

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta dissertação será disponibilizado
somente a partir de 14/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TERAPIA CITORREDUTORA PRÉ-OPERATÓRIA, ASSOCIADA OU NÃO À
QUIMIOTERAPIA METRONÔMICA ADJUVANTE COM CICLOFOSFAMIDA E
PIROXICAM, EM CÃES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS
CUTÂNEO

VINICIUS GONZALEZ PERES ALBERNAZ

Botucatu, SP
Fevereiro/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TERAPIA CITORREDUTORA PRÉ-OPERATÓRIA ASSOCIADA OU NÃO À
QUIMIOTERAPIA METRONÔMICA ADJUVANTE COM CICLOFOSFAMIDA E
PIROXICAM EM CÃES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS
CUTÂNEO

VINICIUS GONZALEZ PERES ALBERNAZ

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Biotecnologia
Animal, da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus Botucatu como requisito para
obtenção do grau de Mestre.
Orientadora. Prof^a. Dr^a. Juliany Gomes
Quitzan
Coorientadora. Prof^a. Associada Renee
Laufer Amorim

Botucatu, SP
FEVEREIRO/2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Albernaz, Vinicius Gonzalez Peres.

Terapia citorrredutora pré-operatória associada ou não à quimioterapia metronômica adjuvante com ciclofosfamida e piroxicam em cães com carcinoma de células escamosas cutâneo / Vinicius Gonzalez Peres Albernaz. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Juliany Gomes Quitzan

Coorientador: Renee Laufer Amorim

Capes: 50501070

1. Câncer -- Prognóstico. 2. Agentes anti-inflamatórios não esteróides. 3. Intervalo livre de doença. 4. Carcinoma de células escamosas.

Palavras-chave: AINEs; Intervalo livre de doença; Prognóstico; carcinoma espinocelular.

Nome do Autor: Vinicius Gonzalez Peres Albernaz

Título: Terapia citorrredutora pré-operatória associada ou não à quimioterapia metronômica adjuvante com ciclofosfamida e piroxicam em cães com carcinoma de células escamosas cutâneo

DISSERTAÇÃO AVALIADA EM: 14 / 02 / 2019

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Renee Laufer Amorim
Presidente e Coorientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ - Unesp Botucatu

Prof. Dr. Carlos Eduardo Fonseca Alves
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ - Unesp Botucatu

Prof. Dra. Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes
Departamento de Patologia
FMVZ - USP

À minha mãe, meu pai e meu irmão,

À Vó Naïde (In memorian)

À Puck, Menina e Mulder (In memorian)

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudos concedida nos anos de realização deste curso de mestrado.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Botucatu, seus professores e funcionários, que me acolheram calorosamente e garantiram meu crescimento profissional e pessoal.

Às equipes de residentes do setor de cirurgia de pequenos animais FMVZ – UNESP que ajudaram na seleção, manejo e tratamento de todos os animais desse projeto. Sem vocês ele não seria possível.

À professora Juliany Gomes Quitzan, orientadora de longa data, pelo incentivo e confiança depositada no meu trabalho.

À professora Renee Laufer Amorim, pelos valiosos conselhos, correções e ajuda sempre que foi necessário.

Ao Professor Cadu, cuja participação foi primordial para o desenvolvimento deste estudo.

À minha Mãe Sonia e meu Pai Jorge por desde sempre mostrarem a importância da educação, cultura e ciência, pelo exemplo de honestidade e responsabilidade, apoio incondicional e por suportarem os momentos de ausência.

Ao meu irmão Daniel, futuro companheiro de profissão e irmão de PUCPR, pelo apoio.

Aos moradores e ex-moradores da Rep. Ública, família de Botucatu, pela paciência, diversão, companheirismo e amizade eterna.

Aos amigos Lucas, Pedro, Giovana, Tainá e Bruna pelas conversas e momentos que passamos juntos.

Aos amigos caninos Mulder (in memorian), Menina (in memorian), Puck (in memorian), Megan, Poncho, Tibério e Bionça, pelas calorosas boas-vindas a cada retorno para casa.

Por fim, a todos os proprietários e animais participantes deste estudo pela compreensão, disponibilidade e confiança.

