



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO),
REALIZADO NOS SETORES DE ANATOMOPATOLOGIA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG) E LABORATÓRIO DE PATOLOGIA
VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB)**

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA TRANSCIRÚRGICA DE TUMORES
OCULARES EM EQUINOS**

JOÃO VICTOR SANTOS DA SILVA

RECIFE, 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO), REALIZADO
NOS SETORES DE ANATOMOPATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS (UFMG) E LABORATÓRIO DE PATOLOGIA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB)

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA TRANSCRÚRGICA DE TUMORES
OCULARES EM EQUINOS

JOÃO VICTOR SANTOS DA SILVA

Relatório de Estágio Supervisionado
Obrigatório realizado como exigência parcial
para obtenção do grau de Bacharel em
Medicina Veterinária sob orientação do Prof.
Dr. Francisco de Assis Leite Souza

RECIFE, 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal Rural de Pernambuco

Sistema Integrado de Bibliotecas

Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva, João

Silva, João Victor Santos

RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO), REALIZADO NOS SETORES DE ANATOMOPATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG) E LABORATÓRIO DE PATOLOGIA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB): AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA TRANSCRÚRGICA DE TUMORES OCULARES EM EQUINOS / João Victor Santos Silva. - 2023.

48 f. : il.

Orientador: Francisco de Assis Leite Souza. Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Recife, 2023.

1. biópsia transcirúrgica. 2. carcinoma de células escamosas. 3. melanocitoma. I. Souza, Francisco de Assis Leite, orient. II. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO),
REALIZADO NOS SETORES DE ANATOMOPATOLOGIA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG) E LABORATÓRIO DE PATOLOGIA
VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB)**

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA TRANSCIRÚRGICA DE TUMORES
OCULARES EM EQUINOS**

Relatório elaborado por
JOÃO VICTOR SANTOS DA SILVA

Aprovado em 18/09/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza - Orientador

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

M.Sc. Nayadjala Távita Alves dos Santos – Membro Titular

Médica Veterinária, Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária -
UFRPE

M.Sc. Bruno Henrique de Albuquerque Paiva – Membro Titular

Médico Veterinário, Laboratório Biopse

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por todo o apoio e ensinamentos ao longo da vida, que me permitiram chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor orientador Francisco de Assis Leite Souza e co-orientador Fabrício Bezerra de Sá por me orientarem não somente durante o ESO, mas por todos os ensinamentos que me proporcionaram desde o ciclo básico da graduação;

Aos alunos da pós-graduação do Laboratório de Diagnóstico Animal, Bruno Henrique, Nayadjala Távita e Telma Souza, que me ensinaram as bases do meu conhecimento na patologia veterinária;

Aos professores supervisores Roselene Ecco e Ricardo Lucena por todos os conhecimentos passados durante o estágio final e por serem exemplos de profissionais que anseio me tornar no futuro;

Às residentes Acácia, Camila, Lorena, Nayara e Vanessa por dividir momentos de dificuldade e alegria e, principalmente, por todo o acolhimento durante o período de realização do estágio final;

Aos companheiros de iniciação científica como Thaís Moraes, Elizandra Melo, Rodrigo Santos e tantos outros, por todas as conquistas alcançadas e sonhos compartilhados;

A minha eterna turma SV3, em especial meu grupo formado por Antonielly Nascimento, Bárbara Maria, Íris Mayara, Janaína Ferreira e Laura Zillmann. Que para além de colegas de classe, formamos laços familiares que me deram força e inspiração para concluir a graduação;

Ao elenco de amigos de infância, Emerson Xavier, Samy Rocha, Maria Victoria e Vitor Jordão, que dividiram comigo as principais virtudes que a amizade pode proporcionar.

“Ache belo tudo o que puder, a maioria das pessoas não acha belo o suficiente”

Vincent Van Gogh

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Vista lateral do Hospital Veterinário da UFMG - localizado em Minas Gerais, Belo Horizonte.....17
- Figura 2. Sala de necropsia do departamento, além das mesas, a sala também possui ganchos para erguer animais de grande porte e uma serra elétrica para realização de cortes de crânios e vértebras.....18
- Figura 3. Sala dos residentes, representação do microscópio óptico do tipo medusa, o que permite mais de uma pessoa acompanhar a lâmina histopatológica simultaneamente.....19
- Figura 4. Utilização da sala de necropsia. A imagem evidencia a realização da necropsia reconstrutiva em cão com suspeita de intoxicação exógena.....21
- Figura 5. Fotomicrografia. Pele canino, Hemangiossarcoma e Leishmaniose. Utilização de imunohistoquímica em pele de cão acometido por processo neoplásico e infeccioso simultaneamente. A: Imunomarcador CD31 fortemente positivo em citoplasma evidenciando células endoteliais, confirmando suspeita de hemangiossarcoma. B: mesma região que figura A, porém com marcador de leishmania, evidenciando as amastigotas intracelulares23
- Figura 6. Sala de necropsia. Fotografia evidenciando o lugar onde são realizadas as necropsias no setor de anatomia patológica da UFPB.....25
- Figura 7. Ambulatório de pequenos animais. Fotografia da realização do exame citopatológico por PAAF em neoplasia focalmente extensa e macia.....26

Figura 8. A: CCE causando lesão focal, avermelhada, superfície irregular, alopecica e de bordos crostosos em região próxima à pálpebra superior, por suas características macro e microscópicas, a lesão foi classificada como carcinoma *in-situ*. B: CCE causando lesão focalmente extensa, rosa, de superfície irregular, exofítica com áreas multifocais de ulceração e hemorragia, causando comprometimento da acuidade visual e da pálpebra inferior e superior. Por suas características macro e microscópicas, o CCE foi classificado como invasivo. C: Fotomicrografia realizada durante o procedimento cirúrgico, pálpebra, equino. Microscopicamente as células epiteliais neoplásicas se organizavam em pérolas córneas classificadas por tal arranjo lamelar de queratinócitos em disqueratose formando acúmulos concêntricos de queratina na derme. Azul de toluidina, 40x D: Fotomicrografia, pálpebra, equino. Mesmo fragmento que a figura C, análise pós cirúrgica por metodologia padrão de fixação e coloração. Nota-se a pérola córnea com características celulares semelhantes à encontrada durante a avaliação transcirúrgica. Hematoxilina e eosina, 40x.....40

Figura 9. Fotomicrografia. Pálpebra, melanocitoma. A: Características microscópicas encontradas durante o procedimento transcirúrgico, nota-se população celular com intensa quantidade de grânulos citoplasmáticos substituindo o tecido normal da derme superficial. Panótico rápido, 10X. B: Maior aumento da imagem A, além da presença do pigmento, as células apresentam núcleo central e basofílico, com nucléolos pouco visíveis, < 1 mitose por campo de maior aumento foram identificadas. Panótico rápido, 40x. C e D: Mesmo fragmento que A, método histotecnológico padrão e coloração por Hematoxilina e Eosina. Comparativamente, as células apresentam morfologia e organização semelhante aos encontrados na lâmina durante o transcirúrgico. Hematoxilina e eosina, 10x e 40x, respectivamente41

