

FACULDADE DE VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE CLÍNICAS

CURSO DE LICENCIATURA EM MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE ESTUDOS

**Aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanomas subungueal metastático e cutâneo em dois cães diagnosticados no Hospital Escolar Veterinário**



**Supervisora:**

Prof<sup>ª</sup> Doutora Otilia Rafael Bata Bambo

**Co-supervisores:**

Prof. Doutor Cláudio João Mourão Laisse

Mestre Denise Conceição da Fonseca Palaio

Lic. Paulo José Massingue

**Autor:** Hilário Alberto Matiquite

Maputo, Julho de 2024

## Declaração de honra

Eu, Hilário Alberto Matiquite, declaro por minha honra que o presente trabalho de culminação de estudos cujo tema “**Aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanomas subungueal metastático e cutâneo em dois cães diagnosticados no Hospital Escolar Veterinário**” resulta do meu empenho, e foi elaborado na base da literatura e do seguimento minucioso da metodologia descrita, usando exclusivamente para o propósito de obtenção do grau de Licenciatura em Medicina Veterinária.

Maputo, Julho de 2024

---

Hilário Alberto Matiquite

## **Dedicatória**

A mim.

Aos meus supervisores, Prof<sup>a</sup> Doutora Otília Bambo, Prof. Doutor Cláudio Laisse, Mestre. Denise Palaio, Lic. Paulo Massingue.

Aos meus pais, Alberto Silvestre Matiquite e Lina Silvestre Mujui.

Às minhas irmãs, Yara Matiquite, Luana Matiquite, Sidnei Matiquite e Michel Matiquite.

E a minha namorada Carlota Paulo.

## Agradecimentos

Aos meus pais, Alberto Matiquite e Lina Mujui, por nunca medirem os esforços para que eu possa realizar os meus sonhos. Às minhas irmãs, Yara Matiquite, Melca Matiquite, Sidnei Matiquite e Michel Matiquite e aos meus primos Silvério Matiquite, Chadia Matiquite, Sirilo Matiquite e Liane Matiquite, pelo carinho e amizade. Aos meus tios Jorge Matiquite e a sua esposa pela hospitalidade. Ao meu padrinho, Prof. Doutor Policarpo Matiquite, pelo carinho, amizade e tudo o seu apoio emocional.

Aos meus supervisores, em especial Prof<sup>a</sup> Doutora Otília Bambo que incansavelmente transmitiu-me o conhecimento, postura e atitude que um bom profissional necessita. E aos meus co-supervisores Prof. Doutor Cláudio Laisse, Mestre. Denise Palaio, Lic. Paulo Massingue, por todo apoio, paciência, disponibilidade e orientação durante a formação profissional, em especial no desenvolvimento do presente tema.

A toda equipa do HEV, em particular aos Srs. João Nguenha, Ana Paula, Sandra Neves e Atália Muthemba e da SAP especialmente Eng. Leonardo Ngoca e Sr. Sércio Huo, pela simpatia, hospitalidade, companheirismo, amizade, cooperação e paciência demonstrados e, por todo o conhecimento teórico-prático transmitido.

Aos meus colegas da FAVET, nomeadamente Paulo Massingue, Edson Hartog, Filipe Marrocane, Arnaldo Quissimuço, Inácia Telma, Argentina Mutemba, Rosália Victorino, Nelton Frederico, Iona Marques, Edsónia Nando, Ercílio Bila, Bijorca Nhanala, Joana Thonela, Jeremias Aleixo, António Ramos, Onésia Cuco, Harate Victor, Augusto Nhandza e Frank Johnson pela companhia e partilha dos momentos alegres e, por tornar os meus anos de formação, memoráveis.

A todos os professores que tive o prazer de conhecer e poder absorver um pouco dos seus conhecimentos.

Aos meus amigos Calisto Macarringue, Ancélio Cuambe (*in memoria*), César Chaúque, pela mentoria.

A todos que directa ou indirectamente, contribuíram na minha formação académica e em especial para a realização do presente trabalho, o meu

Muito obrigado!

## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

ADN	Ácido desoxirribonucléico
Av.	Avenida
COX-2	Ciclooxigenase-2
CHCM	Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetra-Acético
et al.	E colaboradores
FAVET	Faculdade de Veterinária
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HEV	Hospital Escolar Veterinário
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
Kg	Quilogramas
MC	Melanoma canino
Mg	Miligrama
ML	Mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAAF	Punção aspirativa com agulha fina
P/min	Pulsações por Minuto
Mr/mim	Movimentos respiratórios por minuto
SAP	Secção de Anatomia Patológica
SC	Sub-cutânea
TRC	Tempo de reenchimento capilar
UEM	Universidade Eduardo Mondlane
VCM	Volume Corpuscular Médio
VO	Via Oral

### Símbolos

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1:</b> Ocorrência de melanoma em diferentes espécies.....	8
<b>Tabela 2:</b> Ocorrência de neoplasias melanocíticas de acordo com a raça e localização anatômica. ...	9
<b>Tabela 3:</b> Classificação de melanomas de acordo com a localização anatômica.....	11
<b>Tabela 4:</b> Sinais clínicos apresentados por cães acometidos por melanoma de acordo com a localização anatômica. ....	12
<b>Tabela 5:</b> Estadiamento do melanoma canino segundo o modelo adaptado por Owen, 1980.....	17
<b>Tabela 6:</b> Co-afecções que devem ser consideradas no diagnóstico diferencial do melanocitoma e melanoma segundo o grau de malignidade.....	18
<b>Tabela 7:</b> Tempo médio de sobrevida de cães com Melanoma.....	20
<b>Tabela 8:</b> Factores determinantes do prognóstico de melanoma canino.....	20
<b>Tabela 9:</b> Diferentes melanomas caninos com metástases.....	21
<b>Tabela 10:</b> Aspectos comparativos entre o melanoma canino e o melanoma humano.....	22
<b>Tabela 11:</b> Dados de identificação dos pacientes e queixa dos tutores.....	25
<b>Tabela 12:</b> Parâmetros fisiológicos avaliados durante ao exame físico dos pacientes. ....	25
<b>Tabela 13:</b> Descrição dos procedimentos pré-operatório e operatório aplicados nos pacientes.....	27
<b>Tabela 14:</b> Classificação dos melanomas diagnosticados nos pacientes.....	33

## Lista de figuras

<b>Figura 1:</b> Apresentação clínica do melanoma canino de acordo com a localização A – Melanoma cutâneo, lesões múltiplas localizadas nas paredes abdominal e torácica de alto grau de pigmentação e áreas de necrose e ulceração. <b>B</b> – Melanoma na cavidade oral, multilobulado e intensa coloração enegrecida. <b>C</b> – Melanoma ocular, massa enegrecida na íris com extensão extraocular. <b>D</b> – Melanoma no dígito com ulceração e necrose. <b>Fonte:</b> A, B, C (Nishiya et al., 2016) e D - Bandeira, 2018. ....	13
<b>Figura 2:</b> Achados observados durante o exame específico dos pacientes. <b>A. P1:</b> Ulceração do 3º dedo do membro pélvico esquerdo que invandia o 2º dedo de aspecto necrosante (círculo azul maior). <b>B. P2:</b> Nódulo multilobulado com aspecto de couve-flôr e hiperpigmentado (círculo azul menor).....	26
<b>Figura 3:</b> Pacientes após a cirurgia. <b>A. P1:</b> AmputaçãoDigictomia do 3º dígito do pélvico esquerdo. Fechamento da ferida cirúrgica com pontos isolados simples com poliamida. <b>B. P1:</b> Protecção da ferida com bandagem. <b>C. P2:</b> União dos bordos da ferida após a excisão cirúrgica. <b>D. P2:</b> Protecção da ferida com penso. ....	28
<b>Figura 4:</b> Crescimento de pêlos no local da ferida, 3 meses após a excisão cirúrgica.....	29
<b>Figura 5:</b> Ulceração do 3º dedo do membro pélvico esquerdo que invandia o 2º dedo, de aspecto necrosante.....	29

**Figura 6:** Achados macroscópicos do P1. **A.** Nódulos multifocais enegrecidos na cavidade torácica e abdominal. **B.** Pulmão com vários focos de metástases na pleura e parênquima. **C e D.** Faces parietal e visceral do fígado respectivamente com metástases multifocais. **E.** Baço apresenta três nódulos regulares e lisos. **F.** Rim direito com nódulo multinodular enegrecido. **G.** Corte longitudinal do linfonodo poplíteo, com focos de metástases. .... 30

**Figura 7:** P2: Massa cutânea de coloração enegrecida, aspecto lobular e bem delimitado. .... 31

**Figura 8:** P1- Achados microscópicos do melanoma subungueal. **A.** Epiderme espessa e formação de tecido cartilaginoso abaixo da epiderme estrato basal, infiltração de células neoplásicas na derme – 4X. **B.** Células neoplásicas de diferentes tamanhos na derme (pleomorfismo celular), contendo substância de coloração castanho-escuro (melanina) no citoplasma, invasão de melanócitos neoplásicos na derme profunda (HE - 40X)..... 32

**Figura 9:** Achados histopatológicos do nódulo do P2 (melanoma cutâneo). **A.** Epiderme espessa e com células contendo conteúdo enegrecido sustentadas do tecido conjuntivo (HE – 4X). **B.** Células com infiltrado de melanina (HE – 10X). .... 33

# ÍNDICE

RESUMO .....	x
1 Introdução.....	1
2 Objectivos .....	4
2.1 Geral.....	4
2.2 Específicos .....	4
3 Revisão bibliográfica.....	5
3.1 Pele .....	5
3.1.1 Melanócitos .....	5
3.2 Melanoma canino.....	6
3.2.1 Conceito .....	6
3.2.2 Etiologia .....	6
3.2.3 Epidemiologia.....	7
3.2.4 Classificação .....	9
3.2.5 Fisiopatologia .....	11
3.2.6 Sinais clínicos das neoplasias melanocíticas.....	12
3.2.7 Diagnóstico.....	13
3.2.8 Estadiamento clínico .....	17
3.2.9 Diagnóstico diferencial .....	17
3.2.10 Tratamento .....	18
3.2.11 Tempo de sobrevida médio.....	19
3.2.12 Prognóstico .....	20
3.2.13 Metástases .....	21
3.3 Melanoma canino como modelo comparativo para estudo do melanoma humano.....	21
4 Descrição de dois casos clínicos diagnosticados no HEV durante o período de estudo .....	23
4.1 Materiais e Métodos.....	23
4.1.1 Locais e período do estudo .....	23
4.1.2 Animais .....	23



4.1.3	Avaliação clínica.....	23
4.1.4	Exames Complementares .....	23
4.1.5	Exame histopatológico .....	24
4.1.6	Estadiamento clínico .....	24
4.1.7	Avaliação do prognóstico.....	24
4.2	Resultados.....	24
4.2.1	Identificação e anamnese.....	24
4.2.2	Exame físico.....	25
4.2.3	Exame específico .....	25
4.2.4	Exames complementares .....	26
4.2.5	Diagnóstico diferencial .....	26
4.2.6	Diagnóstico presuntivo .....	27
4.2.7	Intervenções terapêuticas efectuadas .....	27
4.2.8	Seguimento dos pacientes .....	28
4.2.9	Exame histopatológico .....	29
4.2.10	Diagnóstico definitivo.....	33
5	Discussão .....	34
6	Conclusões .....	39
7	Recomendações.....	40
8	Referências Bibliográficas.....	41

## RESUMO

O melanoma é uma neoplasia maligna originária dos melanócitos e, é frequentemente diagnosticado em animais domésticos, como cães, gatos, cavalos e também em animais selvagens terrestres e marinhos, incluindo humanos. A neoplasia afecta animais de meia-idade a idosos, sem predileção sexual, com a maior incidência em raças hiperpigmentadas. Possui prognóstico mau, pois desenvolve-se de maneira agressiva, invasiva e metastática, o que se reflete no tempo de sobrevivência curto dos animais. O objectivo do presente trabalho foi descrever aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanomas subungueal metastático e cutâneo em dois cães diagnosticados no Hospital Escolar Veterinário. Foram seleccionados dois machos inteiros de raças definidas, sendo o paciente 1 (**P1**) um Rottweiler de 10 anos, com ferida de odor fétido no 3º dedo do membro pélvico esquerdo, com unha partida e sangramento, com sinais de dor a palpação e claudicação há uma semana. O paciente 2 (**P2**) era um Bullmastiff de 9 anos com nódulo macio de coloração negra, de 5 cm de diâmetro, no tronco direito da região torácica, há três semanas. O exame hematológico não revelou alterações. Os diagnósticos presuntivos foram para o **P1** lesão do dígito com posterior queda da unha e infecção bacteriana secundária e para o **P2** melanoma cutâneo. Em ambos os pacientes, o tratamento efectuado foi a excisão cirúrgica. As peças removidas cirurgicamente foram enviadas à Secção de Anatomia Patológica (SAP) para o diagnóstico histopatológico. Quarenta e cinco dias após a cirurgia, devido ao agravamento do quadro clínico e prognóstico mau, o **P1** foi eutanasiado e o cadáver enviado à SAP para a realização do exame *post-mortem*. O tratamento mostrou-se eficaz no **P2** que não apresentou sinais de recidiva do tumor. Os resultados do exame histopatológico revelaram os seguintes diagnósticos definitivos: **P1**: melanoma subungueal metastático, maligno epitelióide, melânico, no estágio IV com metástase no linfonodo inguinal superficial, pulmão, fígado, rins, baço e cavidades torácica e abdominal. **P2** melanoma cutâneo, epitelióide, melânico, no estágio II e prognóstico reservado. O **P1** apresentava neoplasia de carácter maligno e curto tempo de sobrevivência devido ao diagnóstico tardio, e metástase nos linfonodos regionais e vários órgãos. Os clínicos devem considerar o melanoma no diagnóstico diferencial de nódulos com coloração enegrecida na pele. O diagnóstico precoce do melanoma é preponderante para o sucesso do tratamento.

**Palavras-chave:** Melanoma, cães, histopatologia, cirurgia, metástases.

# 1 Introdução

As neoplasias caracterizam-se pela proliferação anormal e descontrolada das células que pode ocorrer devido a uma variedade de fenómenos biológicos. Actualmente, têm sido referidas como uma das principais causas de consulta e de mortalidade em animais de estimação, por isso, são consideradas uma das patologias de grande impacto em Medicina Veterinária (Bandeira, 2018; Santos *et al.*, 2013).

A pele é o órgão de maior predileção para a ocorrência de neoplasias em cães (Santos *et al.*, 2013). A elevada incidência das neoplasias na pele deve-se ao facto de esta ser composta por diferentes tipos de células de elevada taxa mitótica predispondo-a à ocorrência de mutações. Por outro lado, a pele serve de cobertura do organismo estando desta forma exposta a diversos agentes cancerígenos (Muller *et al.*, 2001).

As neoplasias cutâneas constituem cerca de 30 a 40% do total de neoplasias presentes em cães, dentre estas, o melanoma canino tem ocorrência significativa constituindo cerca de 5 a 7% das neoplasias cutâneas (Silva, 2018; Lindoso *et al.*, 2017).

O melanoma é relatado com frequência em cães e raramente em outras espécies como gatos, cavalos e animais selvagens terrestres e marinhos (Bandeira, 2018; Nishiya *et al.*, 2016). Os humanos também são afectados e, neste sentido, os modelos animais são muitas vezes utilizados, principalmente em testes de novos protocolos terapêuticos para o melanoma, visto que, no homem, esta neoplasia apresenta carácter agressivo, além de ser uma das mais frequentes neoplasias cutâneas (Bandeira, 2018; Starkey *et al.*, 2005).

As neoplasias melanocíticas originam-se a partir dos melanócitos e melanoblastos, células responsáveis por produzir melanina e que possuem origem embrionária neuroectodérmica (Rodrigues *et al.*, 2017), podem ser divididas em malignas e benignas, denominadas respectivamente de melanocitomas e melanomas (Bandeira, 2018). Os melanócitos estão localizados na camada basal da epiderme, por isso, a doença primária ocorre preferencialmente na pele, porém podem ser observadas em outras regiões anatómicas, tais como: cavidade oral, globo ocular e órgãos cavitários associada à metástase (Martinho, 2022; Dariva *et al.*, 2017). A forma oral é mais frequente e a mais agressiva (Garcia, 2017).

O melanoma caracteriza-se por ser localmente agressivo, invasivo e com alto índice metastático. A disseminação pode ocorrer por via hematogena para os pulmões e por via linfática para os linfonodos regionais (Martinho, 2022; Lindoso *et al.*, 2017).