SUMÁRIO

CAPITULO 1.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura	2
Cicloxigenase-2	4
Ki67	5
CD31	6
2.1. Modalidades de tratamento clínico.....	7
Anti-inflamatórios Não Esteroidais	7
Quimioterapia Metronômica	8
3. Referências.....	11
CAPÍTULO 2.....	21
1. Trabalho Científico 1	21
2. Trabalho Científico 2	44
CAPÍTULO 3.....	67
1. Considerações Finais	67
ANEXO 1	68

Albernaz, V.G.P., **Terapia citorrredutora pré-operatória associada ou não à quimioterapia metronômica adjuvante com ciclofosfamida e piroxicam em cães com carcinoma de células escamosas cutâneo**, Botucatu, 2019, 77p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoplasia epitelial originada dos queratinócitos da pele de cães. Sua etiologia está relacionada à exposição a raios solares ultravioletas, o que o coloca como uma das neoplasias mais frequentes em países tropicais de clima quente. O CCE cutâneo tem comportamento invasivo local, baixa capacidade de metástase e frequentemente encontra-se associado à ceratose actínica. Neste estudo, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento pré-operatório com piroxicam (Px) na expressão de COX-2 e Ki67, indicadores de inflamação e proliferação celular, respectivamente, em cães acometidos por CCE cutâneo. Além disso, o intervalo livre de doença (ILD) por um período de pelo menos 180 dias após excisão cirúrgica associada a regime de baixa dose diária com Px (0.3mg/kg) e ciclofosfamida (CYC; 15mg/m²) foi determinado nesta população. Não houve diferença estatística significativa na expressão de COX-2 após o tratamento pré-cirúrgico com Px; no entanto, houve diminuição no índice proliferativo marcado com Ki67 (P<0.05). Não foi encontrada alteração significativa no ILD no grupo tratado com Px e CYC (160 dias), quando comparado com o grupo controle retrospectivo (145 dias), tratado somente com ressecção cirúrgica. Não houve diferença estatística no ILD quando analisados o grau histológico, índice mitótico, tempo de evolução, metástase de linfonodos e o comprometimento das margens cirúrgicas. Adicionalmente, cães com estadiamento T4, independente do tratamento, estavam 3.2x e 4.8x mais propensos a recidiva precoce quando comparados aos estádios T3 e T2, respectivamente. Os resultados deste estudo demonstram o efeito anti-proliferativo do Px, independente da inibição de COX-2. O tratamento com baixa dose de Px e CYC associado a cirurgia não foi acompanhado por um aumento do ILD, em comparação com animais submetidos apenas ao tratamento cirúrgico.

Palavras-chave: prognóstico, AINEs, intervalo livre de doença, carcinoma espinocelular.

Albernaz, V.G.P., **Pre-operative cytoreductive therapy associated or not to adjuvant metronomic chemotherapy with cyclophosphamide and piroxicam in dogs with cutaneous squamous cell carcinoma**. Botucatu, 2019, 77p., Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Squamous cell carcinoma (SCC) is an epithelial neoplasm that arises from skin keratinocytes of the dogs. Its etiology is related to ultraviolet sunlight, which puts it as one of the most frequent neoplasm in tropical hot weather countries. Cutaneous SCC have a locally invasive, low metastatic behavior, and is often associated with actinic keratosis. This study aimed to evaluate the effect of pre-operative treatment with piroxicam (Px) on COX-2 and Ki67 expression, indicators of inflammation and cell proliferation, respectively. Besides that, the evaluation of disease-free interval (DFI) of these animals for at least 180 days after surgical excision associated with a daily low-dose treatment with Px (0.3mg/kg) and cyclophosphamide (CYC; 15mg/m²). There was no statically significant difference between COX-2 expression before and after treatment with Px; However, there was a significant decrease on Ki67 proliferative index ($P < 0.05$). No significance was found in DFI when comparing the group treated with Px and CYC (160 days) and the control retrospective group (145 days), treated only with surgical resection. There was no statically difference on DFI when accessing histological grade, mitotic index, evolution time, lymph node metastasis, and incomplete surgical margins ($P > 0.05$). Additionally, dogs with T4 stage, independent of the treatment, were 3.2 and 4.8-fold more likely to develop an early recurrence when comparing with T3 and T2, respectively. The results of this study demonstrate the antiproliferative effect of the Px independent of the COX-2 inhibition. The treatment with low-dose Px and CYC in association with surgery was not followed by an improvement on DFI in comparison with surgically treated animals.

Keywords: Prognostic, NSAIDs, disease-free interval, spinocellular carcinoma.

CAPITULO 1

1. Introdução

O carcinoma de células escamosas (CCE) cutâneo, também conhecido como carcinoma epidermóide é uma neoplasia maligna proveniente do epitélio escamoso da pele e da membrana mucosa (WEBB et al., 2009; FERNANDES et al., 2015). Sabe-se da influência da radiação ultravioleta (UV) como um fator desencadeante da neoformação, que frequentemente ocorre em pele não pigmentada com baixa cobertura pilosa e exposta continuamente a luz solar (NIKULA et al., 1992; MELNIKOVA & ANANTHASWAMY, 2005; WEBB et al., 2009).

Levantamentos epidemiológicos realizados no Brasil colocam o CCE como a primeira (FERNANDES et al., 2015) ou segunda (SOUZA et al., 2006) neoplasia cutânea mais comum, podendo atingir até 15% do total de tumores cutâneos, enquanto a média de ocorrência relatada em outros países não ultrapassa 6% (BOSTOCK, 1986; KALDRYMIDOU et al., 2002; PAKHRIN et al., 2007; VILLAMIL et al., 2011; HAUCK, 2013). A maior incidência e gravidade destes casos em países tropicais colocam o CCE como uma das principais neoplasias a serem estudadas no Brasil.