Figura 10. A: conjunto de células epiteliais, majoritariamente queratinócitos, formando trabéculas que infiltrar a derme adjacente, as células possuem

citoplasma bem delimitado e amplo, com núcleos centrais com nucléolo evidente, anisocitose e anisocariose moderadas, com moderadas figuras de mitose. Azul de toluidina, 10x. B: Mesmo fragmento que a imagem A, processado e corado por metodologia padrão por hematoxilina e eosina, comparativamente, as células apresentam as mesmas características morfológicas. 40x. C: Presença de células neoplásicas em íntimo contato com a tinta nankin amarela utilizada para identificar os limites do corte cirúrgico, indicando margem comprometida. Azul de toluidina, 40x. D: Também é possível identificar células neoplásicas em contato com a margem cirúrgica.....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição do número e variações de espécies das necropsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) na UFMG.	22
Tabela 2	Distribuição do número e variações de espécies de biópsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) na UFMG.....	23
Tabela 3	Distribuição do número e variações de espécies exames citopatológicos realizados ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.....	27
Tabela 4.	Distribuição do de biópsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.....	27
Tabela 5.	Distribuição do número, variações de espécies e causa morte encontradas nos exames de necropsia realizados ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.....	28

RESUMO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) constitui um dos requisitos para a conclusão de curso e obtenção do diploma de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pernambuco (UFRPE), realizado durante o período de 1 de junho a 18 de agosto de 2023, no total cumpriu-se regime de 40 horas semanais, totalizando uma carga horária de 420 horas de estágio, que foi realizado no setor de anatomopatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais supervisionado pela professora Dra. Roselene Ecco no qual foi acompanhado 73 necropsias e 81 biópsias de animais de companhia, silvestres e de produção. A segunda parte do estágio foi realizada no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Paraíba, sob a supervisão do professor Dr. Ricardo Barbosa de Lucena, onde foi acompanhado 36 necropsias, 36 biópsias e 80 exames citopatológicos. O segundo capítulo se refere ao Trabalho de Conclusão de Curso que é intitulado “Avaliação histopatológica transcirúrgica de neoplasias palpebrais em equinos do estado de Pernambuco” e teve como objetivo analisar a aplicabilidade do método de avaliação histopatológico transcirúrgico por corte congelação de equinos atendidos no Setor de Oftalmologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Para ser realizada a pesquisa, foram acompanhados pacientes que passaram por cirurgias de remoção de tumores realizadas pela equipe do Laboratório de Oftalmologia Experimental do Hospital Veterinário Escola da UFRPE. Neste período foram avaliados um total de oito tumores e 16 margens provenientes de sete equinos selecionados para o estudo. Dos tumores, sete foram classificados como carcinoma de células escamosas e um como melanocitoma. Comparativamente, o diagnóstico histopatológico transoperatório e o pós-operatório obtiveram 100% de concordância quando analisados o diagnóstico morfológico da neoplasia e a avaliação do acometimento das margens cirúrgicas. Os resultados obtidos a partir da realização dessa pesquisa confirmam que a avaliação histopatológica transcirúrgica é um método eficiente para realização do diagnóstico e avaliação do comprometimento de margens cirúrgicas em tumores palpebrais de equino.

Palavras-chaves: biópsia transcirúrgica; carcinoma de células escamosas; melanocitoma.

ABSTRACT

The Mandatory Supervised Internship (ESO) is one of the requirements for completing the course and obtaining the Bachelor's degree in Veterinary Medicine from the Federal University of Pernambuco (UFRPE), carried out during the period from June 1 to August 18, 2023, at In total, a 40-hour weekly schedule was completed, totaling a workload of 420 hours of internship, which was carried out in the anatomopathology sector of the Veterinary Hospital of the Universidade Federal de Minas Gerais, supervised by professor Dr. Roselene Ecco, in which 73 necropsies were monitored and 81 biopsies from companion, wild and farmed animals. The second part of the internship was carried out at the Veterinary Pathology Laboratory of the Universidade Federal da Paraíba, under the supervision of professor Dr. Ricardo Barbosa de Lucena, where 36 necropsies, 36 biopsies and 80 cytopathological exams were monitored. The second chapter refers to the Course Completion Work which is entitled “Transsurgical histopathological evaluation of eyelid neoplasms in horses in the state of Pernambuco” and aimed to analyze the applicability of the transsurgical histopathological evaluation method by frozen section of horses treated in the Sector of Ophthalmology at the Federal Rural University of Pernambuco. To carry out the research, patients who underwent tumor removal surgeries carried out by the team at the Experimental Ophthalmology Laboratory of the UFRPE Veterinary School Hospital were monitored. During this period, a total of eight tumors and 16 margins were evaluated from seven horses selected for the study. Of the tumors, seven were classified as squamous cell carcinoma and one as melanocytoma. Comparatively, the intraoperative and postoperative histopathological diagnosis achieved 100% agreement when analyzing the morphological diagnosis of the neoplasia and the assessment of the involvement of the surgical margins. The results obtained from this research confirm that transsurgical histopathological evaluation is an efficient method for diagnosing and evaluating the compromise of surgical margins in equine eyelid tumors.

Keywords: Transsurgical biopsy; squamous cell carcinoma; melanocytoma.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	16
1.1 Introdução	16
1.2 Local 1 - Universidade Federal de Minas Gerais.....	17
1.2.1 Atividades realizadas	20
1.2.2 Discussão das atividades desenvolvidas.....	23
1.2 Local 2 - Universidade Federal da Paraíba.....	24
1.2.1 Atividades realizadas.....	26
1.2.2 Discussão das atividades desenvolvidas.....	27
CAPÍTULO II	30
2.1 Introdução.....	32
2.2 Revisão de literatura.....	32
2.1 Anatomia da pálpebra.....	32
2.2 Neoplasias palpebrais.....	33
2.2.1 Carcinoma de células escamosas.....	34
2.2.2 Tumores melanocíticos.....	34
2.3 Avaliação histopatológica transcirúrgica.....	36
3. Material e métodos.....	36
3.1 Aspectos éticos.....	36
3.2 Local e animais.....	37
3.3 Coleta de amostras.....	37
3.4 Avaliação histopatológica transcirúrgica.....	37
4. Resultados e discussão.....	38
5. Conclusão.....	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
REFERÊNCIAS	44

CAPÍTULO I

1.1 Introdução

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) constitui um dos requisitos para a conclusão de curso e obtenção do diploma de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pernambuco (UFRPE). O curso de graduação em Medicina Veterinária ofertado pela unidade Sede da UFRPE tem duração de cinco anos e meio, sendo dez semestres de atividades teórico-práticas e um semestre reservado para a realização do ESO, cuja carga horária mínima exigida é de 420 horas.

O ESO é realizado no último (11º) semestre do curso e tem como objetivo promover ao estudante uma vivência prática, seja em instituições públicas ou privadas, em uma ou mais das diversas áreas de atuação para um Médico Veterinário. O estudante tem a possibilidade de realizar o ESO em um ou dois estabelecimentos, não necessariamente na mesma área de atuação, o que lhe permite aprofundar conhecimentos e desenvolver as habilidades adquiridas ao longo dos 5 anos anteriores de curso teórico-prático. Dessa forma, o ESO contribui para a formação de um profissional capacitado e pronto para contribuir com a sociedade, seja qual for a área pretendida pelo estudante.

Durante o período entre 1 de junho a 18 de agosto de 2023, de segunda-feira a sexta-feira, das 08 às 17 horas, com uma hora de intervalo para almoço. No total cumpriu-se regime de oito horas diárias e 40 horas semanais, totalizando carga horária de 424 horas de estágio, que foi realizado no setor de anatomopatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Paraíba, ambas instituições possuem professores referências na área da patologia animal veterinária no Brasil.

