos e bovinos, relativamente incomum em ovinos e rara em caprinos e suínos. Este estudo teve por objetivo realizar uma revisão crítica quanto aos diferentes sistemas de classificações histopatológicas de CCEs cutâneos e seu impacto na definição do prognóstico. A medicina humana conta com diversos sistemas de classificação para CCEs orais e cutâneos, como o sistema de Broders (1925) que propõe uma gradação baseada na diferenciação celular, e de Bryne (1992), que se baseia na gradação multifatorial de malignidade, avaliando quatro características morfológicas, para as quais são atribuídos escores e que após a soma dos escores, resultam em um grau. Em medicina veterinária, o sistema de classificação mais utilizado é ainda o de Weiss e Frese (1974), baseado no grau de diferenciação. Todavia, Nagamine et al. (2017) elaboraram um sistema de classificação multifatorial de gradação de malignidade para CCEs orais e cutâneos em cães, avaliando cinco características morfológicas para as quais são atribuídos escores (de 1 a 4) e somados, resultam num grau. Cada um dos sistemas se baseia e um ou vários fatores considerados como prognósticos. Esses sistemas de classificação podem apresentar vantagens e desvantagens, sendo necessário conhecer de forma aprofundada os diferentes aspectos de cada um para que se possa optar pelo que contemple a finalidade diagnóstica.

Palavras-chave: Morfologia; Neoplasia; CCE e diferenciação.

Abstract

Squamous cell carcinoma (SCCs) is a malignant epithelial tumor of keratinocytes, composed of heterogeneous cells with varied phenotypes, which occurs mainly in glabrous regions, with little or no pigmentation. It is a common neoplasm in dogs, cats, horses and cattle, relatively uncommon in sheep and rare in goats and pigs. This study aimed to carry out a critical review of the different histopathological classification systems for cutaneous SCCs and their impact on the definition of the prognosis. Human medicine has several classification systems for oral and cutaneous SCCs, such as the Broders system (1925) that proposes a gradation based on cell differentiation, and Bryne (1992), which is based on the multifactorial graduation of malignancy, evaluating four morphological characteristics, for which scores are assigned and which after the sum of the scores, result in a degree. In veterinary medicine, the most used classification system is that of Weiss and Frese (1974), based on the degree of differentiation. However, Nagamine et al. (2017) developed a multifactorial classification system for malignancy grading for oral and cutaneous SCCs in dogs, evaluating five morphological characteristics for which scores are assigned (from 1 to 4) and added together, result in a grade. Each of the systems is based and one or more factors considered as prognostications. These classification systems can have advantages and disadvantages, being necessary to know in depth the different aspects of each one so that one can choose the one that contemplates the diagnostic purpose.

Keywords: Morphology; Neoplasia; SCC and differentiation.

Resumen

El carcinoma de células escamosas (CEC) es un tumor epitelial maligno de queratinocitos, compuesto por células heterogéneas con fenotipos variados, que se presenta principalmente en regiones glabras, con poca o ninguna pigmentación. Es una neoplasia común en perros, gatos, caballos y ganado, relativamente poco común en ovejas y rara en cabras y cerdos. Este estudio

tuvo como objetivo realizar una revisión crítica de los diferentes sistemas de clasificación histopatológica de los CCE cutáneos y su impacto en la definición del pronóstico. La medicina humana tiene varios sistemas de clasificación para los CCE orales y cutáneos, como el sistema de Broders (1925) que propone una gradación basada en la diferenciación celular, y Bryne (1992), que se basa en la graduación multifactorial de malignidad, evaluando cuatro características morfológicas, para qué puntajes se asignan y que, después de la suma de los puntajes, dan como resultado una calificación. En veterinaria, el sistema de clasificación más utilizado es el de Weiss y Frese (1974), basado en el grado de diferenciación. Sin embargo, Nagamine et al. (2017) desarrollaron un sistema de clasificación multifactorial para la clasificación de malignidad para SCC orales y cutáneos en perros, evaluando cinco características morfológicas para las cuales se asignan puntuaciones (de 1 a 4) y se suman, dan como resultado una calificación. Cada uno de los sistemas se basa y uno o más factores se consideran pronósticos. Estos sistemas de clasificación pueden presentar ventajas e inconvenientes, siendo necesario conocer en profundidad los diferentes aspectos de cada uno para que se pueda elegir el que contemple la finalidad diagnóstica.

Palabras clave: Morfología; Neoplasia; CCE y diferenciación.

1. Introdução

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoplasia relativamente comum, localmente invasiva e ocasionalmente metastática que ocorre na maioria das espécies domésticas. Os CCEs cutâneos são localmente destrutivos e com potencial metastático baixo, dependendo de sua localização (Mauldin & Kennedy, 2016). A carcinogênese pode iniciar de forma espontânea ou ser provocada pela ação de agentes carcinogênicos atuando como promotores da proliferação celular, criando assim condições propícias para mutações por erros de transcrição do DNA (Devita et al., 2005). Os principais agentes oncopromotores dos CCEs são o papilomavírus e a exposição excessiva à radiação solar. (Mauldin & Kennedy, 2016). A neoplasia é comum em cães, gatos, equinos e bovinos, relativamente incomum em ovinos e rara em caprinos e suínos (Mauldin & Kennedy, 2016). É responsável por 15% dos tumores de pele em gatos (Murphy, 2016) e 15,3% a 27,4% dos tumores de pele em cães (Bastos et al., 2017; Lima et al., 2018). Em cães, a neoplasia ocorre com mais frequência na cabeça, abdômen, membros anteriores, posteriores, períneo e dígitos. Cães de pelo curto com pele branca ou malhada que passam muito tempo ao ar livre também apresentam maior incidência de CCE cutâneo, que tende a ocorrer no abdômen e na cabeça (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Em gatos, ocorre mais na região das pálpebras, pavilhão auricular e plano nasal (Mauldin & Kennedy, 2016). Nos animais de produção, a localização mais frequente, em bovinos e equinos é na região orbitária, enquanto nos pequenos ruminantes o CCE é mais observado na pele da cabeça de ovinos e na vulva de cabras (Carvalho et al., 2012). As lesões macroscópicas são proliferativas, hiperêmicas, crostosas, podendo evoluir para úlceras (Tillmann et al., 2016). O diagnóstico definitivo é realizado através do exame histopatológico, baseado no grau de

diferenciação das células neoplásicas. 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 (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

A classificação histopatológica é um fator importante para definição do prognóstico (Burton et al. 2016; Samarasinghe et al. 2011), o qual permite a estimativa da sobrevida e na escolha no tratamento mais adequado ao tipo histológico tumoral. Estudos em medicina humana sugerem que o valor prognóstico tende a ser mais fidedigno quando são utilizados sistemas de classificação de malignidade multifatoriais, tanto para CCEs orais quanto para cutâneos. (Lourenço et al., 2006).

Assim, diante do grande número de casos de CCEs na medicina veterinária e dos desafios para estabelecer prognóstico mais fidedigno para pacientes portadores desse neoplasma, o objetivo desse trabalho foi revisar a literatura acerca das classificações histopatológicas dessa neoplasia e elencar as vantagens e desvantagens de cada sistema de classificação.

2. Metodologia

A revisão foi realizada utilizando os recursos de buscas em bancos de dados PubMed, ScienceDirect e Web of Science. Os artigos científicos e capítulos de livros encontrados foram avaliados quanta à relevância para o presente estudo, sendo então abordados os principais sistemas de classificação de carcinomas de células escamosas orais e cutâneos tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, além dos subtipos histológicos de CCEs, se enquadrando numa pesquisa qualitativa.

3. Resultados e Discussão

Histologicamente, os CCEs apresentam vários subtipos que incluem os bem diferenciados, moderadamente diferenciados, poucos diferenciados, acantolíticos, de células fusiformes, variantes verrucosas e invasivos (Mauldin & Kennedy, 2016).