A confirmação do diagnóstico deve ser feita por exame histopatológico. A avaliação imuno-histoquímica (IHQ) tem sido frequentemente utilizada como auxílio na classificação específica e prognóstica de diversas neoplasias em medicina veterinária, incluindo o CCE (PESTILLI DE ALMEIDA et al., 2001; MILLANTA et al., 2016), embora haja poucos estudos apresentando dados envolvendo CCE cutâneo em cães (ALDISSI et al., 2007, BONGIOVANNI et al., 2011, BADAGI et al., 2012, POGGIANI et al., 2012).

A excisão cirúrgica é a principal forma de tratamento na maioria dos casos; entretanto, a possibilidade de se ressecar completamente o tumor é dependente de seu tamanho, distribuição e localização anatômica (WEBB et al., 2009, HAUCK, 2013). Nos casos induzidos por radiação UV, novas lesões podem ocorrer mesmo após o controle local da lesão primária (WEBB et al., 2009). Ainda, em animais acometidos por múltiplas lesões, frequentemente associadas a luz solar, a exérese cirúrgica pode não ser curativa (NORTHRUP & GIEGER, 2010), o que impulsiona o uso de terapias adicionais no período pós-cirúrgico.

Os inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2) têm sido utilizados na tentativa de controlar a longo prazo as proliferações neoplásicas (NORTHRUP & GIEGER, 2010).

Estratégias como administrar a CYC pela manhã, acesso fácil a água e prover liberdade total para o animal urinar reduzem o contato da urina contendo acroleína com a parede da bexiga (BEST; FRY, 2013; SETYO et al., 2017). A administração concomitante de furosemida, na dose diária de 0,5-1 mg/kg, parece diminuir significativamente a incidência de CHE em cães recebendo baixas doses de CYC (SETYO et al., 2017). O tratamento para a CHE geralmente envolve a interrupção da quimioterapia, que pode ser reintroduzida após a resolução clínica (HARPER; BLACKWOOD et al., 2017; SETYO et al., 2017). A eliminação de CYC pela urina ocorre após a administração intravenosa e oral, mas decai nos dias seguintes e é indetectável no segundo dia em diante (KNOBLOCH et al., 2010). Estes dados não estão disponíveis para a administração diária de baixas doses de ciclofosfamida. A maioria dos animais toleram bem o tratamento, e não é necessário interromper a medicação devido a efeitos adversos (e.g. sinais gastrointestinais VCOG grau I e II), com exceção da CHE (SETYO et al., 2017; HARPER; BLACKWOOD, 2017). Mielotoxicidade não foi observada em nenhum animal em tratamento com QM (HARPER; BLACKWOOD, 2017).

Estudos iniciais com o uso de QM tem demonstrado respostas positivas em pacientes veterinários; no entanto, em virtude do aumento de popularidade desta modalidade terapêutica, maiores investigações dos riscos e benefícios são necessárias para estabelecer diretrizes de seu uso desta (ELMSLIE et al., 2008; BILLER et al., 2016; GASPAR et al., 2017). Até o presente momento, não há estudos com o uso de QM em pacientes com CCE cutâneo em cães.

3. Referências

Akhter M., Hossain S., Rahman Q.B., Molla M.R. A study on histological grading of oral squamous cell carcinoma and its co-relationship with regional metastasis. **J Oral Maxillofac Pathol**, v.15, n.2, p.168-176, 2011.

Al-Dissi A.N., Haines D.M., Singh B., Kidney B.A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor associated with tumor cell proliferation in canine cutaneous squamous cell carcinoma and trichoepitheliomas. **Vet Pathol**, v.44, n.6, p.823-830, 2007.

Alkan F.U., Ustuner O., Bakirel T., Çinar S., Erten G., Deniz G. The effects of piroxicam and deracoxib on canine mammary tumour cell line. **Scientificworldjournal**, v.2012, n. 2012, p.1-8, 2012.

Allstadt S.D., Rodriguez C.O., Boostrom B., Rebbun R.B., Skorupski K.A. Randomized phase III trial of piroxicam in combination with mitoxantrone or carboplatin for first-line treatment of urogenital tract transitional cell carcinoma in dogs. **J Vet Intern Med**, v.29, n. 1, p. 261-267, 2015.

Anneroth G., Hansen L.S. A methodologic study of histologic classification and grading of malignancy in oral squamous cell carcinoma. **Scand J Dent Res**, v. 92, n. 5, p.448-468, 1984.