A etiologia do melanoma é desconhecida, porém pode estar associada à factores genéticos e moleculares, como consanguinidade, trauma, exposição solar, produtos químicos e hormonais (Lindoso *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2010). Não apresenta predileção sexual e geralmente aparece em cães com uma média de idade entre 9 e 13 anos. O melanoma afecta principalmente as raças fortemente pigmentadas, tais como: Terrier Escocês, Airedale, Boston Terrier, Cocker Spaniel, Springer Spaniel, Boxer, Golden Retriever, Setter Irlandês, Schnauzer miniatura, Doberman, Pastor Alemão, Pinscher, Chihuahua e Chow-Chow (Silva, 2020; Goldschmidt e Goldschmidt, 2017; Junior *et al.*, 2005; Manzan *et al.*, 2005). Nestas raças de cães, a melanina pode ser encontrada por toda a epiderme e derme superficial.

A maioria dos casos de melanoma ocorre na cavidade oral e junção mucocutânea dos lábios e apenas 10% destas neoplasias têm origem na pele (Goldschmidt e Goldschmidt, 2017). Na rotina clínica, o melanoma pode surgir com inúmeras apresentações, podendo muitas vezes ser confundido com outras neoplasias da pele (Gillard *et al.*, 2013). Apesar de ser uma neoplasia derivada de células pigmentadas, durante a diferenciação neoplásica, os melanócitos podem perder essa característica fazendo com que a neoplasia se apresente como nódulos pigmentados ou não (Goldschmidt e Goldschmidt, 2017).

Inicialmente, o melanoma tem aspecto de uma mácula preta que se transforma em massa firme, de crescimento rápido e consequente ulceração, com infiltração local e metástase precoce (Moreira *et al.*, 2017;). O melanoma cutâneo pode ter aparência de cúpulas lisas, nódulos sésseis, polipóides, placa, ou massas lobuladas, as de maior tamanho frequentemente são de pior prognóstico (Bedoya, 2019; Smith *et al.*, 2002).

O diagnóstico presuntivo é baseado na história clínica, exame clínico geral e complementar (hemograma, bioquímica, citologia e urinálise) e o definitivo é obtido através do exame histopatológico de amostras de biópsia ou necrópsia. Em alguns casos, é solicitada a radiografia do local em que se encontra o nódulo e do pulmão (Lindoso *et al.*, 2017; Moreira *et al.*, 2017; Silva, 2012). O tratamento de eleição é o cirúrgico, podendo ser coadjuvado a radioterapia e quimioterapia (Dallabrida *et al.*, 2018; Lindoso *et al.*, 2017).

O prognóstico é geralmente desfavorável devido ao elevado índice de recidiva local e potencial metastático. Além disso, a taxa de sobrevivência do animal é baixa (10%) e a sobrevida, em média, é de apenas um ano, devido às complicações causadas pelas metástases, mesmo após exérese da neoplasia (Lindoso *et al.*, 2017; Manzan *et al.*, 2005;). O melanoma é resistente a quimioterapia, e as taxas de resposta são insatisfatórias, não oferecendo benefício no tempo de sobrevida dos animais (Silva *et al.*, 2013).

O melanoma canino é uma neoplasia importante na clínica de pequenos animais e, é também considerado um bom modelo para estudo do melanoma humano, principalmente para aqueles que não possuem relação com exposição solar. O melanoma no cão ocorre nas mesmas localizações que nos humanos, isto é, pele, mucosas, unha e olhos e exibe comportamentos variáveis de acordo com a localização anatômica (Silva, 2018; Camargo *et al.*, 2008).

Apesar da importância do melanoma na prática clínica dos animais de estimação, em Moçambique, existe apenas um estudo retrospectivo no HEV de Santos *et al.* (2013), por esta razão, o presente trabalho teve como objectivo descrever os “aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanomas subungueal metastático e cutâneo em dois cães diagnosticados no Hospital Escolar Veterinário”.

Os resultados do presente estudo poderão auxiliar no diagnóstico na rotina da prática clínica de pequenos animais, gerando informações que serão utilizadas na escolha de uma terapia apropriada e na determinação de um prognóstico mais preciso sobre o melanoma subungueal e cutâneo em cães, e servirão também como base de dados e fonte de informação em suporte físico e/ou electrónico para ser usado para consulta, assim como realização de trabalhos de investigação em Medicina Veterinária e em outras áreas afins.

## **2 Objectivos**

### **2.1 Geral**

- Descrever os aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanomas subungueal metastático e cutâneo em dois cães, diagnosticados no Hospital Escolar Veterinário (HEV).

### **2.2 Específicos**

- Abordar aspectos relacionados com a etiologia, sinais clínicos, diagnósticos, tratamento do melanoma;
- Descrever os aspectos clínico-patológicos e terapêuticos de melanoma subungueal e melanoma cutâneo em cães;
- Identificar as características histopatológicas, o estadiamento e o prognóstico do melanoma subungueal e melanoma cutâneo canino;
- Avaliar o tempo de sobrevivência dos pacientes.

## 3 Revisão bibliográfica

### 3.1 Pele

A pele ou “*cúrtis*” é dividida em 2 camadas que compreendem: epiderme que se desenvolve a partir da ectoderme, derme e, estes originam-se a partir da mesoderme. A epiderme é formada por cinco camadas de células epiteliais cúbicas que formam estratificações devido a proliferação oriunda do estrado basal (germinativa) (Souza, 2005; Bragulla *et al.*, 2004).

Na epiderme existem 4 tipos celulares distintos, que são: queratinócitos (85%), melanócitos (5%), células de *Langerhans* (3-8%) e células de Merkel (2%). A epiderme, é subdividida em 5 estratos (Souza, 2005; Bragulla *et al.*, 2004), nomeadamente:

- **Basal:** possui células que se dispõem em uma única fileira e possuem forma cúbica ou colunar. Nesta camada encontram-se os queratinócitos (dois tipos: **1**– função proliferativa ou reparadora; **2**– fixar a derme), melanócitos (encontrados na bainha externa da raíz e nos ductos das glândulas sebáceas e sudoríparas) e células de *Merkel*.
- **Espinhoso:** consiste de um número variável de camadas, com células que variam de poliédricas a pavimentosas e ligadas entre si por pontes intercelulares. Nessa camada estão localizadas as células de *Langharns* que surgem da linhagem monocítica e funcionam como apresentadoras de antígenos na pele.
- **Granuloso:** formado por uma ou várias camadas de células rombóides ou pavimentosas que possuem grânulos de querato-hialina, ricos em filagrina.
- **Lúcido:** constituído por várias camadas de células pavimentosas, translúcidas e anucleadas, com grânulos de querato-hialina ricos em eleidina.
- **Córneo (disjunto):** possui várias camadas de células queratinizadas e anucleadas (corneócitos).

Todas as camadas da epiderme são predispostas a sofrer transformação neoplásica. A pele, por possuir diferentes tipos de células de elevada divisão celular o que predispõe a ocorrência de mutações e por estar exposta a diversos agentes cancerígenos (ambientais, químicos e físicos), apresenta elevado risco de desenvolvimento de neoplasias (Muller *et al.*, 2001).

#### 3.1.1 Melanócitos

Os melanoblastos são células dendríticas, que se originam da crista neural, derivado da neuroectoderme. Durante o desenvolvimento fetal, essas células migram para a camada basal e espinhosa da epiderme, mucosas e olhos. Os melanoblastos quando maduros são denominados melanócitos (Muchinski, 2017; Jones *et al.*, 2000). Normalmente, os melanócitos não têm conexão entre eles, porém unem-se aos queratinócitos através de proteínas de adesão produzidas por ambas

as células, denominadas E-Caderinas – essenciais para a adesão dos melanócitos pelos queratinócitos. Cada melanócito é envolvido por cerca de cinco queratinócitos (Bandeira, 2018; Haass *et al.*, 2005).

Os melanócitos são responsáveis pela produção de melanina, que é um pigmento endógeno importante no bloqueio dos raios ultravioletas. A melanina é armazenada nos melanossomos, que se acumulam dentro do citoplasma dos melanócitos e, é transferida para eles através dos processos dendríticos. Os melanócitos são considerados células estáveis e só proliferam quando sofrem injúrias. Eles apresentam-se como células de formato redondo com prolongamentos, citoplasma claro e núcleo oviforme (Bandeira, 2018; Montana, 2016).

Melanina é um pigmento que actua distribuindo cor para pele, pêlos e olhos. A pigmentação é regulada, distribuída e influenciada por factores ambientais, genéticos e endócrinos (Junqueira e Carneiro, 2013). Grande parte da melanina é encontrada na camada basal da epiderme, mas pode estar em todas as camadas da epiderme, como ocorre nos cães de pele escura (Bandeira, 2018; Muller *et al.*, 2001).

## **3.2 Melanoma canino**

### **3.2.1 Conceito**

As neoplasias melanocíticas ocorrem na pele, são comuns em cães e originam-se a partir de melanoblastos e melanócitos (Martinho, 2022; Bedoya, 2019; Amaral, 2019; Dallabrida *et al.*, 2018). De acordo com o boletim da OMS (1998), para Medicina Veterinária, neoplasia melanocítica de carácter benigno, recebe a denominação de melanocitoma e a de carácter maligno, é denominada melanoma ou melanoma maligno (Silva, 2020). Ambas formas são frequentes em cães.

### **3.2.2 Etiologia**

A etiologia do melanoma é desconhecida, porém pode evoluir a partir de pequenas manchas escuras presentes na pele, tal como ocorre em humanos (Geneste, 2016; Montanha e Azevedo, 2013; Silva, 2012; Souza, 2005). De acordo com Teixeira (2011) e Garcia (2017), vários factores podem predispor ao aparecimento do melanoma canino, tais como:

#### **3.2.2.1 Genéticos e moleculares**

O melanoma canino inicia a partir de uma multiplicação autónoma dos melanócitos que se encontram na epiderme, que assumem crescimento difuso e descontrolado, levando a formação de células neoplásicas (Amaral, 2019; Gineste, 2016; Montanha e Azevedo, 2013). Ocorre activação dos proto-oncogenes ou inactivação dos factores anti-tumorais, como é o caso de agente supressor *p53* (Silva,



2018; Stricker, 2013). As neoplasias melanocíticas afectam animais de determinadas espécies, raças e indivíduos, o que sustenta que esta neoplasia tem carácter genético (Parreira e Keglevich, 2005).

### 3.2.2.2 Físicos e químicos

Causas químicas ou físicas podem levar ao desenvolvimento de neoplasias naturais ou primárias. De um modo geral, a neoplasia resulta da associação de diversos factores biológicos (vírus) e ambientais (químicos e físicos). Carcinógenos são substâncias capazes de causar ou favorecer o aparecimento de neoplasia (Parreira e Keglevich, 2005). Os factores relacionados à carcinogénese ainda não estão bem esclarecidos na Medicina Veterinária, contudo em humanos o consumo de álcool e tabaco são apontados como importantes causas para a ocorrência de melanoma (Bandeira, 2018; Wunsch *et al.*, 2010).

### 3.2.2.3 Radiações

A luz solar ionizante é um factor importante que contribui para o aparecimento do melanoma na pele dos animais, principalmente de idade avançada (Silva, 2012). A radiação solar causa lesões nas células epidérmicas alterando o ADN genómico, que quando é reparado modifica a estrutura normal da célula, causando um processo de mutação genética e, por conseguinte, formação das células neoplásicas. Esse efeito ocorre principalmente no espectro ultravioleta, entre os raios de 2800 e 3200 A (Silva, 2012; Parreira e Keglevich, 2005). Entretanto, segundo Gillard *et al.* (2013), a incidência de radiação ultravioleta não tem um papel preponderante no desenvolvimento e/ou progressão dos melanomas em cães, diferentemente dos humanos.

### 3.2.3 Epidemiologia

Os melanomas são relativamente comuns em cães, compreendendo 3% de todas as neoplasias nesta espécie e 7% das neoplasias malignas. Alguns locais são afectados com frequência como a cavidade oral (56%), lábios (23%), pele (11%), dígitos (8%) e olhos (2%) (Smith *et al.*, 2002). O melanoma pode ser classificado de acordo com a origem e morfologia das células neoplásicas. A prevalência dos melanomas em cães de acordo com sua origem é de 44,4% mesenquimais, 39,4% epiteliais, 8,7% melanocíticos e 7,4% linfocíticos (Mukaratirwa *et al.*, 2005). Embora a ocorrência de melanoma seja frequente em cães, existem relatos de ocorrência em diferentes regiões e em diferentes animais domésticos, incluindo o homem (**Tabela 1**).

**Tabela 1:** Ocorrência de melanoma em diferentes espécies.

<b>Espécie</b>	<b>Região</b>	<b>Estudo</b>	<b>Autor</b>
<b>Felina</b>	Brasil	Melanoma extra cutâneo em região orbital em gato submetido à enucleação prévia: relato de caso	Puerari, 2019
		Melanoma amelanótico felino: relato de caso	Dal Ross <i>et al.</i> , 2021
	Reino Unido	Feline uveal melanoma review: our current understanding and recent research advances	Kayes e Blacklock, 2022
	Africa do Sul	Diagnosis and treatment of a dermal malignant melanoma in an African lion ( <i>Panthera leo</i> )	Steil <i>et al.</i> , 2013
		Metastatic cutaneous melanoma in a white African lioness ( <i>Panthera leo</i> )	Van der Weyden <i>et al.</i> , 2021
<b>Equinos</b>	Brasil	Melanoma maligno anaplásico em um equino	Rossi <i>et al.</i> , 2008
		Melanoma em equídeos: relato de 11 casos	Souza <i>et al.</i> , 2013
	EUA	Melanoma in horses: Current perspectives	Moore, <i>et al</i> 2013
	Portugal	Equine melanocytic tumors: A narrative review	Pimenta <i>et al</i> , 2023
	Egipto	Surgical management of penile and preputial neoplasms in equine with special reference to partial phallectomy	Rizk <i>et al.</i> , 2013
<b>Bovinos</b>	Brasil	Neoplasias melanocíticas em bovinos abatidos em frigorífico na região Norte de Mato Grosso	Lima <i>et al.</i> , 2014
		Melanoma oral metastático em uma vaca	Brito <i>et al.</i> , 2009
	Eslovenia	Malignant melanoma in a Cow	Mesaric <i>et al</i> , 2002
	India	Melanoma and its surgical management in a cow	Simon <i>et al</i> , 2018
<b>Caprinos</b>	Brasil	Melanoma metastático em caprinos	Melo-Neto <i>et al.</i> , 2019
	Egipto	Uveal melanoma in an aradi goat ( <i>Capra aegagrus hircus</i> )	El-Shafaey e Hamed, 2020
<b>Humanos</b>	Perú	Malignant melanoma: case report and review of the literature	Mosqueira <i>et al.</i> , 2017
	Brasil	Relatando o caso de um paciente com melanoma: Um desafio	Friedrich e Gracioli, 2002
	Africa do Sul	The epidemiology of cutaneous melanoma in the white and black african population groups in South Africa	Norval e Wright, 2017
	Nigéria	Cutaneous malignant melanoma in Calabar, South Nigeria	Asuquo <i>et al.</i> , 2012

### 3.2.3.1 Incidência

A incidência do melanoma varia de acordo com a localização anatômica da neoplasia: na cabeça (26,8%), membros torácicos (23,6%) e pélvicos (13%), abdômen (10%), tórax (6,5%), escroto (5,7%), períneo e pescoço (4,9%) e cauda (1,6%) (Silva, 2012; Souza, 2005).

O melanoma pode afectar um ou vários órgãos (forma múltipla) cuja prevalência é de 0,8%. Quando o melanoma ocorre na cabeça, a maioria envolve a cavidade oral e as junções mucocutâneas dos lábios (Silva, 2012; Souza, 2005).

### 3.2.3.2 Sexo e idade

O melanoma afecta maioritariamente cães adultos, com idade compreendida entre 7 e 14 anos, sendo o pico entre os 9 a 13 anos de idade (Garcia, 2017; Souza, 2005). Alguns estudos reportam maior incidência de melanoma canino em fêmeas e outros apontam os machos como os mais afectados, não havendo, dessa forma, consenso entre os autores sobre predisposição sexual (Garcia, 2017).

### 3.2.3.3 Raças

O melanoma pode afectar qualquer raça, incluindo cães sem raça definida (SRD), porém existem algumas linhagens de raças caninas que são mais afectadas (**Tabela 2**).

**Tabela 2:** Ocorrência de neoplasias melanocíticas de acordo com a raça e localização anatómica.

<b>Benignas</b>	
<b>Localização</b>	<b>Raças</b>
Cabeça (excepto boca) Membros anteriores	Manchester toy, Australian Terrier, Vizsla, Chesapeake Bay Retriever
<b>Malignas</b>	
Geralmente ocorre em raças pigmentadas: Schnauzer ou Terrier Escocês	
<b>Oral</b>	Cocker Spaniel Inglês, Setter Irlandês, Boxer, Chow-Chow e Pastor Alemão.
<b>Subungueal</b>	Setter Irlandês, Scottish Terrier, Schnauzer, Rottweiler, Golden e Labrador Retriever
<b>Cutâneo</b>	Boston Terrier, Terrier Escocês, Cocker Spaniel, Dobermann e Chihuahua.