O estágio na UFMG foi executado sob supervisão da doutora Roselene Ecco, professora e pesquisadora da Universidade Federal de Minas Gerais. A professora possui experiência nas áreas de patologia de aves de produção e silvestres (especialmente doenças infecciosas). A segunda parte do ESO foi realizada na UFPB sob supervisão do doutor Ricardo Barbosa de Lucena, professor e pesquisador da Universidade Federal da Paraíba. O professor possui experiência nas áreas de doenças de animais domésticos, exóticos e silvestres; histogênese e histopatologia das neoplasias; dermatopatologia; neuropatologia; patologia e patogênese das doenças infecciosas; intoxicações e plantas tóxicas.

Durante o período de estágio aconteceu o 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e 21º Encontro Nacional de Patologia Veterinária na Paraíba, neste período o estágio esteve atrelado às atividades ligadas a comissão organizadora do evento, assim como apresentação de resumos acadêmicos.

1.2 Local 1 - Universidade Federal de Minas Gerais

O início dos estágios se deu no setor de Anatomopatologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (Figura 1), localizado na cidade de Belo Horizonte, Brasil. Neste laboratório o estágio consistia em acompanhar atividades de necropsia, biópsia, citologia, atividades teóricas como aulas do programa de pós-graduação e atividades relacionadas a linha de pesquisa dos professores do setor.

Figura 1. Vista lateral do Hospital Veterinário da UFMG - localizado em Minas Gerais, Belo Horizonte



Fonte: Nascimento (2019).

O setor de necropsia está localizado no térreo do Hospital Veterinário, possui uma antessala composta por banheiros e vestiários (masculino e feminino) para que os alunos possam trocar suas vestimentas antes que tenham contato com os corpos dos animais. A sala principal possui um sistema de exaustão central para evitar a inalação de patógenos, cinco mesas de aço inoxidável para que sejam realizadas necropsias (Figura 2), entre a sala principal e a antessala existe um pedilúvio. Os equipamentos para realização do exame necroscópico como facas, lâminas de bisturi, costótomos, serras e cordões, assim como a limpeza das mesas e materiais é providenciada pelo técnico de necropsia do setor.

Algumas salas auxiliares se encontram ao redor da sala de necropsia, estas compreendem a sala de processamento de amostras, no qual possui uma capela de exaustão, que é utilizada para clivagem de biópsias, bem como materiais para realização de exames citopatológicos e um microscópio. Exames citopatológicos são realizados em animais com suspeitas de neoplasias ou doenças infecciosas.

Figura 2. Sala de necropsia da área de patologia animal, além das mesas, a sala também possui ganchos para erguer animais de grande porte e uma serra elétrica para realização de cortes de crânios e vértebras.



Fonte: Silva (2023).

Ao lado da sala de necropsias existem duas câmaras frias, uma para animais de pequeno porte e animais silvestres, e outra para animais de grande porte. As câmaras frias possuem entradas e saídas tanto para dentro da sala de necropsia quanto para fora do setor, fazendo com que clínicos não precisem acessar o setor para acondicionar de maneira adequada os corpos dos animais até que chegue o momento da realização da necropsia.

A área de anatomia patológica está situada no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária do Hospital Veterinário, possui sala de microscopia, laboratório de histotecnologia, sala de estudos, sala dos residentes, sala de reunião, museu da patologia e as salas dos professores.

A sala de microscopia é reservada pelos professores para demonstrar e discutir casos com alunos da residência, pós-graduação e graduação. A sala possui um microscópio do tipo medusa com 11 cabeças e apontador, no qual uma única pessoa, neste caso o professor,

controla o microscópio e 10 pessoas podem acompanhar a visualização da lâmina histopatológica.

O laboratório de histotecnologia é o lugar onde são processadas as amostras já clivadas de biópsia ou necropsias. O laboratório possui um processador automático de tecidos (histotécnico); três micrótomos rotativos semi automáticos; uma capela de exaustão com a bateria de coloração padrão ouro de lâminas histológicas (Hematoxilina e Eosina) e colorações histoquímicas específicas para certos tipos de tecidos ou agentes etiológicos, como *Gram* histológico, *giemsa*, *grocott*, *Ácido Periódico de Schiff*, *Ziehl Neelsen*, *Tricômico de Masson* e *Sudan black*, no local encontra-se uma segunda capela de exaustão contendo reagentes e ácido etilenodiamino tetra-acético para descalcificar amostras mineralizadas; uma estufa e uma geladeira para acondicionar e armazenar as amostras antes que sejam clivadas no micrótomo. O corpo técnico é composto por duas técnicas de histotecnologia.

A sala dos residentes possui quatro computadores (um para cada residente), um microscópio de duas cabeças e um microscópio do tipo medusa com 5 cabeças (Figura 3) e um armário com diversos livros de patologia veterinária. A sala é utilizada pelos residentes e estagiários para estudar lâminas histológicas antes de serem apresentadas aos professores, assim como escrever os laudos de necropsia e biópsias no sistema do Hospital Veterinário.

Figura 3. Sala dos residentes, representação do microscópio óptico do tipo medusa, o que permite mais de uma pessoa acompanhar a lâmina histopatológica simultaneamente.



A sala de estudos é composta por 8 mesas de 4 lugares, cada lugar contendo um microscópio óptico e funciona para que os alunos estudem individualmente as lâminas histológicas de suas pesquisas ou rotina. A sala também é utilizada pelos professores para ministrar aulas teóricas da pós-graduação, como as discussões semanais de casos da *Joint Pathology Center (JPC)* e as lâminas estudadas na disciplina de histopatologia.

O museu da patologia abriga material de casos antigos de maior interesse dos professores. Órgãos formalizados, lâminas histológicas e blocos de parafina estão identificados e armazenados no museu, todos eles com fichas contendo o laudo necroscópico e fotos macroscópicas. Todo esse material pode ser utilizado pelos professores do setor para serem utilizados como exemplos em aulas teóricas e práticas.

1.2.1 Atividades realizadas

As atividades realizadas durante o ESO incluíram realização de necropsias de animais domésticos de pequeno porte e animais silvestres, leitura das lâminas histológicas dos casos acompanhados de necropsia e biópsias; confecção de laudos anatomopatológicos, podendo ser aperfeiçoado o processo de descrição de lesões macro e microscópicas. Participação de aulas teóricas da graduação e pós-graduação, aprofundando os conhecimentos sobre patologia veterinária. Todas as atividades foram supervisionadas pelos professores do setor e pelos alunos de residência ou pós-graduação.

Existem quatro categorias de necropsias realizadas pelo setor de patologia: a necropsia convencional, solicitada por tutores em contato com o setor; necropsia estética, no qual a técnica deve ser realizada com as mínimas incisões possíveis no corpo, sendo o mesmo suturado e devolvido ao tutor (Figura 4); necropsia judicial; e a necropsia de animais em aulas práticas, no qual o laudo não foi solicitado pelo tutor, sendo o objetivo desta categoria o aperfeiçoamento da técnica pelos alunos da graduação.

Ao todo, foram acompanhadas 73 necropsias, como pode ser visto no Quadro 1. A espécie dos animais variou entre animais de estimação, animais silvestres e animais de produção. Os animais silvestres chegavam ao setor a partir do convênio do setor de Anatomia Patológica da UFMG com a empresa VALE, no qual todo animal silvestre encontrado morto em sua área de atuação era enviado ao laboratório para que fosse identificada a causa da morte.

