



Carcinoma de células escamosas em terceira pálpebra de felino

Squamous Cell Carcinoma in Third Eyelid of Cat

Maria Eduarda Bastos Andrade Moutinho da Conceição¹, Danielli Martinelli Martins², Paulo Henrique Leal Bertolo³, Daniella Kaísa de Oliveira Bezerra⁴, Carmina Daniela Costa Ferreira da Silva⁵, Lucien Roberta Valente Miranda de Aguirra², Rosemeri de Oliveira Vasconcelos³ & Washington Luiz Assunção Pereira²

ABSTRACT

Background: The third eyelid neoplasms are uncommon in cats. The squamous cell carcinoma are easily found in head and neck of same specie, although is unusual in eye region. The more common localization is eyelid and eyeball, being 60 and 15%, respectively. It could be diagnosed by cytology, histopathology, immunohistochemistry and molecular biology. The surgery is more effective treatment, because the tumor can be totally removed and it must available surgical margin. The aim of this study was to report a case of squamous cell carcinoma in third eyelid of a cat and show how it was treated with radical surgery.

Case: A 11-year-old spayed female domestic short-haired white and black colored cat was presented for evaluation at Maria Dias Teixeira Hospital of Amazonia Federal Rural University (UFRA), of an red ocular mass fast growth in the left eye for 2 months. Physical exam was within normal limits. The animal presented discomfort on the region, when it was manipulated. The mass was ulcerated and blood-tinged ocular discharge, had 3.3 x 2 cm, beginning on third eyelid and overlay all the eyeball. Blood was collated to make exams. Complete blood count and serum chemistry profiles were within normal ranges, but leukocytes were increased and it was treated with Amoxicillin (22 mg/kg). It was performed biopsy to histopathology and immunohistochemistry diagnose, and radiography and ultrasonography to found metastasis. Ocular tissues were fixed in 10% formalin and processed routinely for histological examination. Sections were stained with hematoxylin and eosin and diagnosed poorly differentiated Squamous cell carcinoma. Immunohistochemistry was performed using anti-cytokeratin 1:200, anti-vimentin 1:150 and anti-actin alpha smooth muscle 1:700 antibodies. The tumor cells were positive for cytokeratin and negative for vimentin. In tumor stroma was immunostaining of myofibroblasts by actin alpha smooth muscle. Because of malignment and infiltrative neoplasm, it was chosen to perform eye and eyelid enucleation. At post-operative evaluation no complication was found and in ten days, surgical wound was held. Seven months post-operative no neoplastic tissue had growth on local.

Discussion: A retrospective study at Belem and some close cities, which took all neoplasms and classified, found only 1.5% of ocular neoplasms, and no one was in cats. Similarly occurred with another study, that 1.21% out of ocular masses, just 12.5% was diagnosed in cats, showing how uncommon is ocular neoplasm in cats. Including these lesions, less of them are only in third eyelid. Ultraviolet radiation is the most related probably causes of squamous cell carcinoma. At Belem City ultraviolet radiation is very high, can be 11 in some stations, in a scale of 0 to 14, the medial temperature is 27°C. Another factor that could influence squamous cell carcinoma progress is skin color, animals' with skin is light have more probably to develop this neoplasm. On our case, close to eye, skin was dark, although the carcinoma was growth at third eyelid mucosa, a local that have no protection to ultraviolet radiation. Myofibroblasts observed in the tumor stroma are important in the invasion process of this tumor in humans. The treatment used in this case was radical surgery, with no other adjuvant, what is indicate for some authors. Another authors prefer excise only third eyelid, but sometimes it is not possible, because this kind of neoplasm is very infiltrate. The localization and the nodular form of squamous cell carcinoma found in this study is uncommon, mainly in cats. Histopathological and immunohistochemical analysis were important for definitive diagnostic. The treatment by enucleation of eyeball and removing the eyelids was effective, without relapse in 7 months after surgery.

Keywords: oncology, ophthalmology, ocular neoplasm, feline.

Descritores: oncologia, oftalmologia, neoplasia ocular, feline.