Bardagí M., Fondevila D., Ferrer L. Immunohistochemical detection of COX-2 in feline and canine actinic keratoses and cutaneous squamous cell carcinoma. **J Comp Path**, v. 146, n.1, p.11-17, 2012.

Belluco S., Brisebard E., Watrelot D., Pillet E., Marchal T., Ponce F. Digital squamous cell carcinoma in dogs: Epidemiological, histological and immunohistochemical study. **Vet Pathol**, v. 50, n. 6, p.1078-1082, 2013.

Bergin I.L., Smedley R.C., Esplin D.G. Spangler W.L., Kiupel M. Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. **Vet Pathol**, v. 48, n. 1, p. 41-53, 2011.

Best M.P., Fry D.R. Incidence of sterile hemorrhagic cystitis in dogs receiving cyclophosphamide orally for three days without concurrent furosemide as part of a chemotherapeutic treatment for lymphoma: 57 cases (2007-2012). **J Am Vet Med Assoc**, v.243, n. 7, p.1025-1029, 2013.

Bikfalvi A., Platelet factor 4: An inhibitor of angiogenesis. **Semin Thromb Hemost**, v. 30, p. 379-385, 2004.

Biller B., Berg J., Garrett L., Ruslander D., Wearing R., Abbott B., Patel M., Smith D., Bryan C. 2016 AAHA Oncology Guidelines for dogs and cats. **J Am Anim Hosp Assoc**, v. 52, n.4, p.181-204, 2016.

Biller, B. Metronomic chemotherapy ion veterinary patients with cancer: Rethinking the targets and strategies of chemotherapy. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 44, n. 5, p. 817-829, 2014.

Bongiovanni, L., Malatesta, D., Brachelente, C., D'Egidio, S., Della Salda, L. β -catenin in canine skin: immunohistochemical pattern of expression in normal skin and cutaneous epithelial tumours. **J Comp Pathol**, v.145, n.2-3, p.138-47, 2011.

Bostock D.E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats, **Brit Vet J**, v.142, n. 1, p. 1-18, 1986.

Browder T., Butterfield C.E., Kräling B.M., Shi B., Marshall B., O'Reilly M.S., Folkman J. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. **Cancer Res**, v.60, n.7, p.1878-1886, 2000.

Brown D.C., Gatter K.C. Ki67 protein: the immaculate deception? **Histopathology**, v. 40, n.1, p. 2-11, 2002.

Buhles W.C. Theilen G.H. Preliminary evaluation of bleomycin in feline and canine squamous cell carcinoma. **Am J Vet Res**, v. 34, n. 2, p. 289-291, 1973.

Burton J.H., Mitchell L., Thamm D.H., Dow S.W., Biller B.J. Low-dose cyclophosphamide selectively decreases regulatory T cells and inhibits angiogenesis in dogs with soft tissue sarcoma. **J Vet Intern Med**, v. 25, n. 4, p.920-926, 2011.

Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. **Nature**, v. 473, n.7347, p.298-307, 2011.

Carvalho M.I., Pires I., Prada J., Lobo L., Queiroga F.L. Ki-67 and PCNA Expression in Canine Mammary Tumors and Adjacent Nonneoplastic Mammary Glands: Prognostic Impact by a Multivariate Survival Analysis. **Vet Pathol**, v.53, n. 6, p.1138-1146, 2016a.

Carvalho M.I., Silva-Carvalho R., Pires I., Pada J., Bianchini R., Jensen-Jarolim E., Queiroga F.L. A comparative approach of tumor-associated inflammation in mammary cancer between humans and dogs. **Biomed Res Int**, v. 2016 p. 1-12, 2016b.

Cha Y.U., DuBois R.N. NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2. **Annu Rev Med**, v. 58, p.239-252, 2007.

Chan, T.A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, apoptosis and colon-cancer chemoprevention. **Lancet Oncol**, v. 3, n. 3, p. 166-174, 2002.

Charpin C., Garcia S., Bouvier C., Martini F., Andrac L., Bonnier P. Lauvaut M.N. Allasia C. CD31/PECAM automated and quantitative immunocytochemistry in invasive ductal carcinomas: Correlation with patient follow-up. **Am J Clin Pathol**, v. 107, p.534-541, 1997.

Choisunirachon N., Jaroensong T., Yoshida K., Saeki K., Mochizuki M., Nishimura R., Sasaki N., Nakagawa T. Effects of low-dose cyclophosphamide with piroxicam on tumour neovascularization in a canine oral malignant melanoma-xenografted mouse model. **Vet Comp Oncol**, v. 13, n. 4, p.424-432, 2015.

Coater, P.J., Hales S., Hall P.A. The association between proliferation and apoptosis: studies using cell cycle associated proteins Ki67 and DNA polymerase alpha. **J Pathol**, v. 178, n.1, p.71-77, 1996.