Os órgãos de todos os animais necropsiados eram fixados em formol e passavam pelo processamento de rotina que incluía o procedimento de fixação, desidratação, clarificação e de inclusão para que fosse gerado uma lâmina histopatológica que irá compor o

laudo final do animal. A análise de lâminas também era realizada em materiais de biópsias do centro cirúrgico do próprio hospital ou biópsias advindas de outras universidades ou laboratórios particulares.

Figura 4. Utilização da sala de necropsia. A imagem evidencia a realização da necropsia reconstitutiva em cão com suspeita de intoxicação exógena.



Fonte: Silva (2023).

Foram avaliadas 81 amostras de biópsias, como demonstra o Quadro 2. A maioria das lâminas foram coradas em coloração padrão por Hematoxilina e Eosina, mas, quando existia suspeita, colorações específicas ou imuno-histoquímica também foram utilizadas para que fosse feito um diagnóstico preciso (Figura 5).

Foram acompanhadas atividades teóricas realizadas pelo setor, como aulas da pós-graduação de Histopatologia e encontros semanais da JPC. As aulas de Histopatologia consistem no envio de em média 15 lâminas por semana para que sejam discutidas presencialmente na sala de microscopia. Os encontros da JPC aconteciam às sextas feiras e eram discutidos quatro casos de laboratórios de distintas regiões do mundo.

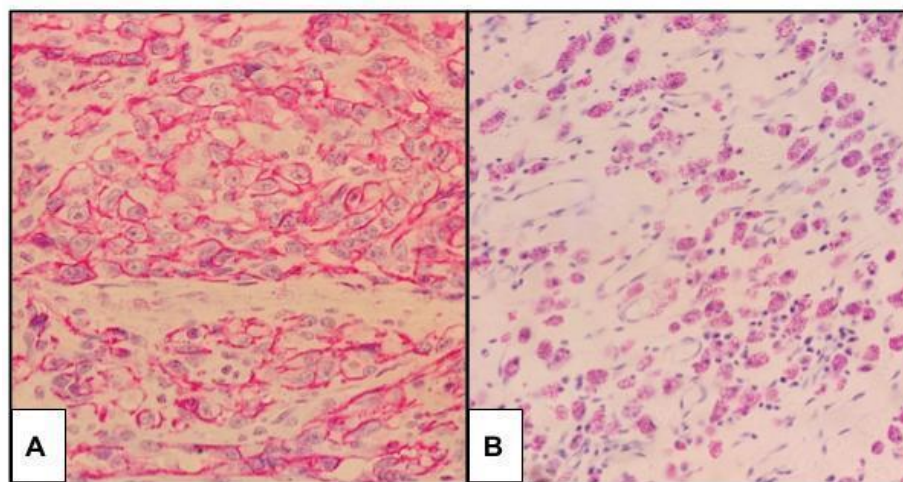
Durante o período do estágio foi possível assistir às aulas teóricas da disciplina de Patologia Veterinária, acompanhando os módulos referentes à patologia do sistema nervoso de pequenos e grandes animais, ministrada pela professora Dra. Roselene Ecco e patologia do

trato reprodutor masculino e feminino de pequenos e grandes animais, ministrado pela professora Dra. Aysa Oliveira.

Tabela 1. Distribuição do número e variações de espécies das necropsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) na UFMG.

Espécie necropsiada	Quantidade necropsiada
Cão - <i>Canis Familiaris</i>	33
Gato - <i>felis catus domesticus</i>	14
Jabutí - <i>Chelonoidis carbonária</i>	4
Tigre d'água - <i>Trachemys dorbigni</i>	3
Boi - <i>Bos taurus</i>	3
Matrinxã - <i>Brycon sp.</i>	2
Agapórnis - <i>agapornis roseicollis</i>	2
Coelha - <i>Oryctolagus cuniculus</i>	2
Pombo doméstico - <i>Columba livia</i>	2
Saracura - <i>Aramides saracura</i>	2
Sabiá - <i>Turdus rufiventris</i>	2
Mico - <i>Callithrix jacchus</i>	2
Arara Azul - <i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>	1
Porquinho da índia - <i>Cavia porcellus</i>	1
Jararaca - <i>Bothrops jararaca</i>	1
Suíno - <i>Sus scrofa domesticus</i>	1
Cachorro do mato - <i>Cerdocyon thous</i>	1
Ampulária - <i>Pomacea canaliculata</i>	1
Total	77

Figura 5. Fotomicrografia. Pele canino, Hemangiossarcoma e Leishmaniose. Utilização de imunohistoquímica em pele de cão acometido por processo neoplásico e infeccioso simultaneamente. **A:** Imunomarcador CD31 fortemente positivo em citoplasma evidenciando células endoteliais, confirmando suspeita de hemangiossarcoma. **B:** mesma região que figura A, porém com marcador de *Leishmania*, evidenciando as amastigotas intracelulares.



Fonte: Silva (2023).

Tabela 2. Distribuição do número e variações de espécies de biópsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) na UFMG.

Espécies de animais (biópsias)	Quantidade de biópsias
Cão - <i>Canis Familiaris</i>	45
Gato - <i>felis catus domesticus</i>	12
Calopsita - <i>Nymphicus hollandicus</i>	5
Suíno - <i>Sus scrofa</i>	3
Papagaio verdadeiro - <i>Amazona aestiva</i>	2
Equino - <i>equus caballus</i>	2
Boi - <i>Bos taurus</i>	2
Sapo - <i>Bufo bufo</i>	2
Gambá - <i>Didelphis albiventris</i>	1
Serpente - <i>Bothrops jararaca</i>	2
Polvo - <i>Enteroctopus dofleini</i>	1
Tartaruga - <i>Geochelone sulcata</i>	1
Galinha - <i>Gallus gallus domesticus</i>	1
Macaco	1
Total	81

Discussões semanais e seminários do Grupo de Estudos em Patologia Veterinária (GEPAV) também foram acompanhadas, os seminários acompanhados foram intitulados por Diagnósticos anatomopatológicos em diferentes espécies animais: Casos da residência e Introdução a dermatopatologia: primeiros passos. As discussões semanais são ministradas pela professora coordenadora do grupo, Dra. Roselene Ecco. Os seminários são ministrados por alunos da pós-graduação ou residentes da área.

1.2.2 Discussão das atividades desenvolvidas

As causas de morte mais frequentes nos animais necropsiados foi de caráter infectocontagioso, seguido por síndromes neoplásicas, alterações hemodinâmicas e intoxicações exógenas. A localização do laboratório em uma área endêmica para doenças tropicais, como leishmaniose e a esporotricose propiciou o número considerável destas infecções. Projetos da própria universidade que visam evitar o abandono, tratamento correto e isolamento de animais positivos são formas eficazes para diminuir o número de casos de doenças com impacto na saúde única.

As neoplasias foram a segunda maior causa de morte dos casos acompanhados e representaram o diagnóstico mais frequente nas amostras de biópsia. As neoplasias são a principal causa de indicação de eutanásia em animais idosos, o diagnóstico do tipo de neoplasia, assim como sua graduação através da análise de biópsia são de grande importância para o tratamento assertivo e melhor prognóstico do paciente.

Acompanhar as atividades teóricas garante, além da aquisição de novos conhecimentos, a educação continuada nos temas da patologia, ciência que passa por constantes atualizações, sendo exigido o permanente processo de aprendizado aos profissionais da área.