Os CCEs invasivos são semelhantes a placas, com presença de massas que variam de alguns milímetros a vários centímetros de diâmetro. Alopecia, eritema, ulceração e crostas geralmente estão presentes. As lesões podem ser únicas ou múltiplas. Na superfície de corte, são firmes e brancacentas (Mauldin & Kennedy, 2016).

O CCE acantolítico é uma variante relativamente incomum. Esse neoplasma contém formações pseudoglandulares a pseudocísticas. Apresenta células neoplásicas parcialmente queratinizadas nos centros de ilhas e trabéculas resultantes da perda das junções intercelulares.

O fusiforme é outra rara variante dos CCEs pouco diferenciados/indiferenciados e é composta por grandes fusos pleomórficos e células poligonais que possuem abundante citoplasma pálido ou anfófilo. Os núcleos são grandes e vesiculares com nucléolos proeminentes, com índice mitótico alto. E o CCE verrucoso é uma variante descrita apenas em cães, de baixo grau de malignidade. É exofítico e endofítico, e as trabéculas largas têm margens arredondadas suaves (Mauldin & Kennedy, 2016).

Há muitos anos, o sistema de estadiamento clínico de tumores (TNM) tem sido o padrão clínico de classificação adotado para caracterizar alguns tipos tumorais, como os CCEs de cavidade oral, sejam eles em humanos ou animais. Ele varia de acordo com o tipo tumoral, sendo específico para cada neoplasia. Para CCEs em humanos, o TNM é composto pelo tamanho do tumor (T), envolvimento ou não de linfonodos regionais ou contralaterais (N) e evidências ou não de metástases (M). Caso o paciente seja submetido à ressecção cirúrgica, determina-se também o estadiamento patológico (pTNM), por meio do exame histopatológico do tumor e/ou dos linfonodos regionais, o que auxilia na seleção da terapia adjuvante pós-operatória e na estimativa do prognóstico (Lourenço et al., 2006).

A classificação histológica mais adotada para os CCEs em medicina veterinária se baseia no grau de diferenciação das células neoplásicas onde os CCEs podem ser classificados em bem diferenciados, diferenciados e indiferenciados (Weiss & Frese, 1974). O CCE bem diferenciado é composto por células neoplásicas dispostas em cordões ou feixes com centros queratinizados e com a presença de pérolas de queratina. As pontes intercelulares também são fáceis de encontrar e os processos inflamatórios, principalmente na periferia do tumor, são comuns. O CCE diferenciado apresenta moderada queratinização, mas as pérolas e as pontes intercelulares são menos frequentes. Já no CCE indiferenciado, a queratinização, quando presente, é restrita às células isoladas, e com grande quantidade de figuras mitóticas (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017; Mauldin & Kennedy, 2016; Weiss & Frese, 1974).

A graduação histológica tem sido estabelecida como um critério útil para o prognóstico de CCEs cutâneos em humanos (Guim, 2010). Entretanto não apresenta valor prognóstico significativo para CCEs em cães e gatos (Théon et al., 1995; Lascelles et al., 2000; Guim, 2010), mesmo quando submetidos a terapia antineoplásica, a correlação da graduação histológica com o tempo de sobrevida livre da doença não é significativa (Guim, 2010). Em medicina humana, são utilizados diversos sistemas de classificação para CCEs orais e cutâneos. O sistema de classificação de Broders (Figura 1), propõe uma graduação dos CCEs, baseada no princípio fundamental de diferenciação celular, onde são graduados de 1 a 4, de menor para o maior percentual de células indiferenciadas, porém também não apresenta associação significativa

com o prognóstico (Lourenço et al., 2006; Broders, 1925).

Figura 1: Sistema de classificação histopatológica de Broders (1925), baseado no princípio fundamental de diferenciação celular, divididos em quatro graus, variando de 1 a 4 para CCEs orais e cutâneos.

Classificação Histopatológica de Broders	
Parâmetro	Características
Grau 1	0 a 25% de células indiferenciadas
Grau 2	25 a 50% de células indiferenciadas
Grau 3	50 a 75% de células indiferenciadas
Grau 4	75 a 100% de células indiferenciadas

Fonte: Lourenço et al. 2006.

Outra forma de diagnosticar os CCEs orais e cutâneos em humanos foi o sistema de classificação de Bryne (1992) (Figura 2). Esse sistema é baseado na classificação multifatorial de gradação de malignidade, onde avalia-se quatro características morfológicas onde cada uma dessas características recebe um escore, de 1 a 4, do menos para o mais maligno e que no final, após a soma dos escores, resultam em um grau de malignidade e quanto maior o grau, pior o prognóstico.

Figura 2: Sistema de classificação de Bryne et al. (1992), também chamado sistema de gradação de margens invasivas para CCEs orais em humanos.

Característica Morfológica	PONTUAÇÃO			
	1	2	3	4
Grau de Ceratinização	Altamente ceratinizado (>50% das células)	Moderadamente ceratinizado (20-50% das células)	Ceratinização mínima (5-20% das células)	Sem ceratinização (0-5% das células)
Pleomorfismo Nuclear	Pouco pleomorfismo nuclear (>75% das células maduras)	Moderadamente abundante pleomorfismo nuclear (50-75% das células maduras)	Abundante pleomorfismo nuclear (25-50% das células maduras)	Extremo pleomorfismo nuclear (0-25% das células maduras)
Padrão de Invasão	Compressivo, bordas infiltrantes bem delimitadas	Infiltrante, cordões sólidos, bandas ou fios	Pequenos grupos ou cordões de células infiltrantes (n > 15)	Marcante e disseminada dissociação em grupos pequenos e/ou em células individuais
Infiltrado Linfo - plasmocitário	Marcante	Moderado	Leve	Ausente

Fonte: Lourenço et al. 2006.

Baseado nos estudos em humanos, Nagamine et al. (2017) (Figura 3), elaboraram um sistema de graduação multifatorial para CCEs cutâneos e orais em cães. Esse sistema é baseado na avaliação de características morfológicas, para as quais são atribuídos escores, que somados resultam em uma graduação de I, II ou III, do menos para o mais maligno. Nele são avaliados o grau de queratinização, o padrão de invasão, grau de inflamação, pleomorfismo nuclear e número de mitoses por campo (Nagamine et al., 2017). Além disso, avaliaram também a transição epitelial mesenquimal (TEM) através de imunohistoquímicas para validação do sistema de graduação como valor prognóstico. A TEM é um processo essencial na progressão do tumor, implicando diretamente na capacidade de invasão e metástase (Mestrinho et al., 2015). A TEM está associada à perda das moléculas de adesão celular, tais como a caderina-E, a β -catetina e a desmogleína (Nagamine et al., 2017) e resulta em um prognóstico desfavorável em termos de recorrência e mortalidade (Mestrinho et al., 2015). As principais características da TEM são a perda do fenótipo epitelial e aquisição de fenótipo mesenquimal, incluindo a atenuação da caderina-E e a aquisição da expressão de vimentina e caderina-N (Nagamine et al., 2017).

Figura 3 – Sistema de classificação multifatorial de malignidade de Nagamine et al. 2017 para CCEs orais e cutâneos em cães.

Característica morfológica	Escore			
	1	2	3	4
Grau de queratinização	Alta queratinização (>50% das células)	Moderada queratinização (20-50% das células)	Mínima queratinização (5%-20 das células)	Queratinização ausente (0%-5% das células)
Padrão de invasão	Marcada, bem delimitada, bordas infiltrativas	Cordões sólidos, bandas e/ou feixes	Pequeno grupo de cordões ou células (n > 15)	Pequeno grupo de células dissociadas e/ou células individuais (n < 15)
Inflamação	Marcada	Moderada	Pouca	Ausente
Pleomorfismo nuclear	Pequeno pleomorfismo nuclear (75% das células maduras)	Moderado a abundante pleomorfismo nuclear (50-75% das células maduras)	Abundante pleomorfismo nuclear (25%-50% das células maduras)	Extremo pleomorfismo nuclear (0-25% das células maduras)
Mitoses por campo	0-1	2-3	3-4	>5

**Para cada parâmetro são adicionadas uma pontuação, sendo o total máximo de 20. O grau do tumor é baseado na pontuação total como segue: Grau 1 (6-10), Grau 2 (11-15), Grau 3 (16-20).