De Nardi A.B., Raposo-Ferreira T., Huppes R.R., Laufer-Amorim R. COX-2 Inhibitors for cancer treatment in dogs. **Pak Vet J**, v.31, n.4, p.275-279, 2011.

Dubois R.N., Abramson S.B., Crofford L., Gupta R.A., Simon L.S., Van De Putte L.B., Lipsky P.E. Cyclo-oxygenase in biology and diseases. **FASEB J**, v.12, n.12, p.1063-1073, 1998.

Eichstadt L.R., Moore G.E., Childress M.O. Risk factors for treatment-related adverse events in cancer-bearing dogs receiving piroxicam. **Vet Comp Oncol**, v. 15, n. 4, p. 1346-1353, 2017.

Elmslie R.E., Glawe P., Dow S.W. Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas. **J Vet Intern Med**, v. 22, n. 6, p. 1373-1379, 2008.

Epstein M.E., Rodanm I., Griffenhagen G., Kadrlik J., Petty M.C., Robertson S.A., Simpson W. 2015 AAHA/AAFP Pain Management Guidelines for Dogs and Cats. **J Am Anim Hosp Assoc**, v. 51, n. 2, p.67-84, 2015.

Fernandes C.C., Medeiros A.A., Magalhães G.M., Szabó M.P.J., Queiroz R.P., Silva M.V.A., Soares N.P. Frequência de neoplasias cutâneas em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Uberlândia durante os anos 2000 a 2010. **Biosci J**, v.31, n.2, p.541-548, 2015.

Florence M.E.B., Massuda J.Y., Bröcker E.B., Metze K., Cintra M.L., Souza E.M. Angiogenesis in the progression of cutaneous squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study of endothelial markers. **Clinics**, v.66, n. 3, p. 465-468, 2011.

Gaeta R., Brown D., Cohen R., Sorenmo K. Risk factors for development of sterile haemorrhagic cystitis in canine lymphoma patients receiving oral cyclophosphamide: a case-control study. **Vet Comp Oncol**, v. 12, n. 4, p. 277-286, 2014.

Gaspar T.B., Henrques J., Marconato L., Queiroga F.L. The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs-insight into a modern cancer field. **Vet Comp Oncol**, v. 16, n. 1, p.2-11, 2018.

Gioacchini F.M., Alicandri-Ciufelli M., Magliulo G., Rubini C., Presutti L., Re M., The clinical relevance of ki-67 expression in laryngeal squamous cell carcinoma. **Eur Arch Otorhinolayngol**, v. 272, p. 1569-1576, 2015.

Greenhough A., Smartt H.J., Moore A.E., Roberts H.R., Williams A.C., Paraskeva C., Kaidi A. The COX-2/PGE2 pathway: key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 3, p.377-386, 2009.

Gregório H., Raposo T., Queiroga F.L., Pires I., Pena L., Prada J. High COX-2 expression in canine mast cell tumours is associated with proliferation, angiogenesis and decreased overall survival. **Vet Comp Oncol**, v. 15, n. 4, p.1382-1392, 2017.

Grosser T., Smyth E.M., FitzGerald G.A. Pharmacotherapy of inflammation, fever, pain, and gout. In: Brunton L.L., Hilal-Danda R., Knollmann B.C. (eds) **Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**. 13th ed. New York: McGraw-Hill Education, p- 685-709, 2018.

Hamano Y., Sugimoto H., Soubasakos M.A., Kieran M., Olsen B.R., Lawler J., Sudhakar A., Kalluri R. Thrombospondin-1 associated with tumor microenvironment contributes to low-dose cyclophosphamide-mediated endothelial cell apoptosis and tumor growth suppression. **Cancer Res**, v. 64, n.5, p.1570-1574, 2004.

Hammer A.S., Couto C.G. Ayl R.D. Shank K.A. Treatment of tumor bearing dogs with actinomycin D. **J Vet Intern Med**, v. 8, n. 3, p.236-239, 1994.

Harper A., Blackwood L. Toxicity of metronomic cyclophosphamide chemotherapy in a UK population of cancer-bearing dogs: a retrospective study. **J Small Animal Pract**, v. 58, n. 4, p. 227-230, 2017.

Hauck, M.L. Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. In: Withrow S.J., Vail D.M., Page R.L. (eds) **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, p. 305-320, 2013.

Hawrot A., Alam M., Ratner D. Squamous cell carcinoma. Current Problems in Dermatology. **Curr Probl Dermatol**, v. 15, n. 3, p.91-133, 2003.

Himsel C.A., Richardson R.C., Craig J.A. Cisplatin chemotherapy for metastatic squamous cell carcinoma in two dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v. 189, n. 2, p. 1575-1578, 1986.

Hoggard N., Munday J.S., Luff J. Localization of Felis catus Papillomavirus Type 2 E6 and E7 RNA in Feline Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Vet Pathol**, v. 55, n. 3, p. 409-416, 2018.