1.2 Local 2 - Universidade Federal da Paraíba

O último local de estágio foi realizado no Laboratório de Patologia Veterinária, localizado no setor de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus Areia-PB. As atividades do setor são desenvolvidas no laboratório de histopatologia, sala de necropsia, sala dos professores e em propriedades circunvizinhas à universidade, nos casos de viagens à campo.

O laboratório de histopatologia é o lugar de processamento de amostras de citologia, biópsia e necropsia, assim como discussão e estudos dos casos. Consta no laboratório cinco microscópios de microscopia óptica; duas capelas de exaustão de gases, uma contendo os reagentes necessários com coloração de lâminas histológicas por Hematoxilina e Eosina, e a outra contendo os reagentes necessários do processamento de rotina com fixação, desidratação e clarificação de amostras biológicas, um dispensador de parafina, um micrótomo rotativo semiautomático Leica RM2245™ para clivagem de amostras e uma televisão que permite a realização de atividades teóricas como apresentação de trabalhos ou seminários.

A sala de necropsia conta com uma sala principal com duas mesas e seis bancos de aço inoxidável, uma pia e quatro estantes no qual são guardadas as amostras biológicas dos casos retrospectivos. Uma sala auxiliar à principal possui dois freezers no qual são acondicionados os animais que serão necropsiados e um armário com os utensílios para realização do exame necroscópico (facas, tesouras, alicates, serras, barbantes e machadinhas). Após o exame, os membros e órgãos que não foram coletados para avaliação microscópica são descartados em uma fossa absorvente.

Figura 6. Sala de necropsia. Fotografia evidenciando o lugar onde são realizadas as necropsias no setor de anatomia patológica da UPB



Fonte Silva (2023).

A sala do professor é comporta um microscópio do tipo medusa que comporta até cinco pessoas simultaneamente. Nesta sala são realizadas discussões sobre as lâminas com o professor responsável do caso em conjunto com os alunos da graduação, pós-graduação ou residentes.

1.2.1 Atividades realizadas

Os principais exames acompanhados pelo estudante foram o citopatológico, histopatológico e necroscópico. O exame de citopatologia se baseia na coleta de células de lesões neoplásicas ou inflamatórias a partir do *imprint*, punção por agulha fina (PAF) ou punção aspirativa por agulha fina (PAAF) (Figura 7), é uma técnica pouco invasiva, rápida e não necessita de um longo processamento como a biópsia e a necrópsia.

Figura 7. Ambulatório de pequenos animais. Fotografia da realização do exame citopatológico por PAAF em neoplasia focalmente extensa e macia.



Fonte Silva (2023).

No total, 80 citologias foram acompanhadas, como demonstra o quadro 3. Apesar de ser um exame com um rápido resultado, a falta de arquitetura celular vista no exame pode apenas sugerir qual seria o tipo de neoplasia ou agente infeccioso. O diagnóstico morfológico final, assim como graduação da neoplasia e comprometimento de margens cirúrgicas só pode

ser realizado a partir do exame histopatológico, foram lidas e descritas um total de 36 casos de biópsias durante o período do estágio.

Foram realizados exames de necropsia de animais domésticos, de produção e silvestres, totalizando 36 animais avaliados, com suas respectivas causas de morte presente no quadro 4. As necropsias foram realizadas tanto no setor de patologia da universidade, quanto em propriedades rurais em viagens à campo, a partir do programa de extensão universitária realizado pelo professor doutor Ricardo Lucena, que visa a realização de visitas nas propriedades para realizar exames e dialogar sobre saúde única.

Três propriedades no interior da Paraíba foram visitadas para que fossem feitas necropsias à campo, duas no município de Ingá e uma delas no município de Areia. Foram necropsiados um equino em cada uma das propriedades, sendo dois deles apresentando sintomatologia neurológica e suspeitos para infecção por herpesvírus equino tipo 1 (EHV-1) e um deles apresentando síndrome de coagulação intravascular secundário à infecção bacteriana por *E. coli*.

Tabela 3. Distribuição do número e variações de espécies exames citopatológicos realizados ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.

Espécie analisada	Quantidade de animais
Cão - <i>Canis Familiaris</i>	57
Gato - <i>felis catus domesticus</i>	21
Bovino - <i>Bos taurus</i>	1
Equino - <i>equus caballus</i>	1
Total	80

Tabela 4. Distribuição do de biópsias realizadas ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.

Espécie analisada	Quantidade de animais
Cão - <i>Canis Familiaris</i>	25
Gato - <i>felis catus domesticus</i>	4
Equino - <i>equus caballus</i>	3
Gavião Carijó	2
Jaguaririca	1
Galinha	1
Total	36

1.2.2. Discussão das atividades desenvolvidas

O surto de infecções por EHV-1 em equinos acometeu várias propriedades rurais do brejo paraibano, causando perdas econômicas e zootécnicas a diversos produtores, o projeto de extensão universitária realizado pela equipe do LPV está sendo crucial para o diagnóstico correto da enfermidade, excluindo possíveis diagnósticos diferenciais neurológicos como raiva ou arboviroses e guiando os proprietários para uma conduta terapêutica assertiva.

O exame citopatológico realizado no mesmo laboratório que o exame histopatológico faz com que o patologista possa realizar a distinção entre as estruturas celulares e estruturais vistas nos dois métodos e comparar os seus resultados, um exemplo acompanhado durante o estágio ocorreu durante a avaliação de um tumor mesenquimal em membro de cão da raça Shih-Tzu, no qual o diagnóstico foi realizado na citologia, mas sua classificação só pôde ser definida a partir da avaliação histopatológica.

Tabela 5. Distribuição do número, variações de espécies e causa morte encontradas nos exames de necropsia realizados ao longo do estágio supervisionado obrigatório (ESO) no LPV.

Espécie analisada	Causa morte
Píton - <i>Python sp.</i>	Infecção bacteriana
Caprino - <i>Capra hircus</i>	Hemoncose
Felino - <i>Felis catus</i>	Choque hipovolêmico por hérnia diafragmática
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Neoplasia (Mastocitoma)
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Neoplasia (Mastocitoma)
Bovino - <i>Bos taurus</i>	Raiva
Iguana - <i>Iguana iguana</i>	Perfuração por corpo estranho
Ema - <i>Rhea americana</i>	Clostridiose
Papagaio - <i>Amazona aestiva</i>	Congestão difusa
Pato - <i>Anatidae sp.</i>	Autólise
Felino - <i>Felis catus</i>	Broncopneumonia
Pogona - <i>Pogona sp.</i>	Pneumonia
Felino - <i>Felis catus</i>	Neoplasia (linfoma)
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Neoplasia (melanoma)
Gerbil - <i>Meriones unguiculatus</i>	Autólise difusa
Rato twister - <i>Rattus norvegicus</i>	Cisticercose hepática
Felino - <i>Felis catus</i>	Broncopneumonia
Bovino - <i>Bos taurus</i>	Insuficiência renal aguda por obstrução uretral
Bovino - <i>Bos taurus</i>	Raiva
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Neoplasia (Sarcoma de tecidos moles)
Hamster - <i>Cricetinae sp.</i>	Autólise difusa
Ema - <i>Rhea americana</i>	Doença da gema e do ovo
Felino - <i>Felis catus</i>	Choque hipovolêmico por hérnia diafragmática
Ovino - <i>Ovis aries</i>	Hemoncose
Suíno - <i>Sus scrofa domesticus</i>	Circovirose
Suíno - <i>Sus scrofa domesticus</i>	Circovirose
Coruja - <i>Megascops choliba</i>	Trauma

Sagui - <i>Callithrix jacchus</i>	Trauma
Sagui - <i>Callithrix jacchus</i>	Herpesvirose
Bovino - <i>Bos taurus</i>	Paratuberculose
Ema - <i>Rhea americana</i>	Bouba
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Leishmaniose
Canino - <i>Canis Familiaris</i>	Neoplasia (colangiocarcinoma)
Equino - <i>equus caballus</i>	Herpesvírus equino
Equino - <i>equus caballus</i>	Herpesvírus equino
Equino - <i>equus caballus</i>	Sepse e coagulação intravascular disseminada
Total	36

As necropsias de animais silvestres foram acompanhadas a partir das atividades do Laboratório de Medicina da Conservação coordenado pelo professor doutor Jeann Leal de Araújo. As atividades do projeto estão ligadas à conservação de espécies selvagens e silvestres, utilizando da anatomopatologia para diagnosticar doenças e traçar meios para evitar as mesmas, como feito durante o projeto de pesquisa que diagnosticou osteodistrofia fibrosa juvenil e raquitismo nutricional em jacarés de cativeiro, afecções solucionadas após a mudança nos hábitos alimentares dos jacarés acometidos.