Received: 23 April 2016

Accepted: 20 September 2016

Published: 10 October 2016

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil. ²Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, PA, Brazil. ³Departamento de Patologia Veterinária, FCAV, UNESP, Jaboticabal. ⁴Hospital Veterinário, Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal, PA, Brazil. ⁵Clínica Veterinária UniPet, Belém, PA. CORRESPONDENCE: M.E.B.A.M. Conceição [eduarda.bamoutinho@gmail.com - Tel.: +55 (16) 98246-0215]. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n. CEP 14884-900 Jaboticabal, SP, Brazil.

INTRODUÇÃO

As neoplasias de terceira pálpebra são incomuns em gatos, já tendo sido diagnosticado melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (CCE), mastocitoma, papiloma, heman-gioma e linfoma [11].

O CCE é rotineiramente identificado nas regiões de cabeça e pescoço de gatos, sendo o tumor de pele mais diagnosticado nessa espécie [15], contudo apresenta baixa ocorrência em região ocular [8]. Dentre as neoplasias encontradas na região ocular, os locais mais afetados são as pálpebras e órbita, correspondendo a cerca de 60 e 15%, respectivamente [5].

O diagnóstico é obtido através de citologia, histopatologia, imuno-histoquímica e biologia molecular, estes dois últimos podem ser utilizados quando a análise histopatológica é inconclusiva [1].

Diversos métodos podem ser utilizados no tratamento, a escolha do melhor deles deve levar em conta o tamanho do tumor, o grau de desenvolvimento e a invasão tecidual, além de estado geral do paciente e disponibilidade de equipamentos [7].

O tratamento cirúrgico apresenta maior eficácia, pois garante a retirada do tumor e a avaliação das margens cirúrgicas [7]. É imprescindível a remoção de ampla margem, para evitar recidiva local, sendo necessário, em alguns casos, realizar cirurgias radicais como a nosectomia, conchectomia e enucleação [3,6].

Diante do exposto, objetivou descrever um caso de CCE em terceira pálpebra de um gato, tratado com cirurgia radical de enucleação de globo ocular e excisão de estruturas anexas.

CASO

Foi atendido no setor de clínica cirúrgica do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural da Amazônia (HOVET- UFRA), um felino fêmea, sem raça definida, com dez anos de idade, pelagem preta e branca, exibindo nodulação em região ocular. À anamnese, proprietário informou que a tumoração apresentou crescimento rápido, tendo sido notada há cerca de dois meses, e o animal se mostrava incomodado e coçava com frequência o local.

Ao exame físico observaram-se parâmetros fisiológicos normais e linfonodos submandibulares sem alteração a palpação. O nódulo apresentou aspecto vegetativo, consistência firme, superfície irregular e com ulceração, e cerca de 5 cm de com-

primento x 2,0 cm de largura, em região ocular esquerda impedindo a visualização do globo ocular (Figura 1A), acometendo aparentemente apenas a terceira pálpebra (Figura 1B).

O animal foi submetido a biopsia incisional, para análise histopatológica e imuno-histoquímica, exames hematológicos (hemograma, enzimas renais e hepáticas) e de imagem (ultrassonografia e radiografia torácica), para pesquisa de metástases. O hemograma mostrou alteração na contagem de leucócitos (64500/mm³), instituindo o emprego de Amoxicilina 22 mg/kg a cada 12 h, durante 10 dias. Os demais exames encontravam-se dentro da normalidade.

A análise histopatológica revelou parênquima constituído por multi lóbulos (aspecto couve-flor). As células apresentaram atipia de morfologia epidermoide, com nucléolos grandes e abundantes mitoses, algumas atípicas. Estroma tumoral com infiltrado linfoplasmocitário notável. O diagnóstico morfológico foi de CCE de terceira pálpebra pouco diferenciado (Figura 2A).