**Fonte:** Bandeira (2018); (Nishiya *et al.*, 2016); Silva (2012); Souza (2005).

### 3.2.4 Classificação

Os melanomas podem apresentar diferentes graus de pigmentação, ou até mesmo serem completamente despigmentados (melanoma amelanótico). Assim, os melanomas podem variar quanto à sua aparência, podendo ser de cor cinzenta, preta, vermelha ou azul escura, quanto à extensão a maioria entre 1 e 3 cm, podendo haver ulceração com ou sem necrose, independentemente da localização (Martinho, 2022). Os melanomas podem ser classificados de acordo com os critérios abaixo descritos:

### 3.2.4.1 Quanto ao grau de malignidade

#### a) Benignos (*melanocitomas*)

São responsáveis por 3-4% das neoplasias cutâneas em cães. Apresentam-se como nódulos únicos, circunscritos, não encapsulados, de coloração enegrecida e alopecicos, com 1 a 4 cm de diâmetro e raramente ulceram. Os melanocitomas mantêm predilecção pela pele, especificamente na região da cabeça, tronco, pálpebra e focinho. Microscopicamente, melanocitomas são caracterizados pela junção de pequenas células arredondadas ou poligonais, restritas a camada basal da epiderme (Teixeira *et al.*, 2010).

As células neoplásicas são maioritariamente redondas e possuem grande quantidade de melanina intracitoplasmática, o que tende a obscurecer a morfologia nuclear e as figuras de mitose são raramente observadas. Em cortes histológicos submetidos a despigmentação, os núcleos são cromáticos e mostram pouco pleomorfismo (Silva, 2020; Deleck e De Nardi, 2019; Meuten, 2017; Teixeira *et al.*, 2010).

#### b) Malignos (*melanomas*)

Esta forma representa 0,8-2% das neoplasias de pele em cães. Podem apresentar diferentes tonalidades que variam entre castanho, avermelhado, cinza e preto, e o tamanho varia de 1 e 10 cm de comprimento (Teixeira *et al.*, 2010). Apresentam-se em forma de nódulos únicos ou múltiplos, pedunculados ou sésseis e geralmente apresentam consistência firme, hemorrágicos e ulcerados devido ao rápido crescimento. De entre suas principais localizações destacam-se a cavidade bucal, lábios, pele, dígitos, olhos e testículos (Silva, 2020; Nishiya *et al.*, 2016; Teixeira *et al.*, 2010; Camargo *et al.*, 2008). Quanto à morfologia celular, os melanomas podem ser subdivididos em três (3) tipos diferentes (Silva, 2020):

- **Epitelióides**: compostos por células arredondadas que se localizam nas camadas da epiderme, com bordas discretas e arredondadas, citoplasma abundante e vítreo, núcleo largo e nucléolo proeminente.
- **Fusiformes**: constituído por células alongadas ou em forma de fuso, que se unem formando ondas e feixes na região mesenquimal, com estroma escasso e algumas vezes em forma de ninho.
- **Mistos**: envolve os dois tipos celulares anteriores e localizações mencionada.

### 3.2.4.2 Quanto à presença ou ausência de melanina

Outra forma adoptada para a classificação do melanoma é baseada no fenótipo (presença ou ausência de melanina), e pode ser:

### a) Amelanótica (Forma não pigmentada)

O melanoma produz pouca ou nenhuma quantidade de melanina e neste caso deve-se ter como diagnósticos diferenciais outros tumores, com morfologia semelhante, tais como mastocitoma, linfoma, plasmocitoma, histiocitoma e tumor venéreo transmissível canino (Rodrigues, 2017). Ocorre em 20% dos casos de melanomas. Os melanomas amelanóticos são capazes de mimetizar outras neoplasias, podendo confundir o patologista e tornar o diagnóstico dificultoso e conseqüentemente piora do prognóstico (Silva, 2020; Rolim *et al.*, 2012; Camargo *et al.*, 2008; Souza, 2005).

### b) Melanocítica (Forma pigmentada)

Este tipo de melanoma ocorre com a síntese de grande quantidade de melanina, o que atribui a aparência enegrecida do melanoma. Esta forma corresponde a cerca de 80% dos casos de melanomas em cães (Silva, 2020; Rolim *et al.*, 2012; Camargo *et al.*, 2008; Souza, 2005).

#### 3.2.4.3 Quanto à localização

Melanomas são neoplasias cutâneas primárias, porém, podem ser encontradas em qualquer localização anatômica onde existem acúmulos de melanócitos (Geneste, 2016). Dependendo da localização do tumor, o melanoma pode ser classificado das formas indicadas na **Tabela 3**.

**Tabela 3:** Classificação de melanomas de acordo com a localização anatômica.

Região	Localização
Oral	Cavidade oral, língua, lábios e mucosa gengival.
Nasal	Cavidade nasal.
Intraocular	Dentro do olho.
Subungueais	Dedos e unhas.
Mucocutâneo	Junções entre a pele e as mucosas (oral, nasal e genital).
Cutânea	Forma original de melanoma (região cutâneo em geral).

Fonte: Ferrara e Argenziano (2021); (Nishiya *et al.*, 2016).

#### 3.2.5 Fisiopatologia

O melanoma tem origem a partir da transformação dos melanócitos e melanoblastos, células responsáveis pela produção da melanina, que é um pigmento importante e atua no bloqueio endógeno dos raios ultravioletas emitidos pela luz solar (Kumar *et al.*, 2015; Silva, 2012).

Os melanócitos não possuem junções intercelulares entre si, mas possuem junções com os queratinócitos, através das proteínas de adesão (*E-Caderina*). Os melanócitos são células estáveis, e só proliferam em casos de qualquer alteração conducente à quebra das junções entre os melanócitos e os queratinócitos, podendo levar ao início do processo neoplásico, resultando num crescimento descontrolado e desenvolvimento da neoplasia (Vail e Withrow, 2007). Sendo assim, o controle da

regulação e proliferação é realizado pelos queratinócitos, através de vias parácrinas, comunicações intracelulares (via segundo mensageiro) e intercelulares (via moléculas de adesão e conexinas). Sob condições normais de homeostase os melanócitos permanecem quiescentes, proliferam, diferenciam-se ou sofrem apoptose (Haass *et al.*, 2005). Contudo, a diminuição da síntese de *E-Caderinas* e a produção da *N-caderina* pode estar correlacionada à gênese do melanoma (Bandeira, 2018; Silva, 2013).

O estabelecimento do melanoma envolve três fases: (i) nevus benignos, são manchas de pele, (ii) formação de células displásicas, ocorre proliferação celular e estruturas teciduais e celulares anormais, (iii) formação de um tumor invasivo e metastático (Silva, 2018; Silva, 2012; Manzan *et al.*, 2005; Borges, 2003). Inicialmente, uma mácula preta transforma-se em uma massa firme, de crescimento rápido, com infiltração local e metástase precoce principalmente para linfonodos regionais e pulmões (Silva, 2012; Nelson e Couto, 2009).

O melanoma apresenta dois tipos de crescimento: (i) radial, tem tendência de crescimento horizontal nas camadas epidérmicas e dérmicas. Nesse crescimento, as células não têm a capacidade de disseminação, (ii) vertical, ocorre um crescimento para baixo, que penetra as camadas dérmicas profundamente na forma de uma massa em expansão, sem maturação celular, sem tendência das células tornarem-se menores à medida que invadem a derme reticular, nessa fase a probabilidade de metástases é muito grande (Kumar *et al.*, 2005; Silva, 2012).

### 3.2.6 Sinais clínicos das neoplasias melanocíticas

O melanocitoma, muitas vezes, apresenta-se como uma massa única, bem delimitada, firme, de coloração castanho ou preta, alopecica, pedunculada, de 0,5 a 10 cm de diâmetro, ou em forma de placa (**Figura 1A**). Pode haver ulceração. As lesões podem ocorrer na face, cavidade oral, dígitos e junções mucocutâneas (Brachelente *et al.*, 2013).

E os melanomas geralmente, são tumores sésseis e polipóides ou em placas, de alguns milímetros até 10 cm de diâmetro, lesões maiores costumam ulcerar. Os sinais clínicos do melanoma variam de acordo com a sua localização (**Tabela 4**).

**Tabela 4:** Sinais clínicos apresentados por cães acometidos por melanoma de acordo com a localização anatômica.

Localização	Características
Cutânea	Nódulos solitários ou múltiplos, negros, castanhos ou acinzentados ( <b>Figura 1A</b> ).
Oral	Disfagia, dentes frouxos ou deslocados, deformação facial e secreções nasais. Halitose, sialorréia, sangramentos orais, perda de apetite e perda de peso ( <b>Figura 1B</b> ).

<b>Ocular</b>	Uveíte não responsiva, opacidade da córnea, endoftalmia por necrose tumoral, glaucoma e uma massa tumoral visível ( <b>Figura 1C</b> ).
<b>Subungueal</b>	Tumor ulcerado. Claudicação, deformações ungueais (paroníquia, onicomadese, oníquia crónica e a perda de unha) ( <b>Figura 1D</b> ).
<b>Pulmão</b>	Tosse crónica, intolerância ao exercício, emagrecimento progressivo, taquipnéia/dispnéia, causada por pneumotórax, efusão pleural compressão de vias aéreas e hemoptise.

**Fonte:** Bandeira (2018); Gineste (2016); Montanha e Azevedo (2013); Silva (2013); Northrup e Gieger (2010); Vail e Withrow (2007).



**Figura 1:** Apresentação clínica do melanoma canino de acordo com a localização **A** – Melanoma cutâneo, lesões múltiplas localizadas nas paredes abdominal e torácica de alto grau de pigmentação e áreas de necrose e ulceração. **B** – Melanoma na cavidade oral, multilobulado e intensa coloração enegrecida. **C** – Melanoma ocular, massa enegrecida na íris com extensão extraocular. **D** – Melanoma no dígito com ulceração e necrose. **Fonte:** A, B, C (Nishiya *et al.*, 2016) e D - Bandeira, (2018).

### 3.2.7 Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo do melanoma deve ser realizado com base na anamnese minuciosa, avaliação clínica, exame físico criterioso e exames complementares (hemograma, bioquímica sérica, urinálise, citologia) e os exames imagiológicos. O diagnóstico definitivo é obtido por meio da histopatologia e imuno-histoquímica (Silva, 2012; Cavalcante, 2006).

Para o estabelecimento do diagnóstico definitivo, devem ser consideradas as características macroscópicas e microscópicas. A colheita de amostra para exame histológico é essencial para avaliação do grau de malignidade, classificação da neoplasia e determinação do diagnóstico (Rodrigues *et al.*, 2017).

### **3.2.7.1 Avaliação clínica**

#### **a) Anamnese**

A anamnese deve ser completa e conter dados referentes à raça, sexo e idade, pois são referidos como factores de risco (Muchinski, 2017; Gioso, 2007).

#### **b) Exame físico**

A realização do exame físico é importante para avaliação do tamanho inicial da lesão, localização, grau de dor, mobilidade, extensão da neoplasia e pesquisa de outras massas. A palpação da neoplasia pode revelar uma massa bem demarcada a nível subcutâneo, parcialmente encapsulada, tamanho variável, de consistência firme, não dolorosa, solitária ou difusa. Devido a elevada vascularização é comum a presença de hemorragia e áreas de necrose (Ribeiro *et al.*, 2020; Martinato, 2017).

### **3.2.7.2 Exames laboratoriais**

#### **a) Hematologia e bioquímica**

Estes exames são indispensáveis para descartar possíveis doenças infecciosas e metabólicas, verificar a presença de síndromes paraneoplásicas como hipercalcemia, hipoglicemia, leucocitose, eritropoese, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada e hipoproteinemia e para o estabelecimento de uma possível abordagem cirúrgica (Dinis, 2017; Muchinski, 2017;).

#### **b) Citologia**

O diagnóstico citológico é fiável e importante, principalmente quando realizado precocemente, pois orienta o procedimento cirúrgico e influencia o prognóstico (Santos *et al.*, 2013). A citologia permite observar as seguintes alterações: anisocariose, anisocitose, macronucleólise, figuras de mitose atípicas, nucléolos atípicos e pleomorfismo marcado que são característicos de neoplasias malignas (Bandeira, 2018; Daleck, 2016).

No melanoma, as células apresentam-se arredondadas a fusiformes, contendo grânulos castanhos a pretos, núcleo com variação do tamanho, alterações na proporção núcleo/citoplasma, núcleo hiperqueratótico a hipocromático, células binucleadas ou com mitoses abundantes (Lindose *et al.*, 2017; Silva, 2012; Júnior *et al.*, 2005).



Contudo, à medida que vai evoluindo, a quantidade produzida de pigmento pelos melanócitos diminui, assim como as células passam a assumir tipos curtos ou longos de células fusiformes ou do tipo epitelióide e o citoplasma fica com característica grande e claro (Lindose *et al.*, 2017; Abreu *et al.*, 2014).

A citologia usando a técnica de punção aspirativa com agulha fina (PAAF), pode ser usada para diferenciar processos inflamatórios de neoplasias ou mesmo para evidenciar ocorrência de metástase. A PAAF é um método prático, barato, rápido, seguro, com mínima injúria tecidual e sem necessidade de anestesiá-lo o animal (Sliva, 2012, Zuccari *et al.*, 2001).

### 3.2.7.3 Biópsia e Histopatologia

#### a) Biópsia

Biópsia é um procedimento de obtenção de uma parte de tecido de um organismo vivo, com o intuito de obter amostra representativa para o estudo histopatológico e posterior diagnóstico. Existem três tipos de biópsia:

- **Incisional**: caracterizada pela retirada de uma amostra representativa da lesão, sem a remoção completa do nódulo. Geralmente, a amostra deve incluir também tecido são e não apenas tecido lesionado. Pode ser usado em lesões suspeitas de malignidade. No entanto, o seu uso é controverso, uma vez que existem autores que defendem que pode ocorrer uma invasão de células malignas através dos vasos sanguíneos da ferida cirúrgica, potenciando o risco de metástases (Romero Antelo, 2020; Zargaran, 2014; Coulthard *et al.*, 2013).
- **Excisional**: consiste na remoção total da lesão e submeter para estudo histopatológico. Utilizada em lesões de menor tamanho e provavelmente benignas. Normalmente é também removida uma pequena margem em redor da lesão, para garantir a total exérese da mesma. Dentro das diferentes abordagens à biópsia, esta é a utilizada mais vezes. Como a lesão é removida totalmente, considera-se que este procedimento também possui um efeito terapêutico, mas deve-se sempre ter em conta a localização anatómica e a acessibilidade à mesma (Romero Antelo, 2020; Coulthard *et al.*, 2013).

**Pelo método de Punch**: é utilizado como técnica de biópsia incisional, assim como para a excisão de lesões pequenas dimensões. As zonas de eleição para o uso desta técnica são, normalmente, as porções laterais da língua e da mucosa bucal, uma vez que, para que a biópsia seja bem-sucedida, o dispositivo *Punch* tem que estar orientado perpendicularmente ao tecido lesionado.

## **b) Histopatologia**

A análise histológica é considerada um método de eleição para a obtenção do diagnóstico definitivo de qualquer neoplasia e é realizado através de biópsia ou dos achados de necrópsia, para avaliação morfohistológica do material (Lindoso *et al.*, 2017). O melanoma caracteriza-se por apresentar células redondas, epitelióides e fusiformes com núcleo grande formado por cromatina agregada ou frouxa, frequentemente com um ou mais nucléolos proeminentes. A visualização do núcleo pode ser difícil quando o citoplasma da célula estiver repleto de grânulos de melanina. O pleomorfismo, a atipia e o número de mitoses variam grandemente, mas, em média, são achados comuns e permitem a diferenciação com os melanocitomas. Ocasionalmente, podem ser observados focos de metaplasia óssea ou cartilaginosa (Silva, 2012; Goldschmidt e Hendrick, 2002).

### **3.2.7.4 Imuno-histoquímica**

É fundamental para a identificação de melanomas amelanóticos. Os melanócitos são positivos para vimentina, negativo para citoqueratina e variavelmente positivos para proteína S100 (Silva, 2012; Kusewitt e Choi, 2005). Em metade dos casos de melanoma, pode-se evidenciar a proteína *E-caderina*, fundamental para a ligação dos melanócitos pelos queratinócitos (Silva, 2012). O diagnóstico mais preciso nos casos de melanoma amelanótico é a associação da histopatologia com a imuno-histoquímica (IHQ), visto que a confirmação da IHQ é frequentemente necessária para estabelecer o prognóstico e a terapêutica mais adequada (Ramos-Vara *et al.*, 2000).