2.0 ENAPAVE

Durante o período de 17/07/2023 a 20/07/2023 foram realizadas atividades relacionadas a participação da comissão organizadora do 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária (CBPVA) e 21º Encontro Nacional de Patologia (ENAPAVE) Veterinária na Paraíba, o maior encontro da patologia veterinária do país, que aconteceu na cidade de João Pessoa, Paraíba.

2 CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA TRANSCIRÚRGICA DE TUMORES OCULARES EM EQUINOS

RESUMO

O avanço em tratamentos e técnicas na medicina veterinária proporcionou uma maior expectativa de vida dos equinos, fazendo com que mais indivíduos alcancem uma idade avançada, que é um dos fatores determinantes para o aumento da taxa de desenvolvimento de neoplasias. O presente trabalho tem como objetivo analisar a aplicabilidade do método de avaliação histopatológico transcirúrgico por corte congelação em tumores palpebrais de equinos atendidos no setor de Oftalmologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. Para o desenvolvimento da pesquisa, foram acompanhados pacientes que passaram por cirurgias de remoção de tumores realizadas pela equipe do Laboratório de Oftalmologia Experimental e do Hospital Veterinário Escola da UFRPE. Durante a realização da pesquisa foram avaliados um total de 8 tumores e 16 margens provenientes de 7 equinos selecionados para o estudo. Dos tumores, sete foram classificados como carcinoma de células escamosas (CCE) e um como melanocitoma. Comparativamente, o diagnóstico histopatológico transoperatório e o pós-operatório obtiveram 100% de concordância quando analisados o diagnóstico morfológico da neoplasia e a avaliação do comprometimento das margens cirúrgicas. Os resultados obtidos a partir da realização dessa pesquisa confirmam que a avaliação histopatológica transcirúrgica é um método eficiente para realização do diagnóstico e avaliação do comprometimento de margens cirúrgicas em tumores palpebrais de equino.

Palavras-chave: Biópsia transcirúrgica; carcinoma de células escamosas; melanocitoma.

ABSTRACT

Advances in treatments and techniques in veterinary medicine have provided a greater life expectancy for horses, causing more individuals to reach an advanced age, which is one of the determining factors for the increased rate of development of neoplasms. The present work aims to analyze the applicability of the transsurgical histopathological evaluation method by frozen section in equine eyelid tumors treated in the Ophthalmology sector of the Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. For the development of the research, patients who underwent tumor removal surgeries carried out by the team at the Laboratório de Oftalmologia experimental and the UFRPE Veterinary School Hospital were monitored. During the research, a total of 8 tumors and 16 margins were evaluated from 7 horses selected for the study. Of the tumors, seven were classified as squamous cell carcinoma (SCC) and one as melanocytoma. Comparatively, the intraoperative and postoperative histopathological diagnosis achieved 100% agreement when analyzing the morphological diagnosis of the neoplasia and the assessment of the compromise of the surgical margins. The results obtained from this research confirm that transsurgical histopathological evaluation is an efficient method for diagnosing and evaluating the compromise of surgical margins in equine eyelid tumors.

Keywords: Transsurgical biopsy; squamous cell carcinoma; melanocytoma.

1. Introdução

O avanço nas técnicas da medicina veterinária proporcionou uma maior expectativa de vida dos equinos, fazendo com que mais indivíduos alcancem uma idade avançada (IRELAND et al., 2010). Conseqüentemente ao avanço da idade, algumas doenças se tornam mais frequentes, como os distúrbios neoplásicos (SILVA; FURR, 2013), a classificação das neoplasias como malignas em comparação às benignas também aumentam conforme o avanço da idade do animal (PRIESTER; MANTEL, 1971).

As pesquisas que demonstram o diagnóstico morfológico e incidência da neoplasia são escassas na medicina veterinária, quando comparado à medicina humana (BRØNDEN; FLAGSTAD; KRISTENSEN, 2007), quando se trata especificamente de equinos, o número fica ainda mais escasso. A região anatômica mais afetada por tumores em equinos é a pele (SUNDBERG et al., 1977), estudos recentes mostram que 30% das afecções dermatológicas em equinos se trata de neoplasias cutâneas (VALENTINE, 2005).

A avaliação histopatológica transcirúrgica, também conhecido como consulta intraoperatória, já data mais de 100 anos de aplicação na medicina humana (MARCHEVSKY; ABDUL-KARIM; BALZER, 2015), sua indicação é a realização de um diagnóstico rápido e assertivo durante o procedimento cirúrgico, para que sejam tomadas as melhores decisões pelo cirurgião em prol do paciente (JAAFAR, 2006).

Na medicina veterinária poucos são os trabalhos que abordam a avaliação histopatológica transcirúrgica, sendo o mais atual realizado a mais de duas décadas e com o foco apenas em cães e gatos (WHITEHAIR et al., 1993). O presente trabalho tem como objetivo analisar a aplicabilidade do método de avaliação histopatológico transcirúrgico por corte congelado em tumores palpebrais de equinos atendidos no setor de oftalmologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

2. Revisão de literatura

1.1 Anatomia e histologia da pálpebra

Os equinos possuem três pálpebras: a pálpebra superior, a pálpebra inferior e a terceira pálpebra, também conhecida como membrana nictante, sendo a pálpebra superior mais larga e móvel que a pálpebra inferior (LAVACH, 1987). As pálpebras são compostas por três camadas: a pele, a camada média musculofibrosa e uma membrana mucosa, também chamada de conjuntiva palpebral (KÖNIG; LIEBICH; PÉREZ, 2020).

A pele da pálpebra do equino é fina e composta por tecido epitelial de revestimento com anexos cutâneos em derme, pelos, cílios, glândulas sebáceas e ductos sudoríparos (COOLEY, 1992). As glândulas sebáceas se originam nos folículos dos cílios e invadem a derme, composto por glândulas alveolares, simples e holócrinas, são contornadas por uma camada de células basais chamadas de células-reserva (KÖNIG; LIEBICH; PÉREZ, 2020).

A camada média musculofibrosa é constituída pelo músculo orbicular do olho; músculo levantador medial; lateral do ângulo do olho; e o músculo elevador da pálpebra superior (COOLEY, 1992). Abaixo da camada muscular repousa o tarso, que é composto por uma camada de tecido conjuntivo frouxo e uma camada de tecido conjuntivo denso que formam a estrutura da pálpebra (ANDERSON; WYMAN, 1979).