Fonte: Nagamine et al. 2017 (traduzido).

O principal sistema de classificação utilizado atualmente (Weiss & Frese, 1974) se baseia principalmente na avaliação da diferenciação do tumor expressa pela presença de queratina. A quantidade de citoqueratina, produzida pelas células neoplásicas é bastante variável e não é considerado um bom fator prognóstico quando avaliado de forma isolada de outros parâmetros (Guim, 2010; Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Quando há extensa queratinização em neoplasias bem diferenciadas ocorre a formação das figuras distintas

conhecidas como pérolas de queratina (Figura 4a). Em neoplasias pouco diferenciadas (Figura 4b), apenas algumas células podem ter presença de citoqueratina eosinofílica (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

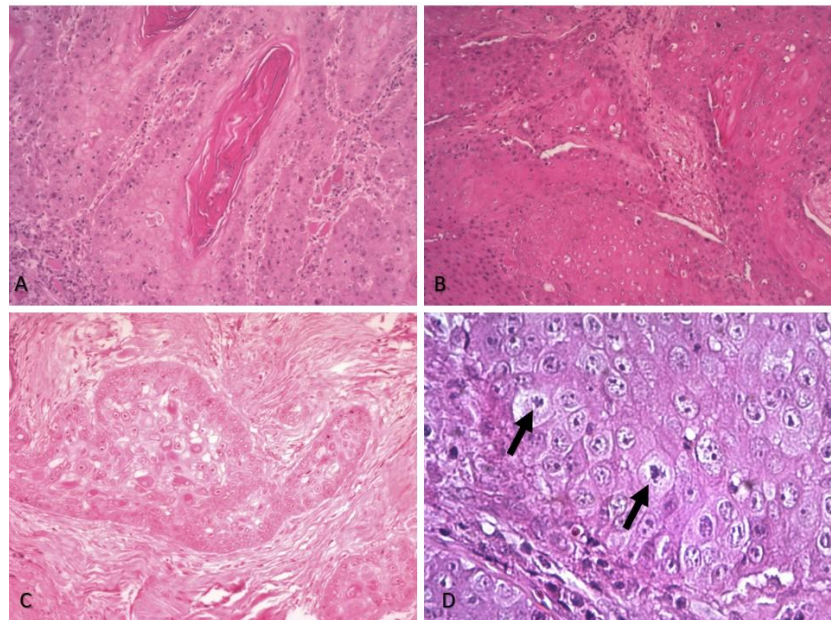
O padrão de invasão (Figura 4c) é um importante fator prognóstico uma vez que o arranjo ou dissociação das células neoplásicas evidenciam a malignidade do neoplasma (Guim, 2010). O mecanismo de invasão, que inicia o processo de metástase, consiste na separação das células tumorais, adesão aos componentes da matriz extracelular (MEC), proteólise do tecido adjacente e migração das células neoplásicas (Steeg, 2006). As células epiteliais, que normalmente justapostas por moléculas de adesão, perdem sua capacidade de coesão e acabam invadindo outros sítios (Kusewitt & Rush, 2009). Histologicamente, as células neoplásicas individuais apresentam núcleos grandes, ovoides, frequentemente vesiculares, com nucléolo único, central e evidente, citoplasma abundante que varia de pálido a intensamente eosinofílico e bordas celulares distintas (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

O número de mitoses (Figura 4d) por campo tem sido utilizado como um fator preditivo do comportamento tumoral e prognóstico em uma ampla variedade de tumores, incluindo neoplasias mamárias (Biesterfeld et al., 2001) e carcinoma de tireoide, em humanos (Volante et al., 2004). Em medicina veterinária, a contagem de mitoses tem sido utilizada em sarcomas de tecidos moles em cães, tumores sólidos cutâneos e mamários em cães e gatos e mastocitomas em cães (Magalhães, 2017). O número de figuras mitóticas nos CCEs é variável, sendo mais frequente em neoplasias menos diferenciadas (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). A proliferação excessiva de células devido ao aumento da mitoses atípicas é característica em lesões neoplásicas e pré-neoplásicas. Assim, avaliar quantitativamente o número de mitoses pode servir como um bom fator de prognóstico para tais lesões (Kesarkar et al. 2018). A contagem de mitoses tem se revelado um importante fator na avaliação prognóstica para cães portadores de mastocitomas cutâneos (Romansik et al., 2007).

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 (Kusewitt & Rush, 2009). A invasão da derme e do tecido subcutâneo pode provocar uma resposta inflamatória. Muitas vezes há infiltrado inflamatório neutrofílico próximo às células epiteliais neoplásicas, enquanto os linfócitos e os plasmócitos são encontrados no estroma do tecido conjuntivo que envolve o epitélio neoplásico (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). O recrutamento de células inflamatórias é utilizado para conter o desenvolvimento tumoral, representando uma tentativa do hospedeiro de suprimir o crescimento neoplásico. Sabe-se que a resposta inflamatória induz a liberação de fatores de crescimento, angiogênese, entre outros

mecanismos que também possibilitam a progressão neoplásica e a evasão do sistema imune (Guim, 2010). Entretanto, a presença de inflamação em casos de CCEs cutâneos indica em humanos a correlação com um prognóstico favorável (Roppopen et al., 1997), uma vez que sua ausência é um fator significativo que facilita a invasão tumoral. Isso ocorre porque as células tumorais empregam uma variedade de mecanismos para evitar o ataque de linfócitos (Kusewitt & Rush, 2009)

Figura 4 – Aspectos importantes para caracterização histológica de Carcinomas de Células Escamosas. (A) pérola de queratina; (B) disqueratose e queratinização rudimentar; (C) invasão para tecidos adjacentes em padrão de ninhos; (D) número de mitoses (setas) por campo.



Fonte: Arquivo pessoal.

Diversos autores já analisaram o valor prognóstico de outros parâmetros, tais como a graduação histológica, a eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT), a desmoplasia e AgNORs. A graduação histológica tem sido estabelecida como um critério útil para o prognóstico em CCEs cutâneos em humanos (GUIM, 2010), entretanto em cães e gatos, não apresenta valor prognóstico significativo (Lascelles et al., 2000; Théon et al, 1995).

A eosinofilia tecidual associada a tumores (ETAT) tem sido observada em uma ampla variedade de tumores, tanto em humanos como em animais (Guim, 2010). A ETAT desempenha papel importante de apoio as células T citotóxicas, possibilitando uma maior inibição do crescimento tumoral, por meio da degranulação (Minton, 2015). Em estudos feitos com ratos que possuíam eosinofilia tecidual abundante na lesão e eosinofilia periférica no sangue, foi visto

que existe uma diminuição substancial na tumorigenicidade e progressão do tumor (Davis & Rothenberg, 2014). Na literatura atualmente disponível, não há relatos da ETAT como ferramenta prognóstica em CCEs cutâneos em cães (Guim, 2010).

A desmoplasia corresponde à proliferação de tecido conjuntivo associado às células epiteliais neoplásicas invasoras (Kusewitt & Rush, 2009). Nos CCEs bem diferenciados de cães e gatos a desmoplasia é de moderada a abundante, enquanto nos CCEs pouco diferenciados e mais invasivos, a produção de colágeno estromal é menos intensa (Gross et al., 2005), entretanto os efeitos exercidos sobre o crescimento tumoral são ainda desconhecidos (Guim, 2010) e consequentemente o valor prognóstico também é.

Nas células em proliferação, o número das NORs aumenta, tornando possível a relação entre a contagem das NORs e a proliferação celular uma vez que estas estruturas estão relacionadas com o nível de atividade celular e nuclear. (TRERÈ, 2000; WEBSTER et al., 2007). 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. Em animais domésticos, a contagem das AgNOR tem sido utilizada como método auxiliar no diagnóstico (Webster et al., 2007). Para os CCEs a contagem das AgNORs/núcleo não representa valor prognóstico significativo (Guim, 2010).