### **3.2.7.5 Diagnóstico por imagem**

#### **a) Radiografia**

A radiografia pode ser utilizada como método de identificação de metástases e com a finalidade de localizar massas orais e nasais que não podem ser visualizadas (Cavalcante, 2006). Também pode realizar-se radiografia de contraste e tomografia computadorizada com finalidade de determinar a extensão de neoplasias gastrointestinais, genito-urinárias e identificar as neoplasias profundas (Silva, 2012). Esses métodos são muito utilizados em animais que vão ser submetidos a cirurgias para a localização e delimitação do processo neoplásico (Cavalcante, 2006; Page e Gilson, 2001).

#### **b) Ultrassonografia**

A ultrassonografia auxilia na avaliação da localização e na delimitação da massa neoplásica, possibilitando a identificação dos grandes vasos sanguíneos adjacentes, natureza das cavidades quísticas, metástases e avaliação do volume tumoral inicial e pós-terapêutico (Silva, 2012; Page e Gilson, 2001).

### 3.2.8 Estadiamento clínico

O estadiamento clínico permite a avaliação e o planeamento das opções terapêuticas disponíveis para cada animal, determinação do grau de extensão e auxilia na determinação do prognóstico (Biller *et al.*, 2016; Arzi e Verstraete, 2012). O sistema de estadiamento do melanoma segue os critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), ou seja, tem por base o sistema TMN adaptado por Owen em 1980, no qual: **T** – tamanho da neoplasia primária e a sua extensão (profundidade na invasão, propagação à superfície e dimensão), **N** - envolvimento de linfonodos regionais (que neste caso inclui o superficial cervical, o mandibular e o parotídeo) e **M** - presença ou não de metástases à distância. Após a análise de todos estes factores, os casos recebem classificação em estágios de **I** a **IV**, em ordem crescente dependendo da severidade da doença, conforme descrito na **Tabela 5** (Martinho, 2022; Garcia, 2017; Bergman *et al.*, 2013

**Tabela 5:** Estadiamento do melanoma canino segundo o modelo adaptado por Owen, 1980.

<b>Tumor Primário (T)</b>			
<b>T1</b>	Tumor < 2 cm de eixo maior		
<b>T2</b>	Tumor 2 – 4 cm de eixo maior		
<b>T3</b>	Tumor > 4 cm de eixo maior		
<b>Linfonodos Regionais (N)</b>			
<b>N0</b>	Sem evidência de envolvimento dos linfonodos regionais		
<b>N1b</b>	Evidência histológica ou citológica de envolvimento dos linfonodos regionais		
<b>N2b</b>	Evidência histológica ou citológica de envolvimento de mais que um linfonodo regional		
<b>N3</b>	Linfonodos regionais aderentes		
<b>Metástases à Distância (M)</b>			
<b>M0</b>	Sem evidência de metástases à distância		
<b>M1</b>	Evidência de metástases à distância		
<b>Estadiamento</b>			
<b>Estágo</b>	<b>Tumor (T)</b>	<b>Linfonodos (N)</b>	<b>Metástases (M)</b>
<b>I</b>	T1	N0	M0
<b>II</b>	T2	N0	M0
<b>III</b>	T3 ou qualquer T	N0 ou N1b	M0
<b>IV</b>	Qualquer T	N2b ou N3 ou qualquer N	M0 ou M1

**Fonte:** Martinho (2022); Daleck e De Nardi (2017).

### 3.2.9 Diagnóstico diferencial

Os sinais clínicos não são suficientes para o estabelecimento de diagnóstico de melanoma, devido ao grande número de diagnósticos diferenciais, especialmente para o melanoma amelanocítico (Silva, 2012; Kusewitt e Choi, 2005). Na **Tabela 6** estão mencionadas as patologias a ter em conta no diagnóstico diferencial do melanocitoma e melanoma.

**Tabela 6:** Co-afecções que devem ser consideradas no diagnóstico diferencial do melanocitoma e melanoma segundo o grau de malignidade.

Tipo	Diagnóstico diferencial
Benigna Benigno	<p>Melanócitos benignos cutâneos normais, que podem aparecer no melanoma <i>in situ</i> no formato de máculas ou manchas de pele preta.</p> <p>Hiperpigmentação pós-inflamatória ou por causas endócrinas, que torna a pele pigmentada (melanoderma) e os macrófagos ficam carregados de hemossiderina.</p> <p>A resposta cutânea a inflamação pode levar a formação de nódulos pigmentados que podem ser confundidas com neoplasias.</p>
Maligna Maligno	<p>Ameloblastoma, sarcomas não diferenciados, epiteloma, adenoma, mastocitoma, Tumor Venéreo Transmissível Canino, linfoma, histiocitoma, hiperplasia das glândulas sebáceas, carcinomas de células escamosas e fibrossarcomas.</p>

Fonte: Silva (2012); Kusewitt e Choi (2005); Medleau e Hnilica (2003); Raskin (2003); (Thomé *et al.*, 2003); Hedlund (2002).

### 3.2.10 Tratamento

O tratamento do melanoma canino tem como objectivo controlar o tumor primário e reduzir o risco de ocorrência de metástase (Silva, 2012). Para a escolha do protocolo terapêutico deve-se ter em conta os seguintes aspectos: o prognóstico, estadiamento clínico, localização da neoplasia, comportamento das células neoplásicas e o grau de comprometimento das estruturas adjacentes. O tratamento de eleição para melanoma é a excisão cirúrgica, associada à radioterapia ou quimioterapia (Moreira *et al.*, 2017).

#### a) Cirúrgico

A cirurgia é o método de eleição para o tratamento do melanoma e deve ser realizada com uma margem de segurança de 2-3 cm (Silva *et al.*, 2006). A abordagem cirúrgica utilizada depende da localização da neoplasia, por exemplo nos melanomas orais pode ser realizada a mandibulectomia e ou maxilectomia (totais ou parciais) e geralmente associados a ressecção dos linfonodos regionais para reduzir os riscos de metástases.

As complicações comuns durante as intervenções cirúrgicas em pacientes com melanoma são hemorragias e hipotensão devendo ser garantida a disponibilidade de derivados de sangue (Gineste, 2016; Liptak e Withrow, 2007). A excisão cirúrgica local pode não ser eficaz dependendo do grau de evolução, pois o animal pode morrer devido às metástases alojadas em órgãos como pulmões, fígado, rins ou cérebro (Manzan *et al.*, 2005).

Diante da impossibilidade de ressecção cirúrgica, a crio-cirurgia tem sido uma alternativa terapêutica. Esta técnica tem a vantagem de destruir as células neoplásicas e com dano mínimo dos tecidos

adjacentes através do congelamento da massa. É considerada uma técnica segura por ser pouco invasiva e cruenta e, por apresentar raras ocorrências de infecções secundárias, principalmente em pacientes idosos e debilitados onde existe um risco anestésico (Gineste, 2016; Silva, 2012; Silva *et al.*, 2006).

#### **b) Radioterapia**

A radiação pode ser um tratamento paliativo efectivo em melanomas caninos, porém o tempo de sobrevida médio dos animais após o tratamento é curto devido às metástases ou recidivas locais. A técnica pode ser usada como tratamento primário ou complementar em casos de neoplasias incompletamente ressecadas (Gineste, 2016; Cunha *et al.*, 2013; Liptak e Withrow, 2007). Além disso, fornece também altas taxas de resposta, com remissões completas em 75% dos casos, sendo melhores respostas obtidas quando a neoplasia apresenta tamanho inferior a 5 cm<sup>3</sup>. No entanto, esta terapia tem como inconvenientes, o elevado custo e o número limitado de centros de radioterapia veterinária (Teixeira, 2014).

#### **c) Imunoterapia**

O melanoma é uma neoplasia com características imunogénicas, permitindo a modificação do sistema imune para o seu tratamento através do uso de vacinas (Gineste, 2016; Liptak e Withrow, 2007). A imunoterapia é realizada por meio de vacinas xenogénicas ou fármacos inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2). As vacinas xenogénicas aumentam a resposta imunológica do cão ao tumor, enquanto os inibidores de COX-2 neutralizam a super-expressão da enzima COX-2 nestes tumores.

#### **d) Quimioterapia**

A quimioterapia é indicada devido ao alto potencial metastático, porém melanomas geralmente são quimiorresistentes, a abordagem quimioterápica é usada em associação com a radioterapia (Liptak, 2003). Infelizmente, o tratamento para o melanoma canino nem sempre é eficaz, portanto, nem todos os casos são curáveis. Os agentes quimioterápicos de escolha no tratamento do melanoma são carboplatina, temozolamida e lupeol (Scott *et al.*, 1996).

### **3.2.11 Tempo de sobrevida médio**

Tempo de sobrevida médio é o período que compreende a exérese cirúrgica da massa neoplásica e o óbito do animal causado pela evolução da doença. A taxa de sobrevivência dos animais com melanoma é baixa e varia em torno de 10%, com sobrevida de aproximadamente um ano (Muchinski, 2017; Liptak e Withrow, 2007). Normalmente, o melanoma maligno é diagnosticado nos estágios avançados (III e IV) assim, mesmo depois a cirurgia o animal morre devido a complicações relacionadas à metástase

(Santos *et al.*, 2013). Entretanto, o tempo de sobrevida varia de acordo com a localização da neoplasia em cães (**Tabela 7**).

**Tabela 7:** Tempo médio de sobrevida de cães com Melanoma

Localização	Estadiamento	Cirurgia	Tempo (meses)	
Oral	Estádio	Após cirurgia	I	17 a 18
			II	5 a 6
			III	3
Cutânea	I-II		24 a 25	
Membros	I-II		22 a 23	
Lábios				

Fonte: Liptak (2003).

### 3.2.12 Prognóstico

O prognóstico do melanocitoma é considerado bom, em virtude de seu comportamento benigno. Entretanto, deve-se considerar a possibilidade de progressão e diferenciação para o melanoma. Enquanto que o prognóstico do melanoma é considerado mau, devido à elevadas taxas de recidivas e o desenvolvimento de metástases (Daleck e De Nardi, 2017).

A localização é um importante factor na determinação do prognóstico no melanoma, ao contrário de muitas neoplasias cujo prognóstico depende mais classificação histológica. Os melanomas orais têm pior prognóstico do que os melanomas cutâneos, pois o tempo médio de vida é de apenas três meses, dependendo do estágio (Jones, 2000). Os melanomas das extremidades distais são ainda mais violentos, pois têm elevada capacidade de recidiva (Scott *et al.*, 2001). A avaliação do prognóstico auxilia na previsão da evolução da doença ao longo do tratamento, e a sua determinação dependente de diversos factores (**Tabela 8**).

**Tabela 8:** Factores determinantes do prognóstico de melanoma canino.

Factor	Associação negativa
Metástase	Pulmão, fígado, baço, linfonodos e rins
Estadiamento (Estágios)	III e IV
Localização	Melanoma oral e subungueal
Invasão angiolinfática	Acometimento dos linfonodos regionais
Índice mitótico	>3 Mitoses por campos
Atipia nuclear	20% Núcleos atípicos
Grau de pigmentação	50% de células pigmentadas
Ulceração	Melanomas cutâneos e digitais
Nível de invasão	Derme e osso

Fonte: (Smedley *et al.*, 2022); Muchinski (2017); Gineste (2016); (Fonseca *et al.*, 2014); (Smedley *et al.*, 2011).

### 3.2.13 Metástases

Metástase é a disseminação de células neoplásicas para regiões diferentes do foco primário, sem continuidade entre as duas lesões. Os melanomas metastizam por duas vias: linfática e hematogena. Cerca de 70% das metástases disseminam-se pela via linfática, para os linfonodos locais e regionais. E por via hematogena afectam principalmente o pulmão e podem atingir os rins, o miocárdio, o fígado e o sistema nervoso central (Silva, 2018; Silva, 2012; Kim *et al.*, 2009; Meuten, 2002). A ocorrência de melanomas metastáticos em cães foi relatada em diversos estudos (**Tabela 9**).

**Tabela 9:** Diferentes melanomas caninos com metástases.

Título	Autor
Melanoma em cão com múltiplas metástases: Relato de caso.	Rodrigues <i>et al.</i> , 2014
Melanoma metastático em cão: Relato de caso.	Lindoso <i>et al.</i> , 2017
Melanoma intra-ocular com disseminação meníngea, pulmonar, renal e cardíaca em cão.	Silva, 2012
Melanoma metastático sem foco primário identificável em um cão Fila Brasileiro: Relato de caso e revisão da literatura	Bandeira, 2018
Melanoma de cavidade oral em cão com metástase nos linfonodos regionais: Relato de caso	Sardá, 2018
Case report unusual canine cutaneous melanoma presenting parietal bone metastasis: a case report	Hritcu., 2023
A Disseminated melanoma in a dog with involvement of leptomeninges and bone marrow	Kim <i>et al.</i> , 2009
Managing metastatic melanoma in 2022: A clinical review.	Switzer, <i>et al.</i> , 2022
Avaliação do rácio crânio-tumoral no prognóstico de cães com melanoma oral maligno.	Martinho, 2022

### 3.3 Melanoma canino como modelo comparativo para estudo do melanoma humano

Os melanomas caninos e humanos apresentam diversas semelhanças, como o aspecto histológico, alterações genéticas, alvos moleculares, comportamento biológico e resposta às terapias convencionais (Paoloni e Khanna, 2008). Por isso, o cão é usado como modelo comparativo oncológico pré-clínico (Simpson *et al.*, 2013). Os aspectos comparativos de melanoma canino e melanoma humano estão descritos na **tabela 10**.

**Tabela 10:** Aspectos comparativos entre o melanoma canino e o melanoma humano.

Variáveis	Melanoma	
	Canino	Humano
<b>Incidência</b>	5 - 7 % das neoplasias cutâneas	0,021 % da população mundial
<b>Faixa etária (anos)</b>	7-14	50-70
<b>Sexo</b>	Sem predileção sexual	Machos mais afectados
<b>Raça</b>	Boston Terrier, Boxer, Chihuahua, Chow Chow, Cocker Spaniel, Dobermann Pinscher, Rottweiler, Golden, Labrador Retriever.	Branca (cutâneo), Asiáticos e Africanos (acral e mucosas)
<b>Etiologia</b>	Multifactorial (genética associada), em humanos a radiação ultravioleta.	
<b>Predisposição</b>	Raças fortemente pigmentadas	Pele clara, cabelo loiro/vermelho, olhos azuis/verdes e exposição a radiação ultravioleta
<b>Sinais clínicos</b>	Variam de acordo com o tipo e localização anatómica	
	Nódulo ±10 cm, com/sem ulceração, pigmentação variável, séssil ou pedunculado.	Nódulo único/múltiplos, com/sem ulceração.
<b>Severidade</b>	Melanoma cutâneo, oral e ocular	Melanoma oral
<b>Estadiamento</b>	III e IV	V
<b>Terapia</b>	Cirúrgica, imunoterapia, quimioterapia	Cirúrgica, imunoterapia, quimioterapia e radioterapia
<b>Prognóstico</b>	Depende: Localização, metástase, estágios III e IV – <b>Mau</b>	

**Fonte:** Brito (2019); Neves (2018); Garcia (2017); Silva (2016); (Gillard *et al.*, 2013); (Shearin *et al.*, 2012); (Hedan *et al.*, 2011); (Smedley *et al.*, 2011); Teixeira (2011); Bradford (2009); Shoo e Kashani-Sabet (2009); Pulido (2007); Silva (2006); (Manzan *et al.*, 2005); Goldschmidt e Hendrick (2002); Owen (1980).



## 4 Descrição de dois casos clínicos diagnosticados no HEV durante o período de estudo

### 4.1 Materiais e Métodos

#### 4.1.1 Locais e período do estudo

O presente estudo foi realizado no Hospital Escolar Veterinário (HEV) e na Secção de Anatomia Patológica (SAP), ambos da Faculdade Veterinária (FAVET) da Universidade Eduardo Mondlane (UEM), sita no bairro Luís Cabral, Av. de Moçambique, Cidade de Maputo. O HEV é uma unidade hospitalar dedicada ao ensino e à prestação de serviços médico-veterinários que tem como missão desenvolver, complementar e aperfeiçoar as competências teórico-práticas dos estudantes de Medicina Veterinária. A SAP pertence ao Departamento de Sanidade e Saúde Pública da FAVET-UEM, é uma unidade laboratorial de ensino, investigação e extensão. No âmbito das actividades de extensão, o laboratório recebe e processa amostras de biópsias, peças cirúrgicas, órgãos e cadáveres, provenientes do HEV, clínicas veterinárias e veterinários ou pessoas singulares.

#### 4.1.2 Animais

Para a realização do presente estudo foram utilizados dois cães, das raças: Um Rottweiler que deu entrada no dia 07 de Novembro de 2014 e um Bullmastiff atendido no dia 30 de Agosto de 2022. Foram colhidos os seguintes dados dos pacientes: raça, sexo, idade, peso e modo de criação.