Na análise imuno-histoquímica foram utilizados anticorpos anti-citoqueratina¹ 1:200 (clone AE1/AE3, DakoCytomation, Cód. M3515), anti-vimentina² 1:150 (clone V9, DakoCytomation, Cód. M0725) por meio do complexo estreptavidina-biotina-peroxidase¹ (kit LSAB+System HRP, DakoCytomation, Cód. K0690-1), e anti- α actina de músculo liso³ 1:700 (clone 1A4, DakoCytomation, Cód. W110) por meio de complexo de polímeros ligados a peroxidase¹ (kit Advance HRP, DakoCytomation, Cód. K4068). Para os anticorpos anti-citoqueratina e anti-vimentina a recuperação antigênica foi feita pelo calor em câmara de pressão Pascal¹ (DakoCytomation, modelo S2800) com solução tampão de citrato de sódio pH=6. A inibição das reações inespecíficas foi realizada por meio de bloqueio duplo, com solução de metanol + peróxido de hidrogênio a 10% e com produto comercial¹ (Protein Block, DakoCytomation, Cód. X0909). Para o anticorpo anti- α actina de músculo liso não foi realizada recuperação antigênica e a inibição das reações inespecíficas foi realizada por meio de bloqueio triplo, com solução de metanol + peróxido de hidrogênio a 8%, bloqueio do leite a 8% e produto comercial¹ (Protein Block, DakoCytomation, Cód. X0909). Como cromógeno utilizou-se DAB¹ (3-3'diaminobenzidina, DakoCytomation, Cód.

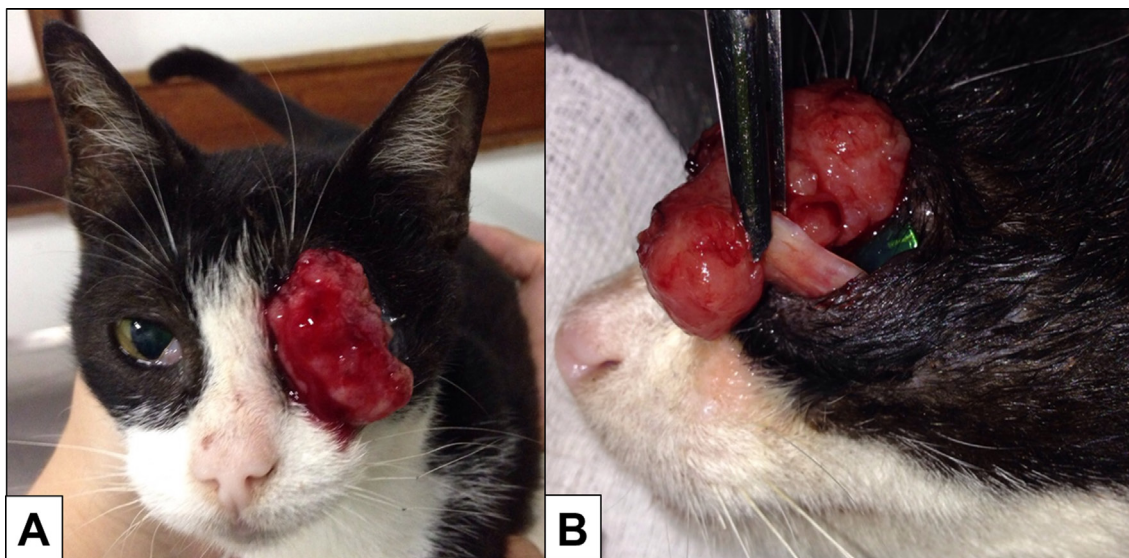


Figura 1. Avaliação do tumor em terceira pálpebra do gato. A- Presença de nódulo avermelhado, de consistência firme, aspecto vegetativo, ulcerado, não aderido a planos profundos, medindo 5x2 cm, em região ocular esquerda. B- Tumoração afetando a terceira pálpebra do animal.

K3468) e os cortes do tumor foram contra corados com hematoxilina de Harris.

Houve imunomarcagem acentuada e difusa no citoplasma de células tumorais pela citoqueratina (Figura 2B), e no citoplasma de células do tecido de sustentação pela vimentina (Figura 2C), confirmando a origem epitelial do tumor. Os miofibroblastos em meio ao estroma tumoral apresentaram marcação acentuada para o anticorpo anti- α actina de músculo liso (Figura 2D).