Holleman D., Yanagida G., Rüger B.M., Neuchrist C., Fischer M.B. New vessel formation in peritumoral area of squamous cell carcinoma of the head and neck. **Head & Neck**, v. 34, p.813-820, 2012.

Hu B., Cheng S.Y. Angiopoietin-2: Development of inhibitors for cancer therapy. **Curr Oncol Reps**, v. 11, p.111-116, 2009.

Jain R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. **Science**, v.307, n.5706, p.58-62, 2005.

Jensen V., Prasad A.R., Smith A., Raju M., Wendel C.S., Schmelz M., Leyva W. Warneke J., Krouse R.S. Prognostic criteria for squamous cell cancer of the skin. **J Surg Res**, v. 159, n. 1, p.509-516, 2010.

Kaldrymidou H., Leontides A.F., Koutinas M.N. Saridomichelakis M.N., Karayannopoulou M. Prevalence, distribution and factors associated with the presence and the potential for malignancy of cutaneous neoplasms in 174 dogs admitted to a clinic in northern Greece. **J Vet Med Series Physiol Pathol Clin Med**, v.49, n.2, p.87-91, 2002.

Kerbel R.S., Kamen B.A. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 6, p.423-436, 2004.

Knapp D.W. Rupple-Czerniak A., Ramos-Vara J.A., Naughton J.F., Fulkerson C.M., Honkisz S.I. A nonselective cyclooxygenase inhibitor enhances the activity of Vinblastine in a naturally-occurring canine model of invasive urothelial carcinoma. **BL Cancer**, v.2, n.2, p.241-250, 2016.

Knapp D.W., Glickman N.W., Widmer W.R., DeNicola D.B., Adams L.G., Kuczek T., Bonney P.L., DeGortari A.E., Han C., Glickman L.T. Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 46, n. 3, p. 221-226, 2000.

Knapp D.W., Richardson R.C., Bottoms G.D., Teclaw R., Chan T.C. Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 29, n.3, p.214-218, 1992.

Knapp D.W., Richardson R.C., Chan T.C., Bottoms G.D., Widmer W.R., DeNicola D.B., Teclaw R., Bonney P.L., Kuczek T. Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **J Vet Intern Med**, v. 8, n. 4, p. 273-278, 1994.

Knobloch A., Mohring N., Nolte I., Hamscher G., Simon D. Cytotoxic drug residues in urine dogs receiving anticancer chemotherapy. **J Vet Intern Med**, v. 24, v.2, p. 384-390, 2010.

Koch A.E. Distler O. Vasculopathy and disordered angiogenesis in selected rheumatic disease: Rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. **Arthritis Res Ther**, v.9, n. suppl 2, p. S3, 2007.

Lana S., U'ren L., Plaza S., Elmslie R., Gustafson D., Morley P., Dow S. Continuous low-dose oral chemotherapy for adjuvant therapy of splenic hemangiosarcoma in dogs. **J Vet Intern Med**, v. 21, n. 4, p. 764-769, 2007.

Lascelles B.D.X., Parry A.T. Stidworthy M.F. Squamous cell carcinoma of the nasal planum in 17 dogs. **Vet Rec**, v. 147, n. 17, p. 473-476, 2000.

Maiolino P., Papparella S., Restucci B., De Vico G. Angiogenesis in squamous cell carcinoma of canine skin: An immunohistochemical and quantitative analysis. **J Comp Path**, v. 125, p.117-121.

Maiti R. Metronomic Chemotherapy. **J Pharmacol Pharmacother**, v.5, n.3, p.186-192, 2014.

Marchetti V., Giorgi M., Fioravanti A., Finotello R., Citi S., Canu B., Orlandi P., Di Desidero T., Danesi R., Bocci G. First-line metronomic chemotherapy in a metastatic model of spontaneous canine tumours: a pilot study. **Invest New Drugs**, v. 30, n. 4, p.1725-1730, 2012.

Martínez C.M., Peñafiel-Verdú C., Vilafranca M., Ramírez G., Méndez-Gallego M., Buendía A.J., Sánchez J. Cyclooxygenase-2 expression is related with localization, proliferation, and overall survival in canine melanocytic neoplasms. **Vet Pathol**, v. 48, n. 6, p.1204-1211, 2011.

Mas A., Blackwood L., Cripps P., Murphy S., De Vos J., Dervisis N., Martano M., Polton G.A. Canine tonsillar squamous cell carcinoma – a multicenter retrospective review of 44 clinical cases. **J Small Anim Pract**, v. 52, n. 7, p.359-364, 2011.

McKenney J.K., Weiss S.W., Folpe A.L. CD31 expression in intratumoral macrophages: a potential diagnostic pitfall. **Am J Surg Pathol**, v. 25, p.1167-1173, 2001.