Apesar da graduação histológica caracterizar de forma simples o perfil das células neoplásicas e auxiliar no direcionamento quanto ao diagnóstico, essa classificação não apresenta valor prognóstico significativo (GUIM, 2010). O sistema de Broders, embora faça a graduação (de 1 a 4) das células neoplásicas, também utiliza do mesmo princípio do grau de diferenciação, não apresentando valor prognóstico considerável (Lourenço et al., 2006). O de Bryne contempla a análise de quatro características histomorfológicas, a aplicação de escores e a graduação de CCEs orais e cutâneos, entretanto, esse sistema está consolidado apenas na medicina humana. O sistema de classificação de Nagamine, apresenta grandes possibilidades de ser implementado na medicina veterinária, já que seu valor prognóstico parece ser mais fidedigno, uma vez que mais de um parâmetro histomorfológico, contudo, há necessidade de ampliação nos estudos, incluindo outras espécies domésticas como os felinos.

4. Conclusão

Com base nesse estudo, fica evidente que a avaliação de um parâmetro isolado não representa valor prognóstico definitivo. Assim sendo, existe a necessidade de um sistema classificação mais preciso com aplicabilidade prognóstica e/ou preditiva na clínica para os Carcinomas de Células Escamosas em cães. Estudos devem ser realizados para determinar quais

parâmetros devem ser considerados na construção desse sistema, já que a diferenciação, padrão de queratinização, ETAT, desmoplasia e taxa de proliferação celular (avaliada por AgNOR) tem valor limitado. Por outro lado, o perfil de invasão, índice mitótico, infiltrado histiolinfocitário são mais promissores. Desta forma deve ser realizados estudos que resultem na construção de um sistema de classificação fidedigno e com valor prognóstico, baseado em parâmetros morfológicos para os CCEs cutâneos e orais.

Referências

- Bastos, R.S.C. et al. (2017). Estudo retrospectivo de neoplasias cutâneas em cães da região metropolitana de Fortaleza. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 11 (1), 39–53.
- Biesterfeld, S. et al. (2001) Re-evaluation of prognostic mitotic figure counting in breast cancer: results of a prospective clinical follow-up study. *Anticancer Research*, 21, 589-594.
- Broders, A. C. (1925). Cancer's Self-Control, *M. J. & Rec.* 121, 133-135.
- Bryne, M. et al. (1992). Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *Journal of Pathology*, 166, 375-381.
- Burton, K.A. et al. (2016). Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Review of High-Risk and Metastatic Disease. *American Journal of Clinical Dermatology*, 17, 491–508.
- Carvalho, F.K. de. et al. (2012). Fatores de risco associados à ocorrência de carcinoma de células escamosas em ruminantes e equinos no semiárido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (9), <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000900012>.
- Davis, B.P. & Rothenberg, M.E. (2014). Eosinophils and cancer. *Cancer immunology research*. 2 (1), 1-8.
- Devita Jr, V. T. et al. (2005). Cancer: Principles & Practice of Oncology (*Cancer Principles and Practice of Oncology*). 7. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 3120.
- Goldschmidt, M.H. & Goldschmidt, K. H. (2017). Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In: Meuten, D.J. *Tumors in Domestic Animals*. 5th Ed. Ames: Iowa State Press, 97-99.
- Gross, T.L. et al. (2005) *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*. 2th ed. Oxford: Blackwell Science, 560-603.
- Guim, T. N. (2010). Avaliação Da Sobrevida e de Marcadores Histomorfológicos Como Potenciais Fatores Prognósticos Para Carcinoma De Células Escamosas Em Cães E Gatos. Pelotas: UFPEL, 2010. 65. *Dissertação (Mestrado em Veterinária)*, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal De Pelotas.
- Kesarkar, K. et al. (2018). Evaluation of Mitotic Figures and Cellular and Nuclear Morphometry of Various Histopathological Grades of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Sultan Qaboos University Medicine Journal*. 18, 149-154.

- Kusewitt, D. F. & Rush, L. J. *Neoplasia e Biologia Tumoral*. Ed. Rio De Janeiro: Elsevier, 2009, 298.
- Lascelles, B.D.X. et al. (2000). Squamous cell carcinoma of the nasal planum in 17 dogs. *Veterinary Record*. 147, 473-476.
- Lima, S.R. et al. (2018). Neoplasmas cutâneos em cães: 656 casos (2007-2014) em Cuiabá, MT. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38 (7), <http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5534>.
- Lourenço, S. Q. C. et al. (2006). Classificações Histopatológicas para o Carcinoma de Células Escamosas da Cavidade Oral: Revisão de Sistemas Propostos. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 53 (3), 325-333.
- Magalhães, P. L. (2017). Imunomarcagem dos receptores de EGF (EGFR e c-ErbB2) no carcinoma de células escamosas em cães. Goiânia. UFG. 55. *Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)* Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás.
- Mauldin, E.A. & Peters-Kennedy, J. Neoplastic and Reactive Diseases of the Skin. In: Jubb, Kennedy and Palmer's. *Pathology of Domestic Animals*. 6th. 3. St Louis, Missouri: Elsevier, 712-714.
- Mestrinho, L.A. et al. (2014). PCNA and grade in 13 canine oral squamous cell carcinomas: association with prognosis. *Veterinary and Comparative Oncology*. John Wiley & Sons Ltd, 1-7.
- Minton, K. (2015). Granulocytes: Eosinophils enable the antitumour T cell response. *Nature Reviews Immunology*, 15 (6), 333-333.
- Murphy, S. (2016). Squamous Cell Carcinoma in Cats. In: Susan E. Little. *August's Consultations in Feline Internal Medicine*, 7 (54), 526-534.
- Nagamine, E. et al. (2017). Invasive Front Grading and Epithelia-Mesenchymal Transition in Canine Oral and Cutaneous Squamous Cell Carcinomas. *Veterinary Pathology*, 54 (5), 783-791.
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. Santa Maria/RS. Ed. UAB/NTE/UFSM, 1-119.
- Romansik, E. M. et al. (2007). Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*. 44, 335-341.
- Ropponen, K.M. et al. (1997). Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (tils) in colorectal cancer. *Journal of Pathology*, 182, 318-324.
- Samarasinghe V. et al. (2011). Management of high-risk squamous cell carcinoma of the skin. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 11 (5), 763-769.
- Steeg, P. S. (2006). Tumor Metastasis: Mechanistic Insights and Clinical Challenges. *Nature Medicine*, 12 (8), 895-904.

Théon, A.P. et al. (1995). Prognostic factors associated with radiotherapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 206, 991-996.

Tillmann, M.T. et al. (2017). Pacientes com carcinoma de células escamosas - relação do tratamento com o prognóstico. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45(1), 220.

Trerè, D. (2000) AgNOR staining and quantification. *Micron*, 31, p.127-131.

Volante, M. et al. (2004). Prognostic Factors of Clinical Interest in Poorly Differentiated Carcinomas of The Thyroid. *Endocrine Pathology*, 15 (4), 313-317.

Webster, J. D. et al. (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-kit and its role in prognostication. *Veterinary Pathology*. 44, 298-308.

Weiss, E. & Frese, K. (1974). Tumours of the Skin. *Bulletin of the World Health Organization–International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals*, 50 (1-2), 79-100.

2.2 Artigo 2

Avaliação Comparativa dos Sistemas Classificação de Carcinomas de Células Escamosas Cutâneos em Cães por Parâmetros Histomorfológicos ou pelo Grau de Diferenciação

Luísa Grecco Corrêa, Clarissa Caetano de Castro, Luísa Mariano Cerqueira da Silva, Andressa Dutra Piovesan Rossato, Caio Mauricio Amado, Michele Berselli, Fabio Raphael Pascoti Bruhn, Thomas Normanton Guim, Fabiane Borelli Grecco, Cristina Gevehr Fernandes

Será submetido à revista Acta Scientiae Veterinariae

**Comparative Evaluation of Systems Classification of Cutaneous Squamous Cell
Carcinomas in Dogs by Histomorphological Parameters or by the Degree of
Differentiation**

ABSTRACT

Background: Squamous cell carcinoma is a malignant epithelial tumor of keratinocytes. It occurs mainly in glabrous regions, with little or no pigmentation. This neoplasm is composed of heterogeneous cells with varied phenotypes. Currently, the histological classification is based only on the degree of differentiation. This study aims to determine an algorithm for grading cutaneous SCCs from dogs, based on the histomorphological study of these neoplasms.