Após avaliação histopatológica e imunohistoquímica exibir neoplasia maligna altamente infiltrativa, optou-se por realizar cirurgia de exérese da neoplasia juntamente a enucleação de globo ocular e estruturas anexas.

No pré-operatório imediato, utilizou-se benzilpenicilina benzatina⁴ (40000 UI/kg) por via intramuscular, e meloxicam⁵ (0,2 mg/kg) por via subcutânea. Para indução anestésica empregou-se associação de cloridrato de cetamina⁶ (10 mg/kg) e cloridrato de xilazina⁶ (0,8 mg/kg) por via intravenosa.

A cirurgia procedeu-se por exérese da neoplasia, membrana nictitante e glândula lacrimal. Em seguida realizou-se cantotomia por incisão com bisturi, divulsão das estruturas periorbitais (conjuntiva e músculos extra-oculares) com tesoura de Metzbaum curva, isolamento da artéria e veia oftálmicas, bem como nervo óptico. Realizou-se ligadura dos vasos utilizando fio cat gut cromado 2-0, secção dos mesmos e retirada do globo ocular. Procedeu-se redução do

espaço morto empregando o mesmo fio, excisão das pálpebras superior e inferior e fechamento da pele com pontos simples separados com fio de nylon 3-0.

No pós-cirúrgico imediato foi observada pequena quantidade de secreção serosa, sem comprometimento do tempo de cicatrização da ferida cirúrgica. Cerca de sete meses após cirurgia, o animal passou por nova avaliação clínica, não apresentando qualquer alteração no estado geral, bem como recidiva ou metástase local (Figura 3A e 3B).

DISCUSSÃO

Em estudo retrospectivo de neoplasias em cães e gatos, na região metropolitana de Belém, as neoplasias oculares em geral representaram apenas 1,5% do total, não havendo descrição de ocorrência em felinos [14]. De forma semelhante, Hesse *et al.* [5] encontraram 1,21% de lesões oculares em todas as biopsias realizadas em cinco anos, sendo que dentre esses, apenas 12,5% era em felinos. Confirmando o achado incomum da neoplasia descrita no presente relato.

Alguns autores relataram lesões neoplásicas envolvendo várias estruturas oculares em felinos [5,11,12]. Contudo poucas estão relacionadas a terceira pálpebra, principalmente as que acometem esta região de forma isolada, como já foi relatado em um cão [13].

A radiação solar é o principal fator predisponente do CCE, desta forma, é mais comum em regiões

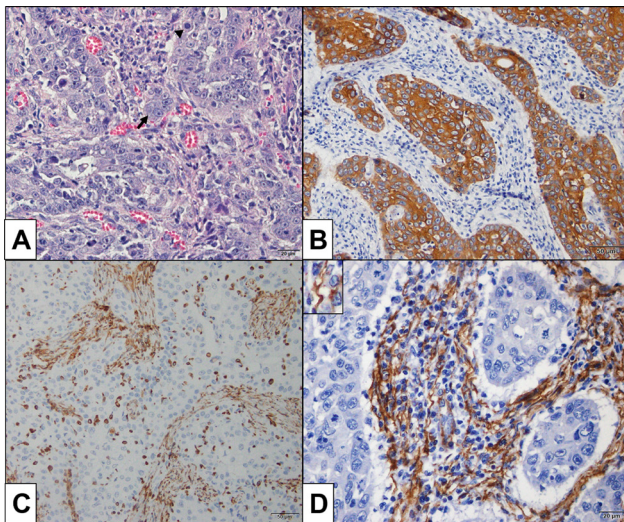


Figura 2. Avaliação histopatológica e imuno-histoquímica do tumor. A- Microscopicamente o tumor apresentou células atípicas de morfologia epidermóide, algumas multinucleadas (seta), com pleomorfismo celular, mitoses típicas e algumas atípicas (cabeça de seta), estroma tumoral com infiltrado linfoplasmocitário [HE, 40x]. B- Imunomarcagem difusa e acentuada no citoplasma das células neoplásicas para o anticorpo anti-citoqueratina [Obj, 20x]. C- Imunomarcagem no citoplasma de células do tecido de sustentação para o anticorpo anti-vimentina [Obj, 20x]. D- Imunomarcagem acentuada de miofibroblastos em meio ao estroma tumoral para o anticorpo anti- α actina de músculo liso (detalhe) [Obj, 40x].