#### 4.1.3 Avaliação clínica

- **Anamnese:** recolha de informações sobre a queixa principal, início e curso da doença, doenças anteriores, estado vacinal e parasitário, medicação prévia e seus efeitos.
- **Exame clínico geral:** avaliação do *status praesens* e no exame físico foram aferidos parâmetros fisiológicos relativos a tríada, temperatura rectal e consistência, dôr e mobilidade dos linfonodos superficiais, coloração das mucosas e esclera, tempo de reenchimento capilar e elasticidade da pele.
- **Exame específico:** Observação: análise minuciosa e registo das características da lesão relacionadas à simetria dos bordos, mensuração, coloração e ulceração; Palpação: dos linfonodos locais e regionais afectados e da lesão para detecção de sinais de dôr, consistência e grau de invasão de tecidos adjacentes.

#### 4.1.4 Exames Complementares

- a) **Hematológico:** foram colhidos 5 ml de sangue através da venopunção da veia cefálica, o sangue foi depositado em um tubo com anticoagulante, Ácido Etilenodiamino Tetracético (EDTA) e processadas no laboratório de análises clínicas da FAVET-UEM.

#### 4.1.5 Exame histopatológico

Os fragmentos colhidos durante a biópsia foram enviados ao SAP e submetidos ao processamento histopatológico, segundo a técnica de Timm (2005):

- **Fixação:** imersão das amostras em formol a 10%;
- **Clivagem:** a uma espessura de 6 mm;
- **Desidratação:** imersão seriada das peças em álcool a seguintes concentrações - 70% (1 hora), 80% (1 hora), 96 % (2 horas) e 99,9% (2 horas);
- **Diafanização/Clarificação:** imersão das peças em Xilol durante 2 horas;
- **Impregnação e inclusão em parafina:** inclusão das peças em parafina, pré-aquecida a 60°C e redução da temperatura para permitir a solidificação;
- **Microtomia:** os blocos são seccionados no micrótomo numa espessura de 5 micrómetros;
- **Coloração:** imersão dos tecidos em hematoxilina (10 min) e depois em eosina (5min). As lâminas foram observadas por um patologista, buscando maior acuidade no diagnóstico e classificação histológica.

#### 4.1.6 Estadiamento clínico

O estadiamento foi estabelecido na base dos exames clínico-laboratoriais, localização anatômica da neoplasia, afecção dos linfonodos e características cito-histológicas.

#### 4.1.7 Avaliação do prognóstico

Os critérios utilizados para a avaliação do prognóstico foram os seguintes: localização das lesões, estadiamento clínico, presença ou ausência de metástase e grau histológico. O prognóstico foi classificado em favorável, reservado e desfavorável.

### 4.2 Resultados

Foram seleccionados dois cães com melanoma, tendo sido identificados como Paciente 1 (P1) e Paciente 2 (P2).

#### 4.2.1 Identificação e anamnese

Os dados sobre a identificação e história clínica dos pacientes dos casos clínicos estão resumidos na **tabela 11**.

**Tabela 11:** Dados de identificação dos pacientes e queixa dos tutores.

P	Raça	Idade (anos)	Sexo	Peso (kg)	Início da doença (dias)	Estado Corporal (1-5)	Pelagem
1	Rottweiler	10	Masculino	35	7	3	Preta
2	Bullmastiff	9		26	20		Castanha
<b>História pregressa</b>							
1	Ferida no dedo do pé esquerdo, resultante de uma unha partida há 1 semana, cocheava e deixava rastros de sangue por onde passava.						
2	Nódulo de coloração preta no lado direito da região torácica há cerca de três semanas.						

#### 4.2.2 Exame físico

Os resultados dos parâmetros fisiológicos mensurados durante o exame físico geral estão resumidos na **Tabela 12**.

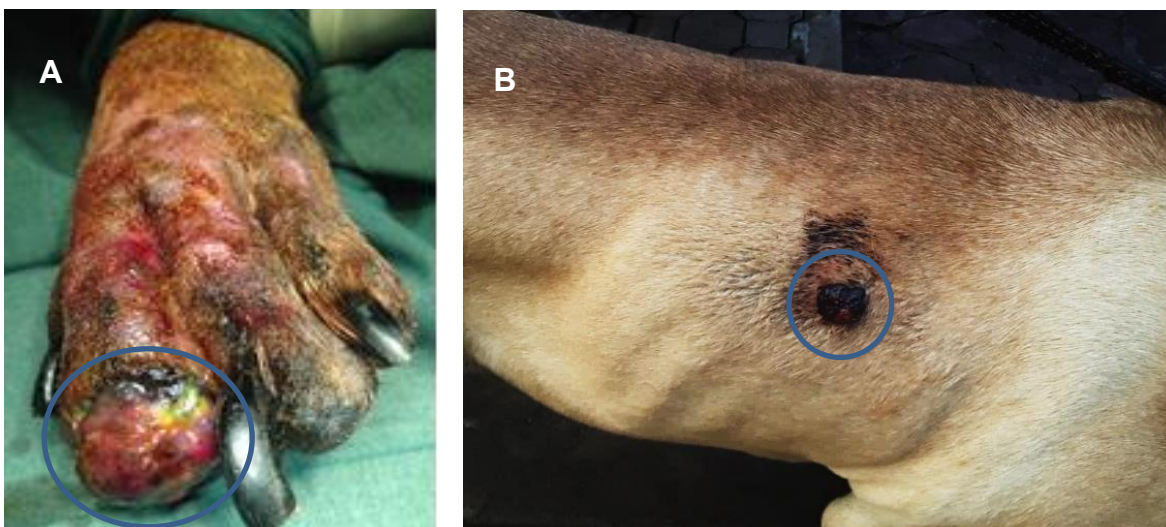
**Tabela 12:** Parâmetros fisiológicos avaliados durante ao exame físico dos pacientes.

Parâmetros		P	
		1	2
Respiração (MR/min)		30	25
Pulso (P/min)		170	112
Temperatura rectal (°C)		39,5°C	38,7°C
Mucosas		Rosadas	Rosadas
TRC		Normal	Normal
Elasticidade da pele		Normal	Normal
Linfonodos palpáveis	Tamanho	<b>Aumentado</b> (Poplíteo esquerdo)	Normal
	Consistência	<b>Firme</b>	Normal
	Dôr	<b>Presente</b>	Ausente
	Mobilidade	<b>Limitado</b>	Móveis

**MR/min:** Movimentos respiratórios por minuto. **P/min:** pulsações por minuto. **°C:** Graus Celsius. **TRC:** Tempo de reenchimento capilar.

#### 4.2.3 Exame específico

**P1:** Apresentava uma tumefacção ulcerada, 2,5 cm de diâmetro no 3º dedo do membro pélvico esquerdo com a invasão no 2º dedo, consistência firme, aspecto necrosante, com odor fétido, perda de unha, dôr a palpação e claudicação (**Figura 3A**). **P2:** nódulo enegrecido, aspecto de couve-flôr na região torácica direita (entre o 5º e 7º espaço intercostal), de tamanho 1x2x1 cm, com consistência macia e indolor (**Figura 3B**).



**Figura 2:** Achados observados durante o exame específico dos pacientes. **A. P1:** Ulceração do 3º dedo do membro pélvico esquerdo que invadida o 2º dedo de aspecto necrosante (círculo azul maior). **B. P2:** Nódulo multilobulado com aspecto de couve-flôr e hiperpigmentado (círculo azul menor).

#### 4.2.4 Exames complementares

##### a) Hematológico

No exame hematológico, os dois pacientes apresentaram resultados dentro dos limites de referência (Tabela 13).

**Tabela 13:** Resultados dos testes laboratoriais.

Parâmetro	P		Referência (Meyer et al, 1992)
	1	2	
Hemoglobina (g/l)	148	139	110-190
Hematócrito (%)	46,9	47,2	39-56
Eritrócitos (g/l) x10 <sup>6</sup>	7,35	7,9	5,50-8,50
VCM (fL)	64	64	62-72
HCM (pg)	22	23	20-25
CHCM (g/L)	304	307	300-380
Leucócitos totais x 10 <sup>9</sup>	6,35	7,5	6-17

**VCM:** Volume corpuscular médio. **HCM:** Hemoglobina corpuscular média. **CHCM:** Concentração de hemoglobina corpuscular média.

#### 4.2.5 Diagnóstico diferencial

Para o estabelecimento do diagnóstico diferencial foram considerados os seguintes aspectos: história clínica, características macroscópicas das lesões, assim foram consideradas as seguintes patologias: (**P1**) melanoma digital, carcinoma das células escamosas, unha encravada com conseqüente infecção bacteriana secundária, (**P2**) melanoma cutâneo, papiloma cutâneo, epiteloma, plasmocitoma, hiperplasia das glândulas sebáceas e fibrossarcomas.

#### 4.2.6 Diagnóstico presuntivo

De acordo com os resultados dos exames clínicos e hematológico, as suspeitas foram as seguintes (**P1**) lesão no dígito com posterior queda da unha resultando numa infecção bacteriana secundária e (**P2**) melanoma cutâneo.

#### 4.2.7 Intervenções terapêuticas efectuadas

O protocolo terapêutico para ambos os pacientes, está descrito na **Tabela 14**.

**Tabela 13:** Descrição dos procedimentos pré-operatório e operatório aplicados nos pacientes.

Procedimento	Fármaco/material	Dose (mg/kg)	Via
Pré-medicação	Procopen (Procaine Penicilin 30% Injectable Solution).	1ml/10	IM
	<b>P1 e P2:</b> Neuroleptoanalgesia: Cloridrato de morfina ( <b>CM</b> ) 10 mg/ml, associado a Acetilpromazina ( <b>ACP</b> ) 5 mg/ml	0,1 ( <b>CM</b> )	SC
		0,05 ( <b>ACP</b> )	IM
Indução	<b>P1:</b> Propofol 1%, tubo endotraqueal nº 8.	4	IV
	<b>P2:</b> Lidocaína a 2%, de 3 ml.	3	SC
Manutenção	<b>P1:</b> Halotano + Oxigénio a 2%.		Inalatória
<b>Preparação do campo operatório</b>			
1º: Pacientes em decúbito lateral na mesa cirúrgica; 2º: Desinfecção do campo operatório com iodopovidona 3º: Colocação dos panos e pinças de campo.			
<b>Descrição do método cirúrgico</b>			
Técnica	<b>P1:</b> 1) Incisão entre o 2º e 3º dedo e dissecação do tecido subcutâneo e muscular. Seguida de amputação do dígito afectado (técnica de Jonhson e Dunning, 2005). 2) Aposição das bordas feita com sutura intradérmica com poliglatina 3-0. 3) Aproximação das bordas da ferida foi com pontos isolados simples, usando poliamida 3-0 ( <b>Figura 4. A</b> ).		
	<b>P2:</b> 1) Incisão ao redor da massa tumoral (margem 2 cm do tecido tumoral) e dissecação romba do tecido subcutâneo até à remoção completa. 2) Aposição das bordas através da sutura intradérmica contínua simples com poliglatina 3/0. 3) Fechamento da ferida cirúrgica com pontos isolados simples, utilizando nylon 3/0 ( <b>Figura 4. C</b> ).		
Tipo	<b>P1:</b> Amputação total do 3º dígito do membro pélvico esquerdo. <b>P2:</b> Biópsia excisional do nódulo cutâneo.		
Pós-operatório	<b>P1:</b> Aplicação de pomada cicatrizante à base de óxido de zinco e protecção por uma bandagem ( <b>Figura 4. B</b> ). Antioterapia com Ciprofloxacina 10 mg/kg- 10 dias, e analgesia com Carprofeno 100 mg, na dose de 4,4 mg/kg -5 dias.		
	<b>P2:</b> Tratamento local e colocação do penso ( <b>Figura 4. D</b> ).		



**Figura 3:** Pacientes após a cirurgia. **A.** P1: Digictomia do 3º dígito do pélvico esquerdo. Fechamento da ferida cirúrgica com pontos isolados simples com poliamida. **B.** P1: Protecção da ferida com bandagem. **C.** P2: União dos bordos da ferida após a excisão cirúrgica. **D.** P2: Protecção da ferida com penso.

As peças removidas cirurgicamente foram conservadas em formalina a 10% e encaminhadas ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Veterinária para realização do exame histopatológico.

#### 4.2.8 Seguimento dos pacientes

- **P1:** Quarenta e cinco (45) dias após a cirurgia, devido ao agravamento do estado clínico e a pedido do tutor, o paciente foi submetido a eutanásia com tiopental sódico IV e o cadáver foi enviado a SAP para a realização da necrópsia. Durante a necrópsia, foram colhidas amostras de vários órgãos e processadas segundo o método de rotina de embebição em parafina e coradas com Hematoxilina e Eosina (HE).

- **P2:** Três meses após a cirurgia, a ferida cirúrgica estava completamente cicatrizada e notou-se crescimento de pêlos no local da cirurgia (Fig. 4). ilustra o aspecto do local de exérese do nódulo cutâneo do paciente 3 meses após a realização da cirurgia.



**Figura 4:** Crescimento de pêlos no local da ferida, 3 meses após a excisão cirúrgica.

#### 4.2.9 Exame histopatológico

##### 4.2.9.1 Achados macroscópicos

###### a) Paciente 1 (P1)

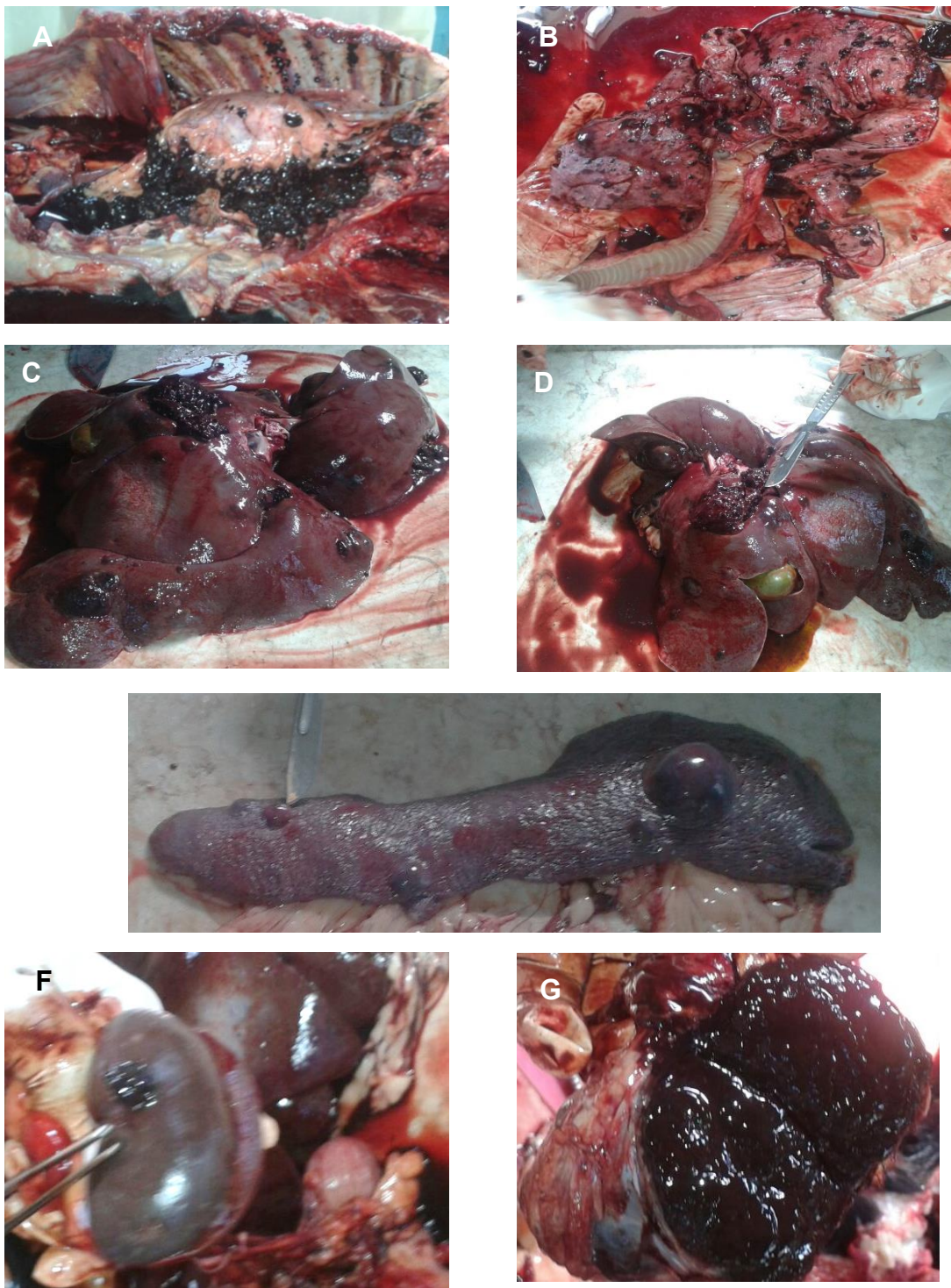
O membro afectado apresentava uma tumefacção ulcerada, 2,5 cm de diâmetro no 3º dedo do membro pélvico esquerdo, que invadia o 2º dedo, consistência firme, aspecto necrosante, com odor fétido, sem a unha,



**Figura 5:** Ulceração do 3º dedo do membro pélvico esquerdo que invadia o 2º dedo, de aspecto necrosante.

Durante a necrópsia, pode-se observar nódulos multifocais, com tamanhos que variavam de 1 a 3 cm, de coloração preta (melanina), e consistência mole, nas cavidades torácica e abdominal, pulmões, fígado, baço, rim esquerdo e nos linfonodos poplíteos (**Figura 6**).