Materials, Methods & Results: A retrospective and prospective study was carried out of the cases referred to the Veterinary Oncology Service of the Federal University of Pelotas (SOVET - UFPel), from January 2016 to August 2020, diagnosed as cutaneous SCC in dogs. The histological slides of all cases were reviewed and the lesions were graded according to the adapted algorithm of NAGAMINE et al (2017) that assigns scores to histomorphological characteristics (degree of keratinization, invasion pattern, inflammation, nuclear pleomorphism and number of mitoses). The sum of the scores results in a grade of I, II or III, from the least to the most malignant, respectively. After assigning the scores and graduation, each of the cutaneous SCCs were compared regarding their previous diagnosis, which was based only on the degree of differentiation (well differentiated, differentiated and undifferentiated) using the Kappa index. The parameters were also evaluated as prognostic markers by estimates of sensitivity and specificity and positive predictive value. During the study period, 1,669 skin lesions in dogs were diagnosed. Of these, 4.1% (67 / 1,669) cases were cutaneous SCCs in 37 animals with a predominance of Grade I SCCs, considering the algorithm or the differentiated ones, depending on the degree of differentiation. Among all the studied malignancy parameters, score 1 predominated in keratinization and in the invasion pattern, whereas for nuclear pleomorphism, inflammation and mitosis, score 2 was more frequent. Keratinization and nuclear pleomorphism, of score 1, presented higher values of sensitivity (50% and 54%, respectively) and PPV (56.4% and 62%, respectively), inflammation and invasion pattern, of score 2, presented higher values of sensitivity (63% and 57%, respectively) and PPV

(82.2% and 73.2%, respectively), mitoses, of score 4, presented higher value of sensitivity (75%) and PPV (84.1%) and the median survival time was 8.1 months after diagnosis.

Discussion: The ability to predict the prognosis of animals with neoplasms depends on the definition of factors that influence tumor biological behavior. Cutaneous SCCs represented 4.1% of diagnoses of skin lesions, with differentiated grade I SCCs predominating. The invasion pattern is an important prognostic factor. In the present study, the predominant score was 2, covering differentiated, undifferentiated and differentiated SCCs, respectively in that order of occurrence. As for inflammation, a higher frequency of score 2 was obtained in the cases studied, that is, a moderate inflammatory response was found. Score 2 was also predominant in the studied malignancy parameter and quite significant in the case of prognosis, which is mitosis totaling 2-3 mitoses / field, considering the differentiated, undifferentiated and well differentiated SCCs, respectively. The grading of CCEs as a prognostic evaluation criterion suggests that animals with lower grades, such as grade I, have a better prognosis than animals diagnosed with grade II or III.

Keywords: prognosis, SCC, algorithm, dogs, oncology.

INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoplasia maligna de células epidérmicas, de crescimento lento e com potencial metastático [7]. Sugere-se que a exposição à luz ultravioleta seja a principal causa do CCE, com consequente lesão do DNA e mutagênese associada. O CCE cutâneo é uma importante doença nos cães, compreendendo de 3,9% - 10,4% dos diagnósticos de tumores cutâneos e, dependendo da localização geográfica, esse percentual pode ser ainda maior [13]. As regiões expostas a luz solar quando em decúbito dorsal e em estação são as mais acometidas por esse neoplasma [4]

Em medicina veterinária, a classificação histológica é baseada no grau de diferenciação das células neoplásicas onde os CCEs são classificados em bem diferenciados, diferenciados e indiferenciados. O CCE bem diferenciado é aquele que se assemelha ao epitélio escamoso normal com presença de pérolas de queratina. O CCE diferenciado apresenta pleomorfismo nuclear, aumento do número de mitoses e da queratinização e com significativa paraqueratose. Já o CCE indiferenciado, apresenta predomínio de células imaturas com numerosas mitoses e pouca ou nenhuma queratinização, sendo pouco semelhantes ao tecido original [12]. Estudos em humanos evidenciam que classificações que avaliam a morfologia das células neoplásicas produzem diagnósticos com melhor valor prognóstico, o que ainda não é usual em medicina veterinária [7].

Este trabalho tem por objetivo avaliar a aplicabilidade de um algoritmo de classificação e a graduação dos CCEs baseado em aspectos histomorfológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Foi realizado um estudo retrospectivo e prospectivo dos casos encaminhados ao Serviço de Oncologia Veterinária da UFPel (SOVET – UFPel), no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2020, diagnosticados como CCEs cutâneos em cães. Foi realizado um levantamento do banco de dados, buscando-se informações acerca dos animais, que foram categorizados quanto ao sexo (macho ou fêmea), a raça (SRD – sem raça definida ou CRD – com raça definida), idade - 08 [3] (filhotes – até um ano de idade; adultos – de 1 a 9 anos de idade; idosos– acima de 10 anos de idade). Os tumores foram categorizados quanto ao grau de diferenciação atribuído no diagnóstico.

Análise dos Parâmetros de Malignidade

As lâminas histológicas, coradas por hematoxilina-eosina, foram resgatadas dos arquivos do SOVET-UFPel. Todos os casos foram reavaliados por microscopia de luz e as lesões foram graduadas de acordo com o algoritmo adaptado de NAGAMINE et al (2017), descrito no quadro 1 [7]. Os escores atribuídos para cada um dos parâmetros foram somados e resultaram na seguinte graduação: escores de 6 a 10 são enquadrados no grau I, de 11-15 no grau II e de 16-20 no grau III.

Comparação de resultados

Os resultados da graduação dos CCEs cutâneos foram comparados com os resultados da classificação quanto ao grau de diferenciação através do índice Kappa estabelecendo assim, o grau de concordância entre os dois modelos diagnósticos, onde o valor de $k < 0$ indica sem concordância, $k = 0,20$ pouca concordância, $k = 0,50$ moderada concordância, $k = 0,80$ alta concordância. A avaliação foi realizada utilizando-se o programa SPSS® 20.0

Avaliação da sobrevida

O acompanhamento de sobrevida dos animais do estudo foi realizado através do contato telefônico trimestral com os tutores que eram questionados do estado geral do paciente. Em caso de óbito, eram realizadas perguntas visando definir se este decorreu da neoplasia. Foram incluídos animais com no mínimo 12 meses de acompanhamento da sobrevida e que vieram à óbito em função da neoplasia. Os demais foram censurados [Figura 1].

Avaliação dos marcadores prognósticos

A utilidade dos parâmetros do sistema de graduação como marcadores prognósticos foi avaliada por estimativas de sensibilidade e especificidade e valor preditivo positivo (VPP). As avaliações foram realizadas com o uso do Epitools © Ausvet, com a significância estatística estabelecida em $P < 0,05$.

RESULTADOS

Após a utilização do algoritmo para classificação e graduação multifatorial de malignidade e a comparação desse novo sistema com a graduação histológica, observou-se que todas as graduações multifatoriais apresentaram pelo menos dois tipos de graus de diferenciação. Durante o período estudado foram diagnosticadas 1.669 lesões cutâneas em cães. Destes, 4,1% (67/1.669) casos eram CCEs cutâneos em 37 animais. Os cães CRD representaram um total de 48,6% (18/37) animais comparando aos SRD que foram 46% (17/37), 5,4% (2/37) não foi informada a raça. Quanto ao sexo, 54% (20/37) eram machos e 46% (17/37) eram fêmeas. Tratando-se da idade 56,8% (21/37) eram idosos, 37,8% (14/37) adultos e 5,4% (2/37) não foi informado a idade.