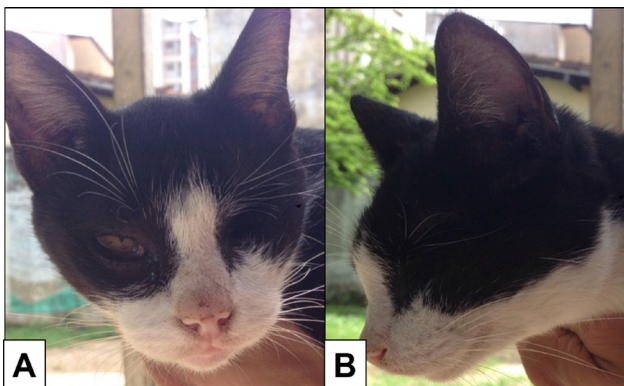


Figura 3. Felino sete meses após cirurgia de enucleação de globo ocular, não apresenta qualquer sinal de recidiva local da neoplasia. A- Vista lateral. B- Vista frontal.

tropicais e grandes altitudes [2]. Na cidade de Belém, PA são registrados índices de radiação ultravioleta elevados durante a maior parte do ano, chegando a 11 em uma escala de zero a 14, o que é considerado muito alto, e temperatura média anual de 27°C [4].

A pelagem clara é fator considerado relevante, sobretudo em regiões de pouca cobertura de pelos [3], corroborando com o caso, sendo esses os fatores de risco mais relacionados à neoplasia, já que atingiu região de mucosa, a qual não apresentava pigmentação ou proteção pilosa, da mesma forma,

o animal vivia em região tropical e tinha acesso à exposição solar.

A neoplasia descrita neste estudo mostrou aspecto de massa avermelhada, firme e ulcerada, semelhante ao descrito por Pelrmann *et al.* [12], por sua vez, quando encontrado em plano nasal e pavilhão auricular, o CCE apresenta-se sob a forma de lesões crostosas e ulceradas, sem nodulações evidentes [6].

As características histopatológicas do tumor foram compatíveis com CCE pouco diferenciado [10]. Os miofibroblastos observados no estroma tumoral por meio da técnica de imuno-histoquímica parecem possuir papel importante no processo de invasão desta neoplasia, provavelmente em decorrência da modulação da expressão de fatores de crescimento, citocinas, componentes da matriz extracelular e enzimas proteolíticas como foi proposto em CCE oral em humanos [9].

Tratamento cirúrgico radical de enucleação de globo ocular foi utilizado no presente trabalho sem nenhum outro adjuvante, corroborando o descrito por Ferreira *et al.* [3], que realizaram cirurgia radical no tratamento desse tipo neoplásico e ainda recomendaram a associação com quimioterapia e radioterapia. Por outro lado, alguns autores preconizam a retirada apenas da neoplasia e da terceira pálpebra, permanecendo o globo intacto [13].

Contudo, sabe-se que CCE é altamente invasivo, podendo haver recidivas e disseminação local do tumor, levando a eutanásia por falta de qualidade de vida para o animal [11], desta forma preconiza-se retirada de ampla margem cirúrgica, havendo muitas vezes necessidade de cirurgias radicais [6].

A localização e a forma nodular do CCE encontrado nesse estudo é incomum, principalmente em gatos. A análise histopatológica e imuno-histoquímica foram importantes para obter o diagnóstico definitivo. O tratamento por enucleação de globo ocular e remoção das pálpebras mostrou-se efetivo, não havendo recidiva em sete meses após a cirurgia.

MANUFACTURERS

¹Dako North America Inc. Carpinteria, CA, USA.