**Figura 6:** Achados macroscópicos do P1. **A.** Nódulos multifocais enegrecidos na cavidade torácica e abdominal. **B.** Pulmão com vários focos de metástases na pleura e parênquima. **C e D.** Faces parietal e visceral do fígado respectivamente com metástases multifocais. **E.** Baço apresenta três nódulos regulares e lisos. **F.** Rim direito com nódulo multinodular enegrecido. **G.** Corte longitudinal do linfonodo poplíteo, com focos de metástases.



### **b) Paciente 2 (P2)**

A massa tumoral exofítica de 1x2x1 cm, com aspecto de couve-flôr, multilobulado, consistência firme. Bem delimitado, irregular e enegrecido. **Pele:** Fragmento cutâneo de superfície irregular e enegrecida. Ao corte apresentava áreas enegrecidas multifocais (**Figura 6**).

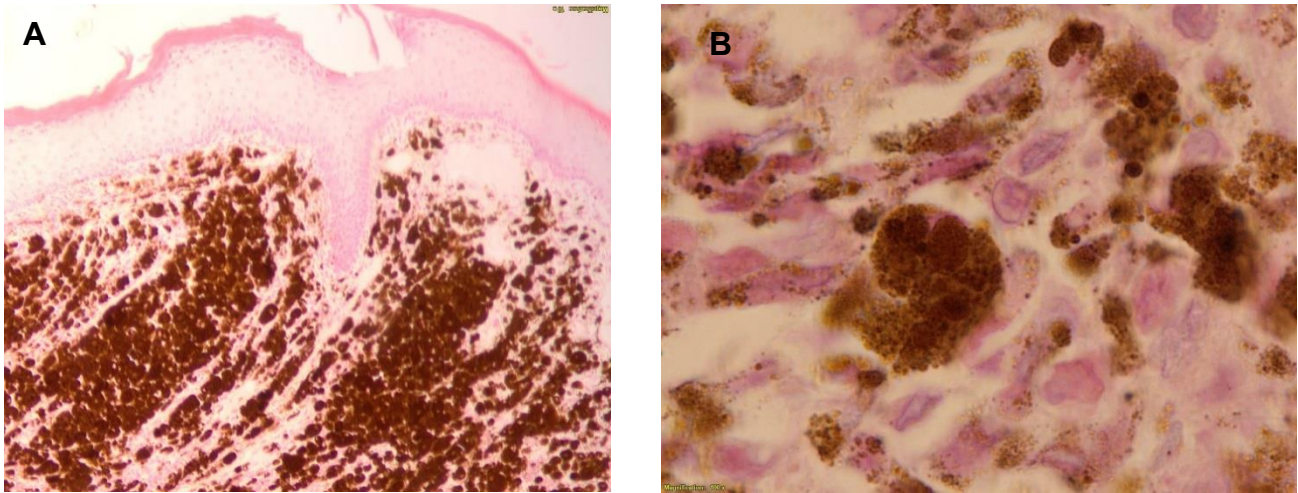


**Figura 7:** P2: Massa cutânea removida no P2 apresentava coloração enegrecida, aspecto lobular e bem delimitado.

### **4.2.9.2 Achados microscópicos**

#### **a) Paciente 1 (P1)**

Microscopicamente, observou-se na massa do dígito: derme superficial e profunda apresentava infiltração de células neoplásicas que variavam de redondas a poliédricas de distintos tamanhos, contendo no citoplasma o pigmento enegrecido (melanina). Células neoplásicas organizadas de diferentes formas: cachos, fileiras e isoladas. Entre as células neoplásicas há escasso tecido conjuntivo estromático (**Figura 8**). O mesmo tipo celular foi observado nos pulmões, linfonodo popliteo, fígado, baço e rim direito.

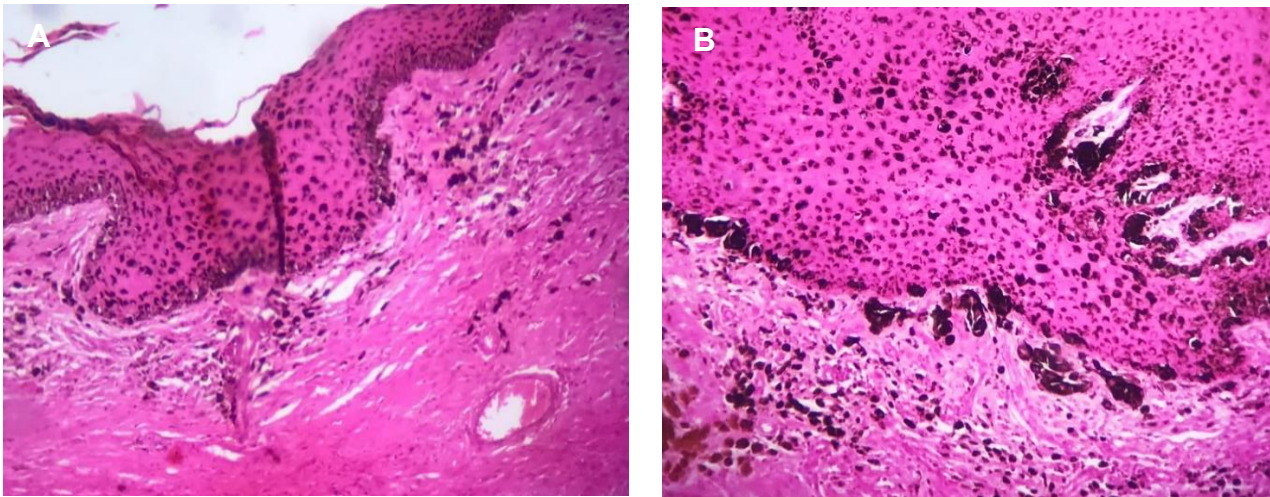


**Figura 8:** P1- Achados microscópicos do dígito. **A.** Epiderme espessa e formação de tecido cartilaginoso abaixo da epiderme estrato basal, infiltração de células neoplásicas na derme – 4X. **B.** Células neoplásicas de diferentes tamanhos na derme (pleomorfismo celular), contendo substância de coloração castanho-escura (melanina) no citoplasma, invasão de melanócitos neoplásicos na derme profunda (HE - 40X).

Os nódulos do pulmão, linfonodo popliteo, fígado, baço, rim e os das paredes das cavidades torácica e abdominal: apresentaram infiltrado de células neoplásicas com morfologia similar as observadas no nódulo do dígito.

#### **b) Paciente 2 (P2)**

**Massa tumoral:** da epiderme ao penículo adiposo, observa-se proliferação neoplásica de células epiteliais dispostas de maneira sólida e sustentadas pelo tecido conjuntivo escasso. As células são redondas a ovais com núcleo grande e central e citoplasma distinto contendo frequentemente pigmentos enegrecidos no seu interior (melanina). Área localmente extensa de hiperplasia na epiderme, e pelo menos uma figura de mitose por campo de maior ampliação (10X) (**Figura 9**).



**Figura 9:** Achados histopatológicos do nódulo do P2 (melanoma cutâneo). **A.** Epiderme espessa e com células contendo conteúdo enegrecido sustentadas do tecido conjuntivo (HE – 4X). **B.** Células com infiltrado de melanina (HE – 10X).

#### 4.2.10 Diagnóstico definitivo

De acordo com os achados clínico e histopatológicos, foi concluído que os animais padeciam de melanoma, cuja classificação para cada um deles encontra-se resumida na **Tabela 14**.

**Tabela 14:** Classificação dos melanomas diagnosticados nos pacientes.

<b>P</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Localização</b>	<b>Grau de malignidade</b>	<b>Fenótipo</b>	<b>Estadiamento</b>	<b>Prognóstico</b>
<b>1</b>	Melanoma	Subungueal	Maligno epitelióide	Melânico ou Pigmentado	<b>IV</b>	Mau
<b>2</b>		Cutâneo			<b>II</b>	Reservado

## 5 Discussão

As neoplasias melanocíticas são comuns em cães, e as raças mais acometidas são as que apresentam marcada pigmentação cutânea, e esta condição é considerada factor de risco para indivíduos com estas características no desenvolvimento do melanoma (Ramos-Vara *et al.*, 2000).

A raças com forte pigmentação afectadas pelo melanoma são: Airedale e Boston Terrier, Boxer, Chihuahua, Chow-Chow, Cocker Spaniel, Dobermann Pinscher, Golden Retriever, Schnauzer miniatura, Setter Irlandês, Springer Spaniel e Terrier Escocês (Goldschmidt e Hendrick, 2002 e Manzan *et al.*, 2005). Segundo Madruga (2011); Northrup e Gieger (2010), a raça Rottweiler apresenta maior predisposição para desenvolver melanoma nos dígitos, coincidindo com a raça do P1. Por outro lado, o P2 era um cão da raça Bullmastiff que não é considerada de maior risco para o desenvolvimento do melanoma. Contudo, de acordo com Amaral (2019), o melanoma pode ocorrer em qualquer raça, embora haja as de maior predilecção.

O risco de desenvolver melanoma aumenta com a idade (Smith *et al.*, 2002). No presente estudo, os cães diagnosticados com melanoma eram idosos, de 9 e 10 anos de idade, corroborando com vários autores que relataram maior incidência em cães com idade adulta e geriátrica. (Garcia, 2017; Teixeira *et al.*, 2010; Camargo *et al.*, 2008; Souza, 2005; Ramos-Vara *et al.*, 2000)

Ambos pacientes eram machos e de acordo com a literatura, não existe predisposição sexual para o desenvolvimento do melanoma (Garcia, 2017; Hauck, 2013; Liptak e Withrow, 2013; Ramos-Vara *et al.*, 2000). Entretanto, Silva (2020); Bedoya (2019); Silva (2018); Muchinski (2017), relataram maior prevalência de melanoma em fêmeas, enquanto que outros estudos apontam os machos como os predispostos, facto que é correlacionado aos factores hormonais (Teixeira *et al.*, 2010; Camargo *et al.*, 2008; Ferro *et al.*, 2004).

Em relação a coloração do (P1) era preta e (P2) castanho. De acordo com Manzan *et al.* (2005); Goldschmidt e Hendrick (2002), o surgimento do melanoma é associado a raças fortemente pigmentadas e em zonas da pele cobertas de pêlos. Muchinski (2017) e Camargo *et al.* (2008), verificaram maior prevalência do melanoma em cães de pelagem preta e Silva (2018) cães de pelagem castanho. E Gillard *et al.* (2013), propuseram que, diferentemente dos humanos, a incidência de radiação ultravioleta pode não ter papel tão preponderante no desenvolvimento e/ou progressão dos melanomas caninos, mas sim os factores genéticos e predisposição racial influenciam na ocorrência desta neoformação.

As lesões do membro pélvico representam cerca de 13% e as da pele da região torácica representam cerca de 6,5% do total dos melanomas (Souza, 2005). A localização no 3<sup>o</sup> dígito, observada no

presente estudo, coincide com o descrito por Madruga (2011) que relata o 2º e 3º dígitos de cães como os mais acometidos por neoplasias. A localização do melanoma ungueal no membro pélvico, não vai de acordo com o reportado por Marino *et al.* (1999); que demonstra uma maior ocorrência do tumor no membro torácico, podendo segundo Madruga (2011) atingir os 80% de acometimento.

Os sinais clínicos observados no P1 corroboram com Souza (2005); Goldschmidt e Hendrick (2002) que referem que o melanoma subungueal caracteriza-se por deformidades ungueais como paroníquia, onicomadese, oníquia crônica e perda da unha. A presença de ulceração representa um fenótipo de neoplasia mais agressiva, com maior probabilidade de ocorrência de metástase e prognóstico desfavorável (Dickson e Gershenwald, 2011). A claudicação foi também observada durante o exame físico, sinal clínico que de acordo com (Madruga, 2011), surge associado a alterações da unha, sobretudo à sua fratura ou destruição.

Na avaliação clínica, o P2 apresentou um nódulo hiperpigmentado, com aspecto de couve-flôr na pele da região torácica direita, de consistência mole e indolor. Achados similares aos relatados por Gillard *et al.*, (2013), Montanha e Azevedo (2013) e Vail e Withrow (2007). Os mesmos autores, referiram ainda que a coloração dos melanomas varia de acordo com os seguintes aspectos: grau de diferenciação, quantidade de melanina produzida, hiperpigmentação da epiderme subjacente e da actividade juncional e podem apresentar-se de várias formas de acordo com a localização anatômica, em forma de nódulos solitários ou múltiplos, negros, castanhos ou acinzentados.

Em ambos pacientes apresentaram progressão rápida P1 (4 meses) e P2 (3 semanas), corroborando com Gineste (2016) e Goldschmidt e Hendrick (2002); que referem que o melanoma maligno, frequentemente, tem crescimento rápido.

Os resultados dos exames hematológicos não indicaram alterações significativas, sugerindo ausência de síndromes paraneoplásicos, pois as alterações hematológicas em pacientes com melanoma podem estar ou não presentes (Dinis, 2017; Muchinski, 2017;).

O diagnóstico presuntivo foi estabelecido através da associação dos exames clínicos e hematológicos (Oliveira, 2014; Neuwald, 2013). Para o P1 foi estabelecida a suspeita de lesão digital com posterior queda da unha resultando numa infecção bacteriana secundária e para P2 foi melanoma cutâneo.

O tratamento estabelecido nos pacientes, foi cirúrgico, e segundo Silva *et al.* (2006) é o método de eleição, devendo garantir-se uma margem de segurança de 2-3 cm. Este método é descrito como curativo quando não há metástase e, é importante para a obtenção de amostra para a histopatologia (Romero Antelo, 2020; Coulthard *et al.*, 2013). Porém, em casos de melanoma digital em que o linfonodo regional esteja aumentado, Madruga (2011) sugere a amputação de todo o membro. Por outro lado, Oncept (2009) recomenda a combinação da amputação do dígito com o uso da vacina ADN

xenogénica, combinação esta que pode apresentar resultados satisfatórios e 83% dos animais sobrevivem cerca de 36 meses.

Tal como no presente estudo, vários autores reportam a realização da eutanásia em casos de melanomas com metástases (Bandeira, 2018). O melanoma é uma neoplasia altamente maligna com metástases recorrentes para linfonodos regionais e em seguida para os pulmões e ainda pode ocorrer em outros órgãos tais como, rins, fígado, pulmões, coração, vértebras, baço, costelas e vértebras (Gineste, 2016; Liptak e Withrow, 2007), facto observado no P1 deste estudo em que houve disseminação neoplásica para linfonodo, fígado, baço, rins, pulmões e paredes torácica e abdominal.

No presente estudo, a confirmação diagnóstica do melanoma foi obtida através do exame histopatológico que é considerado como o método de eleição (Rodrigues *et al.*, 2017 e Suzano *et al.*, 2010). Dessa forma, o P1 apresentou como diagnóstico definitivo melanoma subungueal, caracterizado por apresentar, histologicamente. E de acordo com o grau de malignidade e localização anatómica, é classificado como melanoma subungueal o epitelíóide metastático, pois ocorreu no dígito e apresentava células arredondadas localizadas nas camadas da epiderme, com bordas discretas e arredondadas, citoplasma abundante e *vítreo*, núcleo largo e nucléolo proeminente e, com metástases em outros órgãos (Silva, 2020; Souza, 2005).

Para o P2, foi estabelecido o diagnóstico de melanoma cutâneo, pois apresentava características descritas por Gineste (2016). De acordo com o grau de malignidade e localização anatómica, este é classificado também como melanoma cutâneo maligno epitelíóide (Silva, 2020; Souza, 2005).

Em relação a pigmentação melânica, em ambos os pacientes o melanoma foi classificado como melânico, portanto foi evidenciado melanina nas preparações histológicas, e a literatura afirma que estes casos são frequentes (Prouteau e André, 2019; Nishiya *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2015). Os melanomas ocorrem com a síntese de grande quantidade de melanina, o que o atribui a sua aparência enegrecida e, estes casos correspondem cerca de 80% dos casos de melanoma (Silva, 2020; Rolim *et al.*, 2012; Camargo *et al.*, 2008; Souza, 2005). De acordo com Gineste (2016) e Liptak e Withrow (2007), a pigmentação melânica dos melanomas, varia de intensa a não detectável, porém, os melanomas melânicos são menos pigmentados que os melanocitomas, o que torna o prognóstico desfavorável. Contudo, não se descarta a possibilidade de ocorrência de despigmentação de lesões pigmentadas, que possuem o contorno nuclear obscurecido pelos grânulos de melanina, para a avaliação da actividade mitótica e morfologia do núcleo.