Cada uma das características morfológicas foi analisada separadamente e os resultados da graduação dos neoplasmas estão na tabela 1, que evidencia o predomínio dos CCEs grau I com 47,7% (32/67). A comparação da classificação atual (grau de diferenciação) com a graduação aplicada nesse estudo está na tabela 2. Nesta demonstra que os classificados como diferenciados podem ser tanto grau I com 47,7% (32/67), grau II com 18% (12/67) ou grau III com 1,4% (1/67). Na avaliação da queratinização, houve a predomínio do escore 1. Quando avaliados o padrão de invasão, o pleomorfismo nuclear, a inflamação e as mitoses, houve predomínio do escore 2. A relação entre escores e grau de diferenciação estão apresentados na tabela 3.

Quanto a análise estatística através do índice Kappa, o valor obtido foi de $k = 0,266$ no intervalo de 95% de confiança. Ou seja, há pouca concordância entre os dois modelos diagnósticos.

Na avaliação do valor prognóstico dos parâmetros morfológicos, a queratinização e o pleomorfismo nuclear, do escore 1, apresentaram valores maiores de sensibilidade (50% e 54%, respectivamente) e de VPP (56,4% e 62%, respectivamente). Inflamação e padrão de invasão, do escore 2, apresentaram valores maiores de sensibilidade (63% e 57%, respectivamente) e de VPP (82,2% e 73,2%, respectivamente). E mitoses, do escore 4, apresentou valor maior de sensibilidade (75%) e de VPP (84,1%). Os demais valores obtidos para cada escore estão descritos no quadro 2. Quando analisada a sobrevida de cães portadores de CCEs cutâneos, o tempo médio de sobrevida foi de 8,1 meses após o diagnóstico.

DISCUSSÃO

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma das neoplasias epiteliais malignas de maior ocorrência em diferentes espécies sendo diagnosticados a partir do exame histopatológico e classificados de acordo com o grau de diferenciação celular [4]. No SOVet/UFPel, a casuística de 4,1% corrobora a literatura.

O padrão de invasão é um importante fator prognóstico uma vez que o arranjo ou dissociação das células neoplásicas evidenciam o caráter maligno do neoplasma. Esse mecanismo está intimamente ligado ao processo que inicia a progressão para metástases [11]. No presente estudo, foram estudados 67 casos, e o escore predominante foi o 2 abrangendo CCEs diferenciados, indiferenciados e bem diferenciados, da maior para a menor casuística, respectivamente. Diversos autores têm relatado que os CCEs cutâneos em cães e gatos apresentam um comportamento invasivo e eventualmente metastático [5].

Quanto a inflamação, obteve-se o escore 2 na maioria dos casos estudados, ou seja, foi encontrada moderada resposta inflamatória. A presença de infiltrado inflamatório predominantemente de linfócitos e macrófagos intra e peri tumoral de vários tipos neoplasmas em muitas espécies sugere que os tumores podem desencadear uma resposta imune [6]. O recrutamento de células inflamatórias é utilizado para conter o desenvolvimento tumoral, representando uma tentativa do hospedeiro de suprimir o crescimento neoplásico. Sabe-se que a resposta inflamatória induz a liberação de fatores de crescimento, angiogênese, entre outros mecanismos que também possibilitam a progressão neoplásica e a evasão do sistema imune [5]. Entretanto, a presença de inflamação em casos de CCEs cutâneos indica tanto em humanos quanto em animais a correlação com um prognóstico favorável [9].

Quanto a soma de mitoses por campo, o escore 2 foi o mais frequente, com 2 a 3 mitoses/campo. As mitoses por campo vem sendo utilizadas como um fator preditivo do comportamento tumoral e prognóstico em uma ampla variedade de tumores, incluindo neoplasias mamárias [1] e carcinoma de tireoide [10]. Em medicina veterinária, tem sido utilizado em sarcomas de tecidos moles em cães [7], tumores sólidos cutâneos e mamários em cães e gatos e mastocitomas em cães [7].

Conforme a graduação histomorfológica e o grau de diferenciação, foram observadas a predominância de CCEs grau I e diferenciados, seguidos do grau II e diferenciados e grau III e indiferenciados. Vale ressaltar que em todas as graduações histomorfológicas apresentaram pelo

menos dois tipos de grau de diferenciação, evidenciando assim a fragilidade de diagnosticar e de estimar o prognóstico com apenas um parâmetro isolado e superficial, fato que pode ser confirmado através do índice Kappa. Este determina o nível de concordância entre dois métodos distintos com a mesma finalidade diagnóstica.

A capacidade de prever o prognóstico de animais portadores de neoplasias depende da definição de fatores que influenciam o comportamento biológico tumoral [6]. De acordo com a avaliação dos parâmetros morfológicos como preditores prognósticos, foi observada maior sensibilidade nos escore 1 (queratinização e pleomorfismo nuclear), 2 (inflamação e padrão de invasão) e 4 (mitoses). Deve-se considerar que a maior sensibilidade de um teste em relação a especificidade é mais benéfica na rotina oncológica [2], uma vez que a sensibilidade detecta os pacientes verdadeiramente acometidos pelo neoplasma, além de estimar o prognóstico do paciente, podendo ainda inferir o risco de óbito e a sobrevida dos mesmos.

O tempo médio de sobrevida pós cirúrgica foi de 8,1 meses e para os animais não tratados foi de um mês [4]. A média de sobrevida, descrita na literatura para animais com e sem tratamento, foi de 5,4 meses [8].

É notável, através desse estudo, a necessidade de analisar todas as características morfológicas dos CCEs cutâneos, uma vez que somente o grau de diferenciação não representa um valor prognóstico significativo podendo não corresponder com a realidade, interferindo assim na escolha da intervenção terapêutica adequada para cada caso bem como no controle da progressão dessa neoplasia.

CONCLUSÃO

O carcinoma de células escamosas cutâneos representaram 4,1% dos diagnósticos de lesões cutâneas em cães, tendo predominado os CCEs de Grau I, considerando o algoritmo de Nagamine et al (2017) ou os diferenciados, conforme o grau de diferenciação. De acordo com os dois sistemas, predominaram os CCEs de grau I diferenciados, com sensibilidade superior a

especificidade quando aplicado a graduação multifatorial de malignidade. E a utilização da graduação multifatorial demonstrou resultados positivos quanto ao prognóstico.

Ethical approval: A execução desse projeto está aprovada pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) sob número de registro 7003 e será desenvolvido em acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaration of interes: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

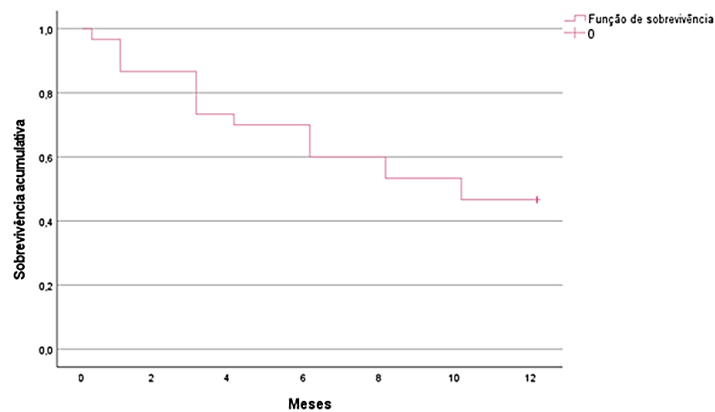
REFERÊNCIAS

- 1 Biesterfeld, S. & Reitmaier, M. 2001.** 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.
- 2 Coletto, A.F. et al. 2016.** Profile cytological tests, sensibility and specificity of fine needle puncture into skin and subcutaneous samples in dogs. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.38(3), p.311-315.
- 3 Figuera R.A. 2008.** Causas de morte e razões para eutanásia de cães. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 172p.
- 3 Goldschmidt, M.H. & Hendrick, M.J. 2017.** Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Meuten, D.J. Tumors in Domestic Animals. 5th Ed. Ames: Iowa State Press,. P.44-117.