Membrana mucosa, também classificada como conjuntiva palpebral é revestida por um tecido epitelial que varia de estratificado colunar e se diferencia em escamoso. Quanto mais próximo do limbo, maior a quantidade de grânulos melanocíticos nas células epiteliais, e em cavalos pode variar conforme a raça. A camada epitelial é nutrida a partir da substância própria da conjuntiva, composta por tecido conjuntivo, agregados linfocitários em torno do limbo e vasos sanguíneos derivados da artéria ciliar anterior (MARTIN; ANDERSON, 1981)

A terceira pálpebra, membrana nictante ou prega semilunar da conjuntiva está situada no ângulo medial do olho e possui movimento livre sobre a porção medial do bulbo ocular, se prolongando do ângulo medial do olho entre a carúncula lacrimal e o bulbo do olho. É sustentada por um segmento de cartilagem elástica em formato de ‘T’. Na íntima da terceira pálpebra encontram-se vários nódulos linfáticos e, na base da cartilagem, a glândula superficial da terceira pálpebra (KÖNIG; LIEBICH; PÉREZ, 2020).

1.2 Neoplasias palpebrais

Devido a sensibilidade do globo ocular, a menor das alterações estruturais, causadas por neoplasias benignas ou malignas podem causar danos à capacidade visual do animal, como desconforto, descoloração ou até úlceras de córnea (DUBIELZIG, 2020).

As neoplasias oculares de equino afetam principalmente a pálpebra e a conjuntiva, sendo os tumores que afetam órbita e córnea raros e, na maioria dos casos, ocorrem por extensão e invasão das neoplasias palpebrais (GILGER 2010, DUGAN, 1992). O tumor de maior incidência que acomete a pálpebra é o carcinoma de células escamosas (GIULIANO, 2011), seguido pelo sarcoide equino (MONTGOMERY, 2014), e, em menor número, a literatura cita neoplasias como o melanoma (ALBANESE; NEWTON; WAGUESPACK, 2015), papiloma (JUNGE; SUNDBERG; LANCASTER, 1984) e linfoma (SCHNOKE et al., 2013).

1.2.1 Carcinoma de Células Escamosas

O carcinoma de células escamosas (CCE) se trata de um tumor epitelial maligno no qual há a diferenciação neoplásica de células da epiderme, mais especificamente os queratinócitos. Nos equinos as raças com maior risco de desenvolverem CCE são Belgo, Clydesdale, Shire, Paint Horse e Appaloosa. As junções mucocutâneas da pálpebra e terceira pálpebra são os locais de maior incidência dessa neoplasia (GOLDSCHMIDT; GOLDSCHMIDT, 2016). Um dos fatores de indução e iniciação neoplásica associados é a exposição prolongada a radiação ultravioleta, como a luz do sol, que causa uma mutação na expressão do gene P53, o que leva a maior incidência do CCE em animais de pelagem clara ou com locais de maior irradiação solar (TEIFKE; LÖHR, 1996, SIRONI 1999).

Macroscopicamente a lesão se caracteriza por um crescimento focalmente extenso, erosivo a ulcerado, eritematoso e em formato de couve-flor, geralmente unilateral e raramente bilateral. O CCE pode ser classificado com base na sua evolução em placa (também conhecido como carcinoma *in-situ*), papilomatoso, não invasivo ou invasivo (PEIFFER et al., 1999).

O carcinoma *in-situ* forma áreas planas hiperêmicas, erosivas com bordas lisas e crostosas que podem evoluir para a forma papilomatosa: proliferação exofítica com superfície irregular, multilobulada e coalescente. O carcinoma não invasivo surge a partir das lesões em placa, apresenta crescimento irregular e exofítico que distorce a arquitetura da pálpebra e causa maior pressão intraocular. O carcinoma invasivo apresenta proliferação tanto exofítica quanto endofítica, invadindo tecidos adjacentes como estroma da conjuntiva, a esclera e estruturas intraoculares (DUBIELZIG 2020, HENDRIX, 2005, KAPS et al., 2005).

Microscopicamente, os queratinócitos neoplásicos se organizam em trabéculas ou ninhos visíveis na derme, não formam cápsulas e apresentam crescimento infiltrativo e expansivo. As células são pleomórficas e poligonais, variam entre pequenas células basais com núcleos pequenos e basofílicos, a grandes células queratinizadas com núcleos basofílicos de cromatina periférica com múltiplos e proeminentes nucléolos. Figuras de mitose típicas e atípicas são comumente encontradas. Por vezes, as células se organizam em queratinização, ou seja, lamelas concêntricas formando o arranjo chamado de pérola de queratina (GOLDSCHMIDT; GOLDSCHMIDT, 2016)

1.2.2 Tumores melanocíticos

O melanócito se trata de células dendríticas de origem neuroectodérmicas capazes de produzir o pigmento de melanina e migram, durante a embriogênese, para a derme, epiderme e outros órgãos que possam ser pigmentados, como por exemplo olhos, o interior das orelhas

e as meninges (AGAR; YOUNG, 2005). A transformação neoplásica de melanócitos maligna é chamada de melanoma, enquanto a benigna é chamada de melanocitoma (PHILLIPS; LUIS 2013).

Os tumores melanocíticos compreendem uma das neoplasias mais comuns da pele dos equinos, representando de 3,8% a 15,0% de todas as neoplasias de pele (SUNDBERG et al., 1977). Não existe predileção por gênero e em cavalos, algumas raças como Puro-Sangue Árabe, Percheron e Lippizzano apresentam predisposição a desenvolver tais neoplasias (VALENTINE, 2005). Apesar de ser diagnosticado em cavalos de todas as cores, as neoplasias melanocíticas possuem alta prevalência em cavalos cinzas (JOHNSON, 1998). Quando acomete a região ocular, a neoplasia é classificada como melanoma conjuntival (PHILLIPS; LUIS 2013).

Macroscopicamente, o melanoma é um tumor cutâneo de crescimento lento, parcialmente alopecico e fortemente pigmentado, por vezes ulcerado (PIGATTO et al., 2017). O desenvolvimento da neoplasia, assim como tamanho e número de sítios anatômicos acometidos é diretamente proporcional a fatores como à idade do animal, assim como predisposição hereditária, não existem trabalhos que comprovem que o desenvolvimento do melanoma possui relações com o grau de incidência solar que o animal recebe (FLEURY et al., 2000).

A apresentação clínica do melanocitoma é, macroscopicamente, semelhante ao melanoma. Mesmo benignas, algumas destas neoplasias apresentam úlceras, o que pode ser explicado pelo grande tamanho do tumor, predispondo ao trauma mecânico. Não existem trabalhos que correlacionam a presença de úlceras com o prognóstico ou o diagnóstico morfológico da neoplasia (GOLDSCHMIDT; GOLDSCHMIDT, 2016). O melanocitoma pode se desenvolver como nódulos multifocais anatomicamente distantes, podendo se assemelhar clinicamente de metástases de um melanoma (PHILLIPS; LUIS 2013).

À microscopia, as neoplasias melanocíticas podem ser divididas com base no seu tecido de origem. Proliferações que formam nódulos multifocais em região de epiderme e principalmente em junção dermo-epidérmica são classificados como juncionais; neoplasias que se originam somente do componente intradérmico são classificados como dérmicos; neoplasias que apresentam origem das duas regiões anatômicas são classificados como compostos (GOLDSCHMIDT; GOLDSCHMIDT, 2016).