O estadiamento clínico foi realizado com base nos achados clínicos e histopatológicos e, a classificação usada foi estabelecida pela OMS, que tem por base o sistema TMN adaptado por Owen (1980). Dessa forma, o P1 apresentava o aumento de dedo (2,5 cm), com envolvimento do pulmão, fígado, baço,

linfonodo e cavidade abdominal (T1; M1 e N1b), por isso foi classificado como melanoma do estágio IV. O P2 apresentou um nódulo de 2 cm na região torácica direita, sem envolvimento dos linfonodos regionais, entretanto, não foram realizados exames por imagem para averiguar metástases e, a neoplasia foi classificada como melanoma do estágio II. A literatura refere que os animais com melanoma se apresentam na clínica geralmente nos estágios **IV** e **V**, devido ao facto dos sinais clínicos serem discretos e a sua detecção ser frequentemente tardia, isto é, quando a doença já se encontra num estágio avançado (Martinho, 2022; Dobson e Morris, 2001).

A determinação do prognóstico depende de vários factores, nomeadamente: localização, características histológicas, raça e taxa de proliferação (Madruga, 2011; Vail e Withrow, 2007). O P1 apresentou prognóstico desfavorável, devido ao facto de o animal apresentar melanoma no estágio IV, de localização subungueal com envolvimento dos pulmões, fígado, baço, linfonodo rins e parede toracoabdominal, de alto índice mitótico e com ulceração digital. De acordo com a literatura, estes aspectos contribuem negativamente no prognóstico (Martinho, 2022; Silva, 2018; Muchinski, 2017; Gineste, 2016). O P2 apresentou prognóstico reservado devido ao facto de o melanoma ter sido classificado como de estágio II, localizado na pele, na região torácica direita, sem acometimento dos linfonodos e sem ulceração da lesão. Estes achados favoreceram o prognóstico do melanoma, em especial a localização pois a detecção de neoplasias localizadas na pele é fácil e para tutores que são atenciosos levam os animais a consulta quando observam mínima alteração, o que faz com que muitas doenças sejam diagnosticadas precocemente, favorecendo dessa forma o prognóstico (Martinho, 2022; Silva, 2018; Muchinski, 2017; Gineste, 2016).

Geralmente, os melanomas com localização subungueal apresentam prognóstico desfavorável em relação aos que afectam a pele, pois metastizam-se em 50% dos casos e frequentemente há lise óssea adjacente (Souza, 2005; Medleau e Hnilica, 2003; Goldschmidt e Hendrick, 2002). A metastização do melanoma torna o prognóstico mau. Neste caso, um dos sinais clínicos detectados foi a linfadenopatia regional, coincidindo com o estudo de Madruga (2011).

Algumas regras básicas permitem o reconhecimento rápido do melanoma cutâneo em lesões melanocíticas: tamanho, forma e superfície; crescimento rápido, descamação, ulceração, sangramento, prurido, dor e áreas papulosas ou nodulares sobre máculas pigmentadas (Brito, 2019; Silva, 2013). O reconhecimento do nódulo do paciente pelo tutor e a rápida procura pelo Médico Veterinário, permitem uma avaliação clínica mais apropriada, evitando dessa forma complicações no pós-operatório além de diminuir consideravelmente a probabilidade de metástases, pois o diagnóstico precoce do melanoma e melanocitoma aumenta as possibilidades de sucesso no tratamento. O que correlaciona com o P2, pois o reconhecimento imediato do nódulo do paciente pelo tutor e a procura ao médico veterinário de forma rápida, permitiram uma avaliação clínica mais apropriada, evitando dessa forma complicações

pós-cirúrgicas, e a obtenção de margem de segurança cirúrgica está também facilitada em neoplasias de pequenas dimensões.

O P1 apresentou tempo de sobrevida de  $\pm$  4 meses (120 dias) e metástases em vários órgãos, corroborando com Muchinski (2017) e Liptak e Withrow (2007), que afirmam que a taxa de sobrevivência dos animais com melanoma é baixa e varia em torno de 10%. Liptak, (2003), ainda afirma que cães com tumores maiores que 2 cm de diâmetro ou com metástase no fígado, apresentam um tempo médio de sobrevida reduzido (em torno de 164 dias).

E conforme apresentado nos exames complementares solicitados, o P2 não manifestou nenhuma outra alteração além do nódulo, estando bem saudável e com boa disposição ao tratamento preconizado, o que pode demonstrar maior tempo de sobrevida deste paciente. Manzan *et al.* (2005), observaram que cães com melanomas cutâneos de tumores menores, tratados cirurgicamente, apresentam tempo médio de sobrevida de 12 meses e percentagem de óbito de 54% dentro de dois anos e cães com tumores maiores, apresentam tempo médio de sobrevida de quatro meses e percentagem de óbito de 100% dentro de dois anos. Facto este que ainda não pode ser correlacionado com o P2 em estudo, já que o mesmo ainda está em fase de monitoramento.



## 6 Conclusões

- A evolução dos melanomas foi rápida, sendo para melanoma subungueal quatro (4) meses e cutâneo três (3) semanas;
- Ambos pacientes, os melanomas foram classificados como malignos epitelióides.
- Na análise histopatológica, em ambos pacientes foram observadas células com conteúdo enegrecido (melanina), o que indica maior ocorrência de melanoma melânico;
- O P1 apresentou-se com melanoma subungueal no estágio avançado (IV) e com prognóstico desfavorável; enquanto o P2 apresentou-se com melanoma cutâneo no II estágio e com o prognóstico reservado;
- A modalidade terapêutica instituída foi cirúrgica e aumentou o tempo de sobrevida do P2, e não do P1 pois, devido ao agravamento do quadro clínico foi eutanasiado.

## 7 Recomendações

### **Ao HEV:**

- A realização de exames citológicos e biópsias para a avaliação histopatológica, em animais com suspeita de neoplasias;
- Aprimoramento do diagnóstico por imagem para a detecção precoce de metástases.

### **Aos tutores:**

- Levar os animais periodicamente ao veterinário;
- Consultar prontamente um profissional, sempre que notar qualquer alteração na pele do animal.

## 8 Referências Bibliográficas

1. Abreu, C. C., Honorio, M. T., Lima, R. C. C. Seixas, J. N. (2014). **Melanoma osteogênico oral em cão**. XXIII Congresso De Pós-Graduação Da UFLA. Universidade Federal de Lavras, Lavras. Brasil.
2. Amaral, A.; Morales, S. I.; De Andrade, A. A.; Galiza, A. X. F.; Da Silva, L. M. E.; Fernandes, C. G. (2019). **Melanoma metastático canino**. XXVII Congresso de Iniciação Científica. Brasil.
3. Arzi, B.; Verstraete, F.J.M. (2012). **Clinical staging and biopsy of maxillofacial tumors**. In: Oral and Maxillofacial Surgery in Dog and Cats, pp. 373-380.
4. Asuquo, M. E.; Nwagbara, V.I.; Otei, O. O.; Bassey, I.; Ugbem, T. (2012). **Cutaneous Malignant Melanoma in Calabar, South Nigeria. Scientific reports. Calabar, Nigeria**. pp. 1-307.
5. Bandeira, L.G.R; (2018). **Melanoma metastático sem foco primário identificável em um cão fila Brasileiro – relato de caso e revisão de literatura**. Dissertação (Bacharelato em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba. Areia – Brasil.
6. Bedoya, S.A.O. (2019). **Estudo retrospectivo de neoplasias melanocíticas cutâneas espontâneas em cães: caracterização histopatológica, morfométrica e sequenciamento de TP53**. Tese (Doutoramento em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais – Brasil, pp. 1-65.
7. Bergman, P.J; Kent, S.M; Faerese, J.P. (2013). **Melanoma**. In; Withrow, S.J.; Vail, D.M.; Page, R.L. **Small animal clinical oncology**. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders: St. Louis, MO, USA, pp. 321-333.
8. Biller, B.; Berg, J.; Garrett, L.; Ruslander, D.; Wearing, R.; Abbott, B.; Bryan, C. (2016). **AAHA Oncology guidelines for dogs and cats**. American Animal Hospital Association. Vol. 52, nº 4, pp. 181-204.
9. Brito, G.F; (2019). **Melanoma em cadela – relato de caso**. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso). Centro Universitário Luterano de Palmas. Palmas – TO. Brasil.
10. Brito, M.F.; França, T.N.; Jabour, F.F.; Seixas, J.N.; Andrade, G.B.; Oliveira, L.I.; Peixoto, P.V. (2009). **Melanoma oral metastático em uma vaca**. Ciência Rural, Santa Maria. Brasil. Vol. 39, nº 4, pp 1248-1252.
11. Borges J. (2003). **Melanoma, a forma mais letal da doença**. Scientific American. Brasil, nº 15, pp.49-50.
12. Bragulla, H.; Budras, K.D.; Mulling, C. (2004). **Tegumento comum**. In: Konig, H.E.; Liebich, H.G. Anatomia dos Animais Domésticos. Porto Alegre. Brasil. Artmed, pp. 325-378.
13. Camargo, L.P.; Conceição, L.G.; Costa, P.R.S. (2008). **Neoplasias melanocíticas cutâneas em cães: estudo retrospectivo de 68 casos (1996-2004)**. Brazilian Journal of Veterinary. Research Animal Scientific, São Paulo. Brasil. Vol. 45, nº 2, pp. 138-152.
14. Cavalcante J.A. (2006). **Avaliação da incidência do melanoma em um estudo retrospectivo de 37 cães (canis familiaris) com neoplasias, atendidos na clínica escola de medicina veterinária**

- da universidade castelo branco e na clínica veterinária ossian.** Monografia de Conclusão do Curso (Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Rio de Janeiro. Brasil.
15. Coulthard, P.; Horner, K.; Sloan, P.; Theaker, E.D. (2013). **Master dentistry e-book.: Oral and Maxillofacial Surgery, Radiology, Pathology and Oral Medicine.** Elsevier Health Sciences. Vol 1.
  16. Cunha, S.C.S.; Holguin, P.G.; Corgozinho, K.B.; Azevedo, S.C.S.; Carvalho, L.A.V.; Ferreira, A.M.R. (2013). **A Utilização da radioterapia como terapia adjuvante no tratamento do melanoma oral em um cão.** Acta Scientiae Veterinariae. Vol. 41, nº 6, pp. 1-5.
  17. Dal Ross, M.L.R.; Cardoso, L.S.B.; Sziminski, J.M.; Cunha, J.C.; Eireli, C.B.; Cavalcanti, G.A.O. (2021). **Melanoma amelanótica felino: relato de caso.** 7ª Semana Integrada UFPEL 2021. XXX CIC – Congresso de Iniciação Científica. Porto Alegre. Brasil.
  18. Daleck, C.R.; De Nardi, A.B. (2017). **Oncologia em cães e gatos.** 2ª ed.; Roça; Rio de Janeiro. Brasil. pp. 766.
  19. Dariva, A.; Rodrigues, F.; Boranga, L.B.; Strzykalski, M.H.; Oliveira, J.K. (2017). **Neoplasias malignas de pele.** Associação Médica da Escola de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande Sul. Brasil.
  20. Dallabrida, S.B.; Henrich, A.; Cardona, R.O.C.; Bassuino, D.M.; Wolkmer, P.; Palma, H.E. (2018). **Melanoma amelanótico em um canino – Relato de caso.** In: Seminário Interinstitucional de Ensino Pesquisa e Extensão, Cruz Alta. Anais. Cruz Alta: Ciência e Diversidade; pp. 1-4.
  21. Dickson, P.V.; Gershenwald, J. (2011). **Staging and prognosis of cutaneous melanoma.** Surgical Oncology Clinics of North America. Vol. 20, nº 1, pp. 1-17.
  22. Dinis, R.M.S. (2017). **Avaliação de factores de prognósticos associados ao fibrossarcoma no gato – estudo retrospectivo.** Dissertação (Mestrado na Faculdade de Medicina Veterinária). Universidade de Lisboa, Lisboa. Portugal. pp. 4-44.
  23. Dobson, J.; Morris, J. (2001). **Small Animal Oncology.** Oxford: Blackwell Science Ltd, pp. 4- 12 e 15-22.
  24. El-Shafaey, E.; Hamed, M. F. (2020). **Uveal Melanoma in an Aradi Goat (Capra aegagrus hircus).** Journal of Comparative Pathology. Vol. 177. pp. 5-9
  25. Ferrara, G.; Argenziano, G. (2021). **The WHO 2018 classification of cutaneous melanocytic neoplasms: suggestions from routine practice.** Frontiers in Oncology. Vol. 11, nº 67, pp. 52-96.
  26. Ferro, D.G.; Lopes, F.M.; Venturini, M.A.F.; Correa, H.L.; Gioso, M.A. (2004). **Prevalência de neoplasias da cavidade oral de cães atendidos no centro odontológico veterinário Odontovet entre 1994-2003.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama, Universidade Paranaense. Cascavel. Brasil. Vol. 7, nº 2, pp. 123-128.

27. Fonseca, A.K.S., Muzzi, B.S., Rios, P.B.S., Kawamoto, F.Y.K.; Sampaio, G.R. (2014). **Hemimaxilectomia caudal em cão com melanoma amelanocítico – Relato de caso.** XXIII Congresso de pós-graduação da UFLA. Lavras, Minas Gerais. Brasil.
28. Friedrich, S.P.; Gracioli, M.S.A. (2002). **Relatando o caso de um paciente com melanoma: Um desafio.** *Disciplinarum Scientia. Ciências Biológicas e da Saúde.* Santa Maria, Vol. 3, nº 1, pp. 1-12.
29. Garcia, J.S. (2017). **Avaliação da expressão das galectinas no melanoma canino.** Dissertação (Mestrado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia). Universidade de São Paulo. Brasil.
30. Geneste, D.I. (2016). **Melanomas orais em cães: Relato de caso.** Dissertação (Pós-graduação em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais). Centro Universitário CESMAC. Curitiba/PR. Brasil.
31. Gillard, M.; Cadieu, E.; Brito, C.; Abadie, J.; Vergier, B.; Devauchelle, P.; Degorce, F.; Dreano, S.; Primot, A.; Dorso, L.; Lagadic, M.; Galibert, F.; Hedan, B.; Galibert, M.D.; Andre, C. (2013). **Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-uv pathways of human melanomas.** *Pigment and Cell Melanoma.* Vol. 27, nº 1, pp. 90-102.
32. Gioso, M.A. (2007). **Neoplasias da cavidade oral.** In: *Odontologia Veterinária para o Clínico de Pequenos Animais.* 2ª Ed. São Paulo: Manole. Brasil. Cap. 10, pp. 91-100.
33. Goldschmidt, M.H.; Goldschmidt, K.H. (2017). **Epithelial and melanocytic tumors of the skin.** In Meuten, D. J., **Tumors in domestic animals.** 5<sup>th</sup> ed. Iowa: John Wiley; Sons.
34. Goldschmidt, M.H.; Hendrick, M.J. (2002). **Tumors of the skin and soft tissues.** In Meuten, D.J. *Tumors in Domestic Animals.* Iowa: Blackwell Publishing, pp. 45-94.
35. Haass, N.K.; Smalley, K.S.; Herlyn, M. (2004). **The role of altered cell-cell communication in melanoma progression.** *Journal of Molecular Histology.* Vol. 35, nº 3, pp. 309-318.
36. Hedlund, C.S. (2002). **Cirurgia do sistema digestório. Cirurgia de pequenos animais.** Roca. São Paulo. Brasil. pp. 246-249.
37. Hritcu, O.M. Daraban, F.B. Bacusca, F.D. Aurelian-Sorin, P. (2023). **Case report unusual canine cutaneous melanoma presenting parietal bone metastasis: a case report.** *Veterinary Medicine and Science.* pp. 10 - 282.
38. Jones, C.J.; Hunt, R.D.; King, N.W. (2000). **Sistema digestivo: Patologia veterinária.** 6ª ed. Manole – São Paulo. Brasil. pp. 871-873 e 1067-1068.
39. Junior A.R.S.; Manzan R.M.; Perinelli S.C.; Bentoncelli M.F.; Zica V.P. (2005). **Considerações sobre melanoma em cães: uma abordagem histológica.** *Boletim médico veterinário – UNIPINHAL,* Espírito Santo do Pinhal, São Paulo. Brasil. Vol. 1, nº 1.
40. Kayes, D.; Blacklock, B. (2022). **Feline uveal melanoma review: our current understanding and recent research advances.** *Veterinary sciences.* 9- 46.