McMillian S.K., Boria P., Moore G.E., Widmer W.R., Bonney P.L., Knapp D.W. Antitumor effect of deracoxib treatment in 26 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **J Am Vet Med Assoc**, v. 239, n.8, p.1084-1089, 2011.

Melnikova V.O.; Ananthaswamy H.N. Cellular and molecular events leading to the development of skin câncer. **Mutat Res**, v.571, n.1-2, p.91-106, 2005.

Mestrinho L.A., Pissarra H., Faísca P.B., Bragança M., Peleteiro M.C., Niza M.M. p63 and E-cadherin Expression in canine oral squamous cell carcinoma. **Vet Pathol**, v.52, n.4, p.614-620, 2015.

Millanta F., Andreani G., Rocchingiani G., Lorenzi D., Poli A. Correlation between cyclo-oxygenase-2 and vascular endothelial growth factor expression in canine and feline squamous cell carcinomas. **J Comp Path**, article in press, p.1-7, 2016.

Mohammed S.I., Craig B.A., Mutsaers A.J., Glickman N.W., Snyder P.W., deGortari A.E., Schlittler D.L., Coffman K.T., Bonney P.L., Knapp D.W. Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. **Mol Cancer Ther**, v. 2, n. 2, p. 183-188, 2003.

Mukaratirwa S., Chipunza J., Chitanga M., Chimonyo M., Behebhe E. Canine cutaneous neoplasms: prevalence and influence of age, sex and site on the presence and potential malignancy of cutaneous neoplasm in dogs from Zimbabwe. **J S Afr Vet Assoc**, v.76, n.2, p.59-62, 2005.

Mutsaers A.J. Metronomic Chemotherapy. **Top Companion Anim Med**, v.24, n.3, p.137-143, 2009.

Newman P., Berndt M., Gorski J., White G.C., Lyman S., Paddock C., Muller W.A. PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. **Science**, v. 247, p.1219-1222.

Nikula K.J. Benjamin S.A., Angleton G.M., Saunders W.J. Lee A.C. Ultraviolet radiation, solar dermatosis and cutaneous neoplasia in beagle dogs. **Radiat Res**, v. 129, n.1, p.11-18, 1992.

Northrup N., Gieger T. Tumors of the Skin, Subcutis and Other Soft Tissues: Section A. In: Henry C.J., Higginbotham M.L., **Cancer Management in Small Animal Practice**, 1st edition, Maryland: Saunder Elsevier, p. 299-310, 2010.

Olgivie G.K., Obradovich J.E., Elmslie R.E., Vail D.M., Moore A.S., Straw R.C., Dickinson K., Cooper M.F., Withrow S.J. Efficacy of mitoxantrone against various neoplasms in dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v.198, n. 9, p.1618-1621, 1991.

Ono PM, Quitzan JG, Miara LC, Sotomaior CS. Caracterização dos parametros morfológicos e expressão de p53, e-caderina e metaloproteinases 2 e 9 em carcinoma de células escamosas de cães. **Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.**, v9, n3, p.307-318

Pakhrin B., Kang M.S., Bae I.H. Park M.S., Jee H., You M.H., Kim J.H., Yoon B.I., Choi Y.K., Kim D.Y. Retrospective study of canine cutaneous tumors in Korea. **J Vet Sci**, v.8, n. 3, p.229-236, 2007.

Palmerini E1, Fan K, Yang K, Risio M, Edelmann W, Lipkin M, Biasco G. Piroxicam increases colon tumorigenesis and promotes apoptosis in Mlh1 +/- /Apc1638(N/+) mice. **Anticancer Res**, v. 27, n. 6B, p.3087-3812, 2007.

Pang L.Y., Gatenby E.L., Kamida A., Whitelaw B.A., Hupp T.R., Argyle D.J. Global gene expression analysis of canine osteosarcoma stem cells reveals a novel role for COX-2 in tumour initiation. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e83144, 2014.

Patten S.G., Adamcic U., Lacombe K., Minhas K., Skowronski K., Coomber B.L. VEGFR2 heterogeneity and response to anti-angiogenic low dose metronomic cyclophosphamide treatment. **BMC Cancer**, v. 10, 0.683, 2010.

Pereira R.S., Schweigert A., De Melo G.D., Fernandes F.V., Sueiro F.A.R., Machado G.F. Ki-67 labeling in canine perianal glands neoplasms: a novel approach for immunohistological diagnostic and prognostic. **BMC Vet Res**, v. 9, n. 83, p. 1-7, 2013.

Pestilli de Almeida E.M. Piché C., Sirois J., Doré M. Expression of cyclo-oxygenase-2 in naturally occurring squamous cell carcinomas in dogs. **J Histochem Cytochem**, v.49, n.7, p.867-87, 2001.

Poggiani S.S.C., Hatayde M.R., Laufer-Amorim R., Werner J. Expression of cyclooxygenase-2 and Ki-67 in actinic keratosis and cutaneous squamous cell carcinoma in dogs. **Open J Vet Med**, v.2, n.2, p.41-47, 2012.