A morfologia das células varia entre arranjos epitelióides a fusiformes, o citoplasma de alguns dos melanócitos neoplásicos apresentam uma quantidade variável de pigmento acastanhado compatível com melanina. Alguns melanomas podem não apresentar pigmentação, sendo classificados como melanomas amelanóticos. Os critérios de malignidade

são geralmente escassos e o principal fator de diferenciação entre neoplasmas malignos e benignos é a quantidade de figuras de mitose encontradas (JUBB; KENNEDY; PALMER, 2016).

1.3 Avaliação histopatológica transcirúrgica

O primeiro registro da realização da técnica acompanhou os avanços da medicina humana no final do século XIX, com o desenvolvimento de novas técnicas rápidas de coloração como o azul de metileno e microscópios de melhor resolução. Conseqüentemente aos avanços, os cirurgiões da época questionavam sobre a etiologia e morfologia dos tumores de seus pacientes, foi quando o médico cirurgião William Mayo proferiu a famosa frase “quero saber se o meu paciente possui ou não câncer enquanto ele ainda está na minha mesa cirúrgica”, seu pedido foi atendido pelo patologista Dr. Louis B. Wilson (GAL, 2005).

Como método de congelação dos tecidos, o patologista utilizou as baixas temperaturas do inverno (-29° C) e congelou a amostra biológica colocando-a fora da janela, o contato com os ventos frios fez o tecido congelar em minutos. O tecido foi clivado a partir de um micrótomo automático de congelação e corado utilizando azul de toluidina (cloreto de tolônio). Com o avançar das técnicas, Wilson conseguia realizar o diagnóstico intraoperatório em 5 minutos ou menos (GAL, 2005).

A principal finalidade da consulta intraoperatória foi estabelecer um diagnóstico que poderia influenciar o curso do procedimento cirúrgico ou o pós-operatório imediato, identificando margens comprometidas e diminuindo recidivas, conseqüentemente melhorando o prognóstico do paciente (KINDSCHI, 1984). Por se tratar de um método diferente do padrão ouro de histotecnologia, vários são os estudos que avaliam a precisão da técnica (ÖZGEN, 2023; WANG et al., 1998; GEOMINI et al., 2005).

Poucos são os trabalhos na área da medicina veterinária que avaliam a acurácia e precisão da avaliação histopatológica transcirúrgica, a pesquisa mais recente, realizada por WHITEHAIR, 1993 demonstrou acurácia geral de 93%. Até o momento, não foram feitas pesquisas sobre a realização da consulta intraoperatória em cirurgias oncológicas de equinos, sendo esta pesquisa precursora na área.

3. Material e métodos

3.1 Aspectos éticos

O presente trabalho foi conduzido respeitando as diretrizes do Princípios Éticos da Experimentação Animal do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal

Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE), sob número de licença CEUA 9539250520_(ID 000307). A pesquisa se ateve aos procedimentos que visam o diagnóstico do animal, não interferindo nas opções terapêuticas ou anestésicas dos pacientes.

3.2 Local e animais

O estudo é classificado como observacional do tipo transversal, desenvolvido a partir do acompanhamento das atividades do Laboratório de Oftalmologia Experimental (LOE), situado no Hospital Veterinário Escola (HOVET) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

As amostras analisadas foram provenientes das cirurgias oncológicas eletivas de remoção de neoplasias realizadas pela equipe cirúrgica do LOE, todos os tutores foram avisados previamente sobre a realização da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Todos os equinos acompanhados passaram por atendimento clínico com triagem inicial no Ambulatório de Grandes Animais (AGA) realizado também pela equipe do LOE, sendo incluído na pesquisa todos aqueles que apresentem tumores na região palpebral e que fosse indicado o procedimento cirúrgico de remoção do nódulo.

O processamento histológico pós-operatório das amostras coletadas foi realizado no LOE e no Laboratório de Diagnóstico Animal (LDA), situado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE.

3.3 Coleta de amostras

Os animais indicados para o procedimento cirúrgico de exérese tumoral foram submetidos ao protocolo padrão de medicações pré-anestésicas, anestésicas e pós-operatórias realizados pela equipe do LOE. Durante o procedimento cirúrgico, o cirurgião responsável coletou amostras referentes ao tecido neoplásico, assim como suas margens laterais e profundas e as entregou para a equipe de patologistas.

Após serem excisadas e avaliadas, as peças cirúrgicas foram descongeladas e fixadas em formaldeído a 10% tamponado (PBS 0,01M e pH 7,2) e enviados para o processamento histopatológico de rotina e análise de microscopia óptica no LDA para que fossem avaliadas novamente por outro patologista, que não acompanhou o procedimento transcirúrgico. O resultado da avaliação transoperatória foi comparado ao resultado da avaliação pós-operatória, respeitando as regras de um estudo do tipo duplo-cego.

3.4 Avaliação histopatológica transcirúrgica

Os materiais necessários para a realização da consulta intraoperatória foram montados em uma mesa próxima à sala de cirurgia de grandes animais. Assim que retirado o fragmento pelo cirurgião, as peças passaram por avaliação e descrição macroscópica, sendo classificado seu tamanho, coloração e características de borda e superfície, assim como identificadas suas margens laterais e profundas a partir de tinta Nankin.

Como opção de microtomia, foi utilizado um micrótomo de congelação manual e portátil Thiacron™®. As amostras então foram clivadas em fragmentos de até 2 centímetros e apoiadas na base do micrótomo, o material utilizado para imergir o fragmento na base do micrótomo foi o meio de temperatura ideal de corte *Tissue Freezing Medium* da Leica™.

Os tecidos foram congelados a partir da neve carbônica, material composto de dióxido de carbono que alcança temperaturas de até -70C° e possui consistência arenosa, ideal para congelar toda a superfície de contato da amostra. Após poucos segundos, a amostra e o meio foram congelados e cortados em fitas de aproximadamente 5 a 10µm de tecido.

Tais fitas foram transportadas para um recipiente com água corrente em temperatura ambiente para que fosse retirado o excesso de neve carbônica e de meio e que fosse transportado para uma lâmina de vidro com borda fosca na melhor posição possível para análise. Uma vez presente na lâmina, a amostra foi secada a partir de alguns segundos de vapor quente, corada utilizando azul de toluidina a 3% ou coloração do tipo Romanowsky (panótico rápido) e montadas a partir de uma lamínula de vidro.

Uma vez preparadas, as lâminas foram submetidas a avaliação histopatológica em microscopia óptica.

4. Resultados e Discussão

Durante a realização da pesquisa foram avaliados um total de 8 tumores e 16 margens provenientes de sete equinos selecionados para o estudo. Dos tumores, sete (87,5%) foram classificados como CCE e um (12,5%) como melanocitoma. As margens analisadas durante a pesquisa foram as margens laterais e a profunda.

Entre os animais que participaram da pesquisa, cinco foram machos e dois foram fêmeas, com idade variando entre seis anos e mais de 15 anos de idade. Em relação à raça, três foram sem raça definida (SRD), três foram Manga Larga Marchador e um Paint Horse. Cinco animais possuíam pelagem tordilha e dois eram castanhas. Em relação a localização da neoplasia, as pálpebras inferiores e superiores foram as mais afetadas, compreendendo cinco casos, enquanto a terceira pálpebra foi acometida em dois casos.

Apesar de ser considerado raro, um dos equinos acompanhados durante a pesquisa desenvolveu carcinoma de células escamosas de forma bilateral, afetando a pálpebra inferior