- 4 Guim, T.N. 2010.** Avaliação Da Sobrevida e de Marcadores Histomorfológicos Como Potenciais Fatores Prognósticos Para Carcinoma De Células Escamosas Em Cães E Gatos. *Dissertação*. Universidade Federal De Pelotas.
- 5 Kusewitt, D.F. & Rush, L.J. 2009.** Neoplasia e Biologia Tumoral. Ed. Rio De Janeiro: *Elsevier*, p. 253-298.
- 6 Magalhães, P.L. 2017.** Imunomarcção dos Receptores de Egf (Egfr E C-ErbB2) no Carcinoma de Células Escamosas em Cães. *Dissertação*. Universidade Federal de Viçosa.
- 7 Nagamine, E. et al. 2017.** Invasive Front Grading and Epithelia-Mesenchymal Transition in Canine Oral and Cutaneous Squamous Cell Carcinomas. *Veterinary Pathology*. Vol. 54(5), P.783-791.
- 8 Rogers, K.S.; Helman, R.G.; Walker, M.A. 1995.** Squamous cell carcinoma of the canine nasal planum: eight cases (1988-1994). *Journal of the American Animal Hospital Association*. v.31, p.377-378.
- 9 Ropponen, K.M. et al. 1997.** Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (tils) in colorectal cancer. *Journal of Pathology*, v.182, p.318-324
- 10 Steeg, P.S. 2006.** Tumor Metastasis: Mechanistic Insights and Clinical Challenges. *Nature Medicine*. V.12, P.895-904.
- 11 Volante, M., Cavallo, G.P. & Papotti, M. 2004.** Prognostic Factors of Clinical Interest in Poorly Differentiated Carcinomas of The Thyroid. *Endocrine Pathology*. V.15, P.313- 317.
- 12 Weiss, E.; Frese, K. 1974.** Tumours of the Skin. *Bulletin of the World Health Organization—International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals*, v. 50 n. 1-2, p. 79-100.
- 13 Willcox, J.L. et al. 2019.** Clinical features and outcome of dermal squamous cell carcinoma in 193 dogs (1987-2017). *Veterinary and Comparative Oncology*. v.17, p. 130–138.

LEGENDA

Figura 1. Curva de sobrevida de 30 cães diagnosticados com CCE cutâneo no SOVET-UFPeI (2016-2020).



Quadro 1. Algoritmo de classificação histomorfológica dos Carcinomas de Células Escamosas cutâneos em cães (Nagamine et al. 2017).

Características morfológicas	Escore			
	1	2	3	4
Queratinização	Marcada (>50% das células)	Moderada (20-50% das células)	Mínima (5%-20% das células)	Ausente (0-5% das células)
Padrão de invasão	Expansivo (compressivo), bem demarcado, bordas infiltrativas	Cordões sólidos, bandas, feixes	Pequenos grupos de cordões	Dissociados, com células individuais
Inflamação	Marcada	Moderada	Mínima	Ausente
Pleomorfismo nuclear	Baixo	Moderado	Abundante	Extremo
Mitoses por campo	0-1	2-3	4-5	>5

Grau I (escores 6–10), Grau II (escores 11–15), Grau III (escores 16–20).

Quadro 2. Sensibilidade, especificidade, VPP de variáveis úteis como preditores prognósticos para Carcinomas de Células Escamosas cutâneos em cães diagnosticados no SOVet-UFPel.

Escore	Parâmetro	Sensibilidade	Especificidade	VPP
1	Queratinização	50	56	56,4
	Padrão de invasão	44	52	46
	Pleomorfismo Nuclear	54	57	62
	Inflamação	50	54	54,1
	Mitoses	75	63	96,4
2	Queratinização	50	54	54,1
	Padrão de invasão	57	62	73,2
	Pleomorfismo Nuclear	41	50	41,4
	Inflamação	63	63	82,2
	Mitoses	30	40	25,6
3	Queratinização	25	50	25,6
	Padrão de invasão	25	50	25,6
	Pleomorfismo Nuclear	42	52	44
	Inflamação	37	50	37,5
	Mitoses	20	48	19,8
4	Queratinização	50	54	54,1
	Padrão de invasão	33	51	34,2
	Pleomorfismo Nuclear	0	53	0
	Inflamação	0	48	0
	Mitoses	75	57	84,1

Tabela 1 - Classificação histológica dos CCEs cutâneo em cães diagnosticados no SOVET-UFPeI (2016-2020).

Graduação	CCEs cutâneos
	n (%)
Grau I	36 (47,7)
Grau II	22 (34,3)
Grau III	9 (18)
Total	67 (100)

Tabela 2 - Carcinomas de células escamosas cutâneos em cães diagnosticados no SOVET-UFPeI (2016-2020) classificados conforme graduação histomorfológica e ao grau de diferenciação.

Graduação	CCE bem diferenciado	CCE diferenciado	CCE indiferenciado	Totais n (%)
	n (%)	n (%)	n (%)	
Grau I	3 (4,4)	32 (47,7)	1 (1,4)	36 (53,7)
Grau II	-	12 (18)	10 (14)	22 (33)
Grau III	-	1 (1,4)	8 (12)	9 (13,4)
Totais	3 (4,4)	45 (67,1)	19 (28,3)	67 (100)

Tabela 3 - Distribuição dos escores dos CCEs cutâneos em cães diagnosticados no SOVET-UFPEL (2016-20) de acordo com o grau de diferenciação.

Parâmetro	Escore	Grau de diferenciação			Totais
		Bem diferenciado	Diferenciado	Indiferenciado	
Queratinização	1	1	25	-	26
	2	2	17	3	22
	3	-	3	6	9
	4	-	1	9	10
Padrão de invasão	1	-	14	5	19
	2	3	26	11	24
	3	-	5	-	5
	4	-	-	3	3
Pleomorfismo nuclear	1	1	22	1	24
	2	2	19	6	27
	3	-	4	12	16
	4	-	-	-	-
Inflamação	1	2	9	3	14
	2	1	20	13	34
	3	-	11	3	14
	4	-	5	-	5
Mitoses	1	1	18	1	11
	2	1	21	2	20
	3	-	6	8	10
	4	-	1	8	4

3 Considerações Finais

- 1) A graduação dos CCEs como critério de avaliação prognóstica sugere que animais com graus mais baixos, como os de grau I, apresentam prognóstico melhor que animais diagnosticados com grau II ou III;
- 2) A avaliação do índice Kappa ($k = 0,266$) no intervalo de 95% de confiança, indica que há pouca concordância entre os modelos diagnósticos;
- 3) O tempo médio de sobrevida de cães portadores de CCEs cutâneos foi de 8,1 meses após o diagnóstico;
- 4) Valores com maiores sensibilidades e VPP foram observados nos escore 1 (queratinização e pleomorfismo nuclear), 2 (inflamação e padrão de invasão) e 4 (mitoses), infere o risco de óbito e a sobrevida dos pacientes além de estimar o prognóstico dos mesmos.