Prada J., Queiroga F.L., Gregório H. Pires I. Evaluation of cyclooxygenase-2 expression in canine mast cell tumours. **J Comp Pathol**, v. 147, n.1, p.31-36, 2012.

Queiroga F.L., Pires L., Parente M., Gregório H., Lopes C.S. COX-2 over-expression correlates with VEGF and tumour angiogenesis in canine mammary cancer. **Vet J**, v.189, n.1, p.77-82, 2011.

Rajabi M., Mousa S.A. The role of angiogenesis in cancer treatment. **Biomedicines**, v. 5, n. 34, p.1-12, 2017.

Rothwell T.L., Howlett D.J., Middleton D.A., Griffiths D.A., Duff B.C. Skin Neoplasms of dogs in Sydney. **Aust Vet J**, v.64, n. 6, p. 161-164, 1987.

Rouzer C.A., Marnett L.J. Cyclooxygenase: structural and functional insights. **J Lipid Res**, v.50, p.S29-34, 2009.

Rundhaug J.E., Mikulec C., Pavone A., Fischer S.M. A role of cyclooxygenase-2 in ultravioleta light-induced skin carcinogenesis. **Mol Carcinog**, v.46, n.8, p.692-698, 2007.

Rungsipipat A., Sunyasootcharee B., Ousawaphlangchai L., Sailasuta A., Thanawongnuwech R., Teankum K. Neoplasms of dogs in Bangkok. **Thai J Vet Med**, v. 33, n. 1, p.60-66, 2003.

Sabattini S., Savini F., Gallina L., Scagliarini A., Bassi P., Bettini G. p16 imunostaining of canine squamous cell carcinomas is not associated with papillomaviral DNA. **PLoS One**, v.11, n.7, p.1-11, 2016.

Schmidt B.R., Glickman N.W., DeNicola D.B., De Gortari A.E., Knapp D.W. Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v. 218, n. 11, p.1783-1786, 2001.

Setyo, L., Ma M., Bunn T., Wyatt K., Wang P. Furosemide for prevention of cyclophosphamide-associated sterile haemorrhagic cystitis in dogs receiving metronomic low-dose oral cyclophosphamide. **Vet Comp Oncol**, v. 15, n. 4, p.1468-1478, 2017.

Souza T.M., Figuera R.A., Irigoyen L.F., Barros C.S.L. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Cienc Rural**, v.36, n.2, p.555-560, 2006.

Taneja P., Maglic D., Kai F., Zhu S., Kendig R.D., Fry E.A., Inoue K. Classical and novel prognostic markers for breast cancer and their clinical significance. **Clin Med Insights Oncol**, v. 4, p. 15-34, 2010.

Tse G.M., Chan A.W., Yu K.H., King A.D., Wong K.T., Chen G.G., Tsang R.K., Chan A.B. Strong immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor predicts overall survival in head and neck squamous cell carcinoma. **Ann Surg Oncol**, v. 14, p.3558-3565, 2007.

Valls-Ontañón A., Hernández-Losa J., Somoza Lopez de Haro R., Bellosillo-Paricio B., Ramón Y Cajal S., Bescós-Atín C., Munill-Ferrer M., Alberola-Ferranti M. Impact of human papilloma virus in patients with oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas. **Med Clin**, v. 152, n. 5, p. 174-180, 2019.

Vascellari M., Giantin M., Capello K., Carminato A., Morello E.M., Vercelli A., Granato A., Buracco P., Dacasto M., Mutinelli F. Expression of /Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: Association with grading and prognosis. **Vet Pathol**, v.50, n.1, p.110-121, 2012.

VCOG-CTCAE. Veterinary cooperative oncology group – common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1. **J Vet Comp Oncol**, p. 1-30, 2011.

Verbeeck R.K., Richardson C.J., Blocka K.L. Clinical pharmacokinetics of piroxicam. **J Rheumatol**, v. 13, n. 4, p. 789-796, 1986.

Villamil J.A., Henry C.J., Bryan J.N., Ellersieck M., Schiltz L., Tyler J.W., Hahn A.W. Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. **JAVMA**, v. 239, p. 960-965, 2011.

Yamashita-Kawanishi N., Swanobori R., Matsumiya K., Uema A., Chambers J.K., Uchida K., Shimakura H., Tsuzuki M., Chang C.Y., Chang H.W., Haga T. Detection of felis catus papillomavirus type 3 and 4 DNA from squamous cell carcinoma cases of cats in Japan. **J Vet Med Sci**, v. 80, n. 8, p. 1236-1240, 2018.

Webb J.L., Burns R.E., Brown H.M., Leroy B.E., Kosarek C.E. Squamous cell carcinoma. **Comp Cont Educ Vet**, v. 2, p. 133-144, 2009.