41. Khanna, C; Gordon, I. (2009). **Catching cancer by the tail: new perspectives on the use of kinase inhibitors**. Clinical Cancer Research. Vol. 15, nº 11, pp. 3645–3647.
42. Kim, D.Y.; Royal, A.B.; Villami, J.A. (2009). **Disseminated melanoma in a dog with involvement of leptomeninges and bone marrow**. Veterinary Pathology. Vol. 46, nº 1, pp. 80–83.
43. Kumar, V.; Vishnoi, J.; Kori, C.; Misra, S.; Akhtar, N. (2015). **Primary malignant melanoma of oral cavity: A tertiary care center experience**. National Journal of Maxillofacial Surgery. Vol. 6, nº 2, pp. 167-171.
44. Kusewitt D.F., Choi C. (2005). **Comparison of tyrosinase – related protein-2, S-100, and melanin immunoreactivity in Canine Amelanotic Melanomas**. Veterinary Pathology. Vol. 40, pp. 713-718.
45. Lima, W.H.A.; Damasceno, E.S.; Bertipaglia, K.S.S.; Teza, J.; Ribeiro, M.; Silva, L.A.; Schenkel, D.M.; Furlan, F.H. (2014). **Neoplasias melanocíticas em bovinos abatidos em frigorífico na região Norte de Mato Grosso**. VIII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário. I Encontro Internacional de Sanidade de Animais de Produção, pp. 1-2.
46. Lindoso, J.V.D.S.; Rufino, A.K.B.; Da Silva Luz, P.M.; Da Silva, T.S.; De Sousa Júnior, F.L.; De Sousa, F.B.; Da Silva Sales, K.D.K. (2017). **Melanoma metastático em cão: Relato de caso**. PUBVET. Vol. 11, pp. 313-423.
47. Liptak, J.M. (2003). **Cancer of the gastrointestinal tract**. Small Animal Clinical Oncology. 4ª ed. Philadelphia: Elsevier, pp. 455-465.
48. Liptak, J.M.; Withrow, S.J. (2007). **Cancer of the gastrointestinal tract: oral tumors**. In Vail, D.M.; Withrow, S.J. (Eds). Withrow and Macewen's small animal clinical oncology. 4ª ed., Missouri: Saunders Elsevier, pp. 455-472.
49. Madruga, F.L. (2011). **Neoplasias dos dígitos em cães**. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária em Lisboa. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. Portugal. pp. 15-23.
50. Martinato, F. (2017). **Fibrossarcoma com metástase em coração e pulmão de cão – Relato de Caso**. Monografia (Trabalho de Culminação de Curso na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias). Universidade Estadual Paulista, Brasil. pp. 7-18.
51. Manzan, R.M.; Junior, A.R.S.; Perinelli, S.C.; Fátima Bertoncilli, M.; Zica, V.P. (2005). **Considerações sobre melanoma maligno em Cães: Uma abordagem histológica**. Boletim de Medicina Veterinária, nº 1, pp. 1-7.
52. Medleau L.; Hnilica K.A. (2005). **Alterações da pigmentação: dermatologia de pequenos animais**, pp. 208-209.
53. Melo-Neto, G.B.; Correia, D.A. B.; Mesquita, E.P.; Torres, M.B.M.A. (2019). **Melanoma metastático em caprino**. Acta Scientiae Veterinariae. Vol. 47, nº 1, pp. 419.
54. Meuten DJ. (2017). **Tumors in domestic animals**. 4ª ed. Iowa State Press: Ames, pp. 989.

55. Mesaric, M.; Zadnik, T.; Manca, C. (2002). Malignant melanoma in Cow. Institute for Pathomorpholog. Ljubijana, Slovenia. Vol. 52. nº. 1. pp. 59-64
56. Meyer, D.J.; Coles, E.H.; Rich, L.J. (1992). **Veterinary laboratory medicine interpretation and diagnosis**. W.B. Saunders Company. Philadelphia. USA. pp. 328-329.
57. Moore, J. S.; Shaw, C.; Shaw, E.; Buechner-Maxwell, V.; Scarratt, W. K.; Crisman, M.; Furr, M.; Robertson; J. (2013). **Melanoma in horses: Current perspectives**. Center for Comparative Oncology, Virginia, USA. Pp. 144-150. Moreira, M.I.; Rodrigues, M.C.; Silva, F.L.; Araújo, B.M.; Gomes, M.S.; Liarte, A.S.C.; Nunes, M.H.V. (2017). **Melanoma amelanótico oral em cão jovem: Relato de caso**. Pubvet, Piauí. Brasil. Vol. 11, nº 12, pp. 1233-1238.
58. Montanari, T. (2016). **Histologia: Texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 3ª ed. Porto Alegre. Brasil. pp. 169-174.
59. Montanha, F.P.; Azevedo, M.G.P. (2013). **Melanoma oral em cadela – Relato de caso**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, nº 20.
60. Mosqueira, J.R.; Gomez, E.; Bravo, F.; Veja, J.D.; Solo, L. (2017). **Malignant melanoma: case report and review of the literature**. Open Access Journal of Translational Medicine and Research. San Martin de Porres. Vol. 1, nº 2, pp. 33-35.
61. Muchinski, C.M. (2017). **Melanoma em cavidade oral de cães: estudo retrospectivo de 25 casos**. Monografia (Trabalho de Culminação de Curso). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG. Brasil. pp. 11-18.
62. Muller, R.M.; Scott, D.W.; Griffin, C. (2001). **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. 6ª ed. Philadelphia. USA. Saunders, pp. 1528.
63. Neves, P.L.A. (2018). **Melanoma cutâneo: aspectos histológicos e clínicos dos casos diagnosticados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais no Período de 1995 a 2017**. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Patologia Médica). Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Brasil.
64. Nelson, R.W.; Couto, C.G. (2009). **Small Animal Internal Medicine**. 4ª ed. St. Louis: Mosby Elsevier, pp. 1143-1195.
65. Neuwald, E.B. (2013). **Alterações hemato-bioquímicas e cardíacas em cães com linfoma**. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) / Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Brasil, pp. 10-98.
66. Nishiya, A.T.; Perlmann. E.; Massoco, C.O.; Tedardi, M. (2016). **Comparative aspects of canine melanoma**. Veterinary Sciences. Vol. 3, nº 1, pp. 7.
67. Norval, M.; Wright, C. Y. (2017). **The epidemiology of cutaneous melanoma in the white and black African population groups in South Africa**. South African Medical Research Council, Pretoria, South Africa. pp. 23-38

68. Oliveira, A.I.A. (2014). **Linfoma canino e felino: revisão bibliográfica e estudo de 3 casos clínicos**. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade de Lisboa. Lisboa. Portugal. pp. 4-51.
69. Owen, L.N. (1980). **TNM classification of tumor in domestic animals**. In: World Health Organization. Genebra. Suíça, pp. 16-20.
70. Page R.L.; Gilson S.D. (2001). **Princípios de oncologia**. Clínica de pequenos animais. Rio de Janeiro. Roca, pp. 209-210.
71. Parreira, I.M.; Keglevich, E. (2005). **As neoplasias em cães**. Enciclopédia Biosfera, pp. 11-32.
72. Prouteau, A.; André, C. (2019). **Canine melanomas as models for human melanomas: clinical, histological, and genetic comparison**. Genes. Universidade Rennes. França Vol. 10, nº 501, pp. 1-20.
73. Pimenta, J.; Prada, J.; Cotovio, M. (2023). **Equine melanocytic tumors: A Narrative Review**. Vila Real, Portugal. 13, 247. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani13020247>
74. Pulido, J.Z. (2007). **Melanoma maligno**. Revista Brasileira de Oncologia Clínica. Vol. 4, nº 11, pp. 25-29.
75. Puerari, G. (2019). **Melanoma extra cutânea em região orbital em gato submetido à enucleação prévia: relato de caso**. Trabalho (Especialidade de Clínica de Medicina de Felinos Domésticos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Brasil, pp. 5-21.
76. Ramos-Vara, J.A.; Beissenherz, M.E.; Miller, M.A.; Johnson, G.C.; Pace, L.W.; Fard, A.; Kottler, S.J. (2000). **Retrospective study of 338 canine oral melanoma with clinical, histologic and immunohistochemical review of 129 cases**. Veterinary Pathology. Vol. 37, pp. 597-608.
77. Raskin R.E. (2003). **Pele e tecido subcutâneo**. Atlas de citologia de cães e gatos. Roca. São Paulo. Brasil., pp. 64-67.
78. Ribeiro, T.A.; Ferreira, V.R.F.; Mondego-Oliveira, R.; Andrade, F.H.E.; Abreu-Silva, A.L.; Oliveira, I.S.; Melo, S.A.; Teofilo, T.S; Torres, M.A.O. (2020). **Epidemiological profile of canine neoplasms in São Luís/MA: a Retrospective study (2008-2015)**. Research, Society and Development. Vol. 9, nº 12, pp. 2-10.
79. Rizk, A.; Mosbah, E.; Karrouf, G.; Abou Alsoud, M. (2013). **Surgical management of penile and preputial neoplasms in equine with special reference to partial phallectomy**. Journal of Veterinary Medicine. Vol. 2013, pp. 8-10.
80. Rissi, D.R.; Figuera, R.A.; Irigoyen, L.F.; Lacorte, F.D.; Barros, C.S.L. (2008). **Melanoma maligno anaplásico em um equino**. Ciência Rural, Santa Maria. Brasil. Vol. 38, nº 7, pp. 2072-2075.
81. Rodrigues, A.C; Castro, M.R; Viscone, E.A; Oliveira, L.A; Medeiros, A.A. (2017). **Melenoma em cão com múltiplas metástases – Relato de caso**. Vol. 10, nº 18, pp. 6-77.



82. Rolim, V.M.; Casagrande, R.A.; Watanabe, T.T.; Wouters, A.T.; Wouters, F.; Sonne, L.; Driemeier, D. (2012). **Melanoma amelanótico em cães: Estudo retrospectivo de 35 casos (2004-2010) e caracterização imuno-histoquímica**. Pesquisa Veterinária Brasileira. Vol. 32 nº 4, pp. 340-346.
83. Romero Antelo, M.M.M.G. (2020). **Biópsias: Diferentes abordagens cirúrgicas**. Dissertação (Mestrado Integrado de Medicina Dentária). Faculdade de Medicina Dentária – Universidade do Porto. Portugal. pp. 2-15.
84. Sardá, F. O. (2018). **Melanoma de cavidade oral em cão com metástase nos linfonodos regionais: Relato de caso**. Monografia (Bacharelato em Medicina Veterinária) – Escola Superior Batista do Amazonas. Manaus. Brasil, pp. 11-44.
85. Santos, I.F.C.; Cardoso, J.M.M.; Laisse, C.J.M.; Bessa, S.A.T. (2013). **Prevalência de neoplasias diagnosticadas em cães no hospital veterinário da Universidade Eduardo Mondlane, Moçambique**. Arquivos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia. Vol. 65, nº 3, pp. 773-782.
86. Shoo, B.A.; Kashani-Sabet, M. (2009). **Melanoma Arising in African, Asian, Latino and Native-American Populations**. Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery. Vol. 28, nº 2, pp. 96-102.
87. Simon, M.S.; Ramprabhu, R.; Pazhanivel, N. (2018). **Melanoma and its surgical management in a cow**. The Indian Veterinary Journal. India. Pp. 61-63
88. Silva, A.L.D.A. (2012). **Melanoma intra-ocular com disseminação meníngea, pulmonar, renal e cardíaca em cão**. Monografia (Especialidade em Residência Médico-Veterinário). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Brasil, pp. 8-24.
89. Silva, A.S. (2020). **Estudo retrospectivo das neoplasias mesenquimais caninas diagnosticadas no setor de patologia animal da EVZ/UFG**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás. Goiânia. Brasil, pp. 4-27.
90. Silva, B.R.F.D. (2013). **Neoplasias oculares em cães e gatos: Estudo retrospectivo 2001-2012**. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa. Portugal. pp. 7-59.
91. Silva, C.M. (2018). **Lesões melanocíticas em cães: Estudo retrospectivo de 70 casos (2006 – 2017)**. Dissertação (Licenciatura em Medicina Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. Brasil.
92. Silva, M.S.B.; Menezes, L.B.; Sales, T.P.; Lima, F.G.; Paulo, N.M. (2006). **Tratamento de melanoma oral em cão com criocirurgia**. Acta Scientiae Veterinariae, nº 34, pp. 211-213.
93. Smith, S.H.; Goldschmidt, M.H.; McManus, P.M. (2002). **A Comparative review of melanocytic neoplasms**. Veterinary pathology. Vol. 39, nº 6, pp. 651-678.
94. Scott, D.W.; Miller, W.H.; Griffin, C.E. (1996). **Dermatologia de pequenos animais**. 5ª ed., Rio de Janeiro: Interlivros, pp. 1130.

95. Souza, R.F.; Ferreira, S.S.; Rodrigues, R.D.; Gomes, L.R.; Nogueira, A.P.C.; Medeiros, A.A. (2013). **Melanoma em equídeos: Relato de 11 casos**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária – ISSN: 1679-7353.
96. Souza, T.M. (2005). **Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães**. Dissertação (Mestrado do Programa em Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria. Brazil. Santa Maria, pp. 155-166.
97. Spangler, W.L.; Kass, P.H. (2006). **The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia**. Veterinary Pathological. Vol. 43, nº 2, pp. 136–149.
98. Starkey, M.P.; Scase, T.J.; Mellersh, C.S.; Murphy, S. (2016). **Dogs really are man’s best friend- canine genomics has applications in veterinary and human medicine!** Briefings in Functional Genomics and Proteomics. Vol. 4, nº 2, pp. 112-128.
99. Steeil, J. C.; Schumacher, J.; Baine, K.; Ramsay, E. C.; Sura, P.; Hodshon, R.; Donnell, R. L.; Lee, N. D. (2013). **Diagnosis and treatment of a dermal malignant melanoma in an African lion (*Panthera leo*)**. Journal Zoo Wild Life Medicine. pp. 10 - 1638
100. Stricker, T. (2013). **Neoplasias**. In: Kumar, V.; Abbas, A.K.; Aster, J.C. Robbins Basic Pathology. Vol. 3, nº 2, pp. 100-104.
101. Suzano, S.; Sequeira, J.; Rocha, N.; Pessoa, A. (2010). **Classificação citológica dos linfomas caninos**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. Vol. 47, nº 1, pp. 47-54.
102. Teixeira, T.F. (2014). **Cell proliferation and expression of connexins differ in melanotic and amelanotic canine oral melanomas**. Veterinary Research Communications. Vol. 38.
103. Teixeira, L. (2011). **Diagnóstico citológico de neoplasias hepatobiliares em cães atendidos no hospital de clínicas veterinárias (HCV-UFRGS) no Período de 2005 a 2010**. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Brasil, pp. 14-30.
104. Teixeira, T.F.; Silva, T.C.; Cogliati, B; Nagamine, M.K.; Daggi, M.L.Z. (2010). **Retrospective study of melanocytic neoplasms in dogs and cats**. Brazilian Journal of Veterinary Pathology. Vol. 3, nº 2, pp. 100-104.
105. Thome, H.E.; Moura V.M.; Bandarra E.P. (2003). **Carcinoma de células escamosas infiltrando em glândula perianal de cão: relato de caso**. Nosso clínico. 6ª ed., nº 34, pp. 40-42.
106. Van der Weyden, I.; Caldwell, P.; van Rooyen, L.; Mitchell, E. P.; O’Dell, N. (2021). **Metastatic cutaneous melanoma in a white African lioness (*Panthera leo*)**. Veterinary Sciences. pp. 8, 154.
107. Vail, D.M.; Withrow, S.J. (2007). **Tumors of the skin and subcutaneous tissues**. In: Withrow, S.J.; Macewen’s, E.G. Small Animal Clinical Oncology. Missouri: Saunders Elsevier. Cap. 18, pp. 389-393.

108. Verstraete, F.J.M.; Arzi, B.; Lantz, G.C. (2019). **Mandibulectomy techniques**. In: oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats. 2<sup>nd</sup> Ed. Elsevier Health Sciences, pp. 523-527.
109. Wunsch, F.V.; Mirra, A.P.; Lopez, M.V.R.; Antunes, F.L. (2010). **Tabagismo e câncer no brasil: evidências e perspectivas**. Revisão Brasileira da Epidemiologia. Vol. 13, nº 2, pp, 175-187.
110. Zargaran, M. (2014). **A Review of biopsy in dentistry: principles, techniques, and considerations**. Journal of Dental Materials and Techniques. Vol. 3, nº 2, pp. 47-54.
111. Zuccari D.A.P.C.; Santana A.E.; Rocha N.S. (2001). Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. Revista Brasileira de Veterinária. São Paulo, Brasil. v. 38, nº 1, pp. 38-41.