Referências

- BASTOS, R.S.C. et al. Estudo retrospectivo de neoplasias cutâneas em cães da região metropolitana de Fortaleza. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.11, n.1, p. 39–53, 2017.
- 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, n.1, p.589-594, 2001.
- BONHIN, R. G.; CARVALHO, G. M.; GUIMARÃES, A. C.; et al. Correlação histológica da expressão do Ki-67 no carcinoma epidermóide glótico de acordo com o grau de diferenciação celular. **Brazilian Journal Otorhinolaryngology**, v. 80, n. 4, p. 290-295, 2014.
- BRODERS, A. C.: Cancer's Self-Control, **M. J. & Rec.** v.121, n.1 p.133-135, 1925.
- BRYNE, M. et al. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. **Journal of Pathology**, v. 166, n.4, p.375-381, 1992.
- BURTON, K.A. et al. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Review of High-Risk and Metastatic Disease. **American Journal of Clinical Dermatology**, v.17, n.5, p.491–508, 2016.
- CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas - revisão. **Clínica Veterinária**, n.61, n.11, p.56-64, 2006.
- COLETO, A.F. et al. 2016. Profile cytological tests, sensibility and specificity of fine needle puncture into skin and subcutaneous samples in dogs. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.38, n.3, p.311-315.
- DALECK, C. R; DE NARDI, A.B. **Oncologia em cães e gatos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2016, 766 p.
- DAVIS, B.P.; ROTHENBERG, M.E. Eosinophils and cancer. **Cancer immunology research**. v. 2, n. 1, p. 1-8, 2014.
- DE NARDI, A. B. et al. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

- DEVITA Jr.; et al. **Cancer: principles and practice of oncology**. 7. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, 3120p.
- FIGHERA R.A. Causas de morte e razões para eutanásia de cães. *Tese*. **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, RS, 172p. 2008
- GOLDSCHMIDT, M.H.; GOLDSCHMIDT, K. H. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In: Meuten, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 5.ed. Ames: Iowa State Press, p.97-99, 2017.
- GROSS, T.L. et al. **Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis**. 2. ed. Oxford: Blackwell Science, p.560-603, 2005.
- GUIM, T.N. Avaliação Da Sobrevida e de Marcadores Histomorfológicos Como Potenciais Fatores Prognósticos Para Carcinoma De Células Escamosas Em Cães E Gatos. *Dissertação*. **Universidade Federal De Pelotas**, 65p. 2010.
- HOGGARD, N. et al. Localization Of *Felis Catus Papillomavirus* Type 2 E6 And E7 Rna In Feline Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Veterinary Pathology**. v. 55, n.3, p.409-416, 2018.
- HORTA, R. S.; LAVALLE, G. E. O câncer em pequenos animais. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia: Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, Ano XI, n. 70, p. 9-10, set, 2013.
- KESARKAR, K. et al. Evaluation of Mitotic Figures and Cellular and Nuclear Morphometry of Various Histopathological Grades of Oral Squamous Cell Carcinoma. **Sultan Qaboos University Medicine Journal**. v.18, n.2, p.149-154, 2018.
- KUSEWITT, D.F.; RUSH, L.J. **Neoplasia e Biologia Tumoral**. 1 ed. Rio De Janeiro: Elsevier, p. 253-298, 2009.
- LASCELLES, B.D.X. et al. Squamous cell carcinoma of the nasal planum in 17 dogs. **Veterinary Record**. v.147, n.17, p.473-476, 2000.
- LIMA, S.R. et al. Neoplasmas cutâneos em cães: 656 casos (2007-2014) em Cuiabá, MT. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.7, versão online, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5534>>.
- LOURENÇO, S.Q.C. et al. Classificações Histopatológicas para o Carcinoma de Células Escamosas da Cavidade Oral: Revisão de Sistemas Propostos. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v.53, n.3, p.325-333. 2006.
- MAGALHÃES, P.L. Imunomarcagem dos Receptores de Egf (Egfr E C-ErbB2) no Carcinoma de Células Escamosas em Cães. *Dissertação*. 55p. **Universidade Federal de Viçosa**, 2017.

MAIOLINO P.; et al. Angiogenesis in squamous cell carcinomas of canine skin: an immunohistochemical and quantitative Analysis. **Journal of Comparative Pathology**. v.125, n. 2-3, p. 117-121, 2001.

MAULDIN, E.A.; PETERS-KENNEDY, J. Neoplastic and Reactive Diseases of the Skin. In: Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of Domestic Animals. 6th v.3. St Louis, Missouri: **Elsevier**, p.712-714, 2016.

MARTINS, D. B. et al. Biologia tumoral no cão: Uma revisão. **Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v.9, n.31, p. 630- 637, 2011.

MELO, A.M.C et al. Carcinoma De Células Escamosas Em Felino Doméstico – Relato De Caso. 2018. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Ano X – n.30, 2018.

MENEZES, L.B.de; et al. Squamous Cell Carcinoma Oral in Young Feline. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.38, n.3, p. 323-326, 2010.

MINTON, K. Granulocytes: Eosinophils enable the antitumour T cell response. **Nature Reviews Immunology**, v.15, n.6, p. 333-333, 2015.

MURPHY, S. Squamous Cell Carcinoma in Cats. In: Susan E. Little. **August's Consultations in Feline Internal Medicine**, v.7, p. 526-534, 2016.

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

ROPPONEN, K.M. et al. Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (tils) in colorectal cancer. **Journal of Pathology**, v.182, n.3, p.318-324, 1997.

ROGERS, K.S. et al. Squamous cell carcinoma of the canine nasal planum: eight cases (1988-1994). **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.31, n.5, p.377-378, 1995.

SAMARASINGHE V. et al. Management of high-risk squamous cell carcinoma of the skin. **Expert Review of Anticancer Therapy**, v.11, n.5, p.763-769.

SILVEIRA, L.M.G.; et al. Utilização de eletroquimioterapia em neoplasias de origem epitelial ou mesenquimal localizadas em pele ou mucosas de cães. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.47, n. 1, p. 55-66, 2010.

STEEG, P. S. Tumor Metastasis: Mechanistic Insights and Clinical Challenges. **Nature Medicine**, v.12, n.8, p.895-904, 2006.

THÉON, A.P. et al. Prognostic factors associated with radiotherapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.206, n.7, p.991-996, 1995.

TILLMANN, M.T. et al. Pacientes com carcinoma de células escamosas - relação do tratamento com o prognóstico. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.45, n.1, p220, 2017.

TREERÈ, D. AgNOR staining and quantification. **Micron**, v.31, n.2, p.127-131, 2000.

VOLANTE, M., CAVALLO, G.P.; PAPOTTI, M. Prognostic Factors of Clinical Interest in Poorly Differentiated Carcinomas of The Thyroid. **Endocrine Pathology**. v.15, n.4, p.313- 317, 2004.

WEBSTER, J. D. et al. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-kit and its role in prognostication. **Veterinary Pathology**. v.44, n.3, p.298-308, 2007.

WEISS, E.; FRESE, K. International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals: Tumours of the skin. **Bull. World Health Organization**, v.50, n.1/2, p.79-100, 1974.

WILLCOX, J.L. et al. Clinical features and outcome of dermal squamous cell carcinoma in 193 dogs (1987-2017). **Veterinary and Comparative Oncology**. v.17, n.3, p. 130–138. 2019.

Anexos

Anexo I - Ficha de acompanhamento de pacientes oncológicos.



ID Clínica: _____ ID SOVet: _____
Paciente: _____ Tutor: _____
Contato: () _____ / _____

Data do procedimento: _____

Data do diagnóstico: _____

Diagnóstico histopatológico: _____

Data do contato: _____

Estado geral do paciente:

ótimo bom regular ruim péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

não sim - Qual?

dificuldade respiratória dificuldade de locomoção sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros) não sabe

outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

não sim – Onde? _____

não sabe informar

Em caso de óbito – Data do óbito: _____

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 _____

Anexo II - Ficha de encaminhamento para exame anatomopatológico.



Solicitação de Exame Anatomopatológico

Necropsia / Peças Cirúrgicas

Patologista: _____

Uso do SOVET
ID SOVET: _____

Data entrada: ____/____/2021

Valor: _____

Paciente

Nome: _____ Ficha clínica: _____ Espécie: _____ Raça: _____
Idade: _____ Sexo: _____ Castrado(a): Sim Não NI Contraceptivos: Sim Não NI

Condição Corporal /
Escore:

Subalimentado			Ideal			Superalimentado		
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Peso: _____ kg

Tutor(a)

Nome: _____ Fone: _____ Email: _____
Endereço: _____ Cidade: _____

Clínica / Veterinário(a)

Veterinário(a): _____ Fone: _____ E-mail: _____
Clínica: _____ Endereço: _____

Histórico Clínico

Data cirurgia/Óbito: ____/____/2021. Paciente já fez exame no SOVET? Sim: Não: NI:
Citologia: _____ US: _____ RX: _____
Metástase: Linfonodo Qual? _____ Outras: Local: _____
Descrição: _____

Requisição: Biopsia Necropsia

Número de amostras: _____ Material enviado: _____