²Dako Denmark. Glostrup, Denmark.

³Diagnostic BioSystems. Pleasanton, CA, USA.

⁴Teuto Brasileiro S/A. Anápolis, GO, Brazil.

⁵Ourofino Saúde Animal Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁶Ceva Saúde Animal Ltda. Paulínia, SP, Brazil.

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

REFERENCES

- 1 **Conceição L.F., Ribeiro A.P., Piso D.Y.T. & Laus J.L. 2010.** Considerations about ocular neoplasia of dogs and cats. *Ciência Rural*. 40(10): 2235-2242.
- 2 **Cossi L.B., Lima S.S.S. & Andrade A.L. 2015.** Expressão da proteína p53 em carcinoma de células escamosas corneal em cães. *Semina: Ciências Agrárias*. 36(3): 1385-1396.
- 3 **Ferreira I., Rahal S.C., Ferreira J. & Correa T.P. 2006.** Terapêutica no carcinoma de células escamosas cutâneo em gatos. *Ciência Rural*. 36(3): 1027-1033.
- 4 **Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais-INPE. 2016.** Divisão de satélites e sistemas ambientais. Índice ultravioleta. [Fonte:< <http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>>]. [Accessed February 2016].
- 5 **Hesse K.L., Fredo G., Guimarães L.L.B., Reis M.O., Pigatto J.A.T., Pavarini S.P., Driemeier D. & Sonne L. 2015.** Neoplasmas oculares e de anexos em cães e gatos no Rio Grande do Sul: 265 casos (2009 -2014). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 35(1): 49-54.
- 6 **Huppés R.R., De Nardi A.B., Usategui R.A.R., Pazzini J.M. & Castro J.L.C. 2014.** Nosectomia em felinos portadores de carcinoma espinocelular - Relato de sete casos. *Semina: Ciências Agrárias*. 35(2): 919-926.
- 7 **Kraegel S.A. & Madewell B.R. 2004.** Tumores da pele. In: Ettinger S.J. & Feldmann E.C. (Eds). *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.555-557.
- 8 **Lima D.B.C., Silva I.R.M., Moraes K.G., Belchior F.C. & Rodrigues M.C. 2013.** Carcinoma de células escamosas em região ocular e periocular de gato doméstico. *Pubvet*. 7(19): 242.
- 9 **Lúcio P.S.C., Cavalcanti A.L., Alves P.M., Godoy G.P. & Nonaka C.F.W. 2013.** Myofibroblasts and their relationship with oral squamous cell carcinoma. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 79(1): 112-118.
- 10 **Meuten D.J. 2002.** *Tumors in Domestic Animals*. 4th edn. Ames: Iowa State Press, 800p.
- 11 **Newkirk K.M. & Rohrbach B.W. 2009.** A retrospective study of eyelid tumor from 43 cats. *Veterinary Pathology*. 46: 916-927.
- 12 **Perlmann E., Silva E.G., Guedes P.M. & Barros P.S.M. 2010.** Co-existing squamous cell carcinoma and hemangioma on the ocular surface of a cat. *Veterinary Ophthalmology*. 13(1): 63-66.
- 13 **Pigatto J.A.T., Albuquerque L., Voll J. & Driemeier D. 2015.** Hemangiosarcoma of the Third Eyelid in a Dog. *Acta Scientiae Veterinariae*. 43(Suppl 1): 91.
- 14 **Priebe A.P.S., Riet-Correa G., Paredes L.J.A., Costa M.S.F., Silva C.D.C. & Almeida M.B. 2011.** Ocorrência de neoplasias em cães e gatos da mesorregião metropolitana de Belém, PA entre 2005 e 2010. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 63(6): 1583-1586.
- 15 **Yoshikawa H., Maranon D.G., Battaglia C.L.R., Ehrhart E.J., Charles J.B., Bailey S.M. & LaRue S.M. 2014.** Predicting clinical outcome in feline oral squamous cell carcinoma: tumour initiating cells, telomeres and telomerase. *Veterinary and Comparative Oncology*. 12: 1-13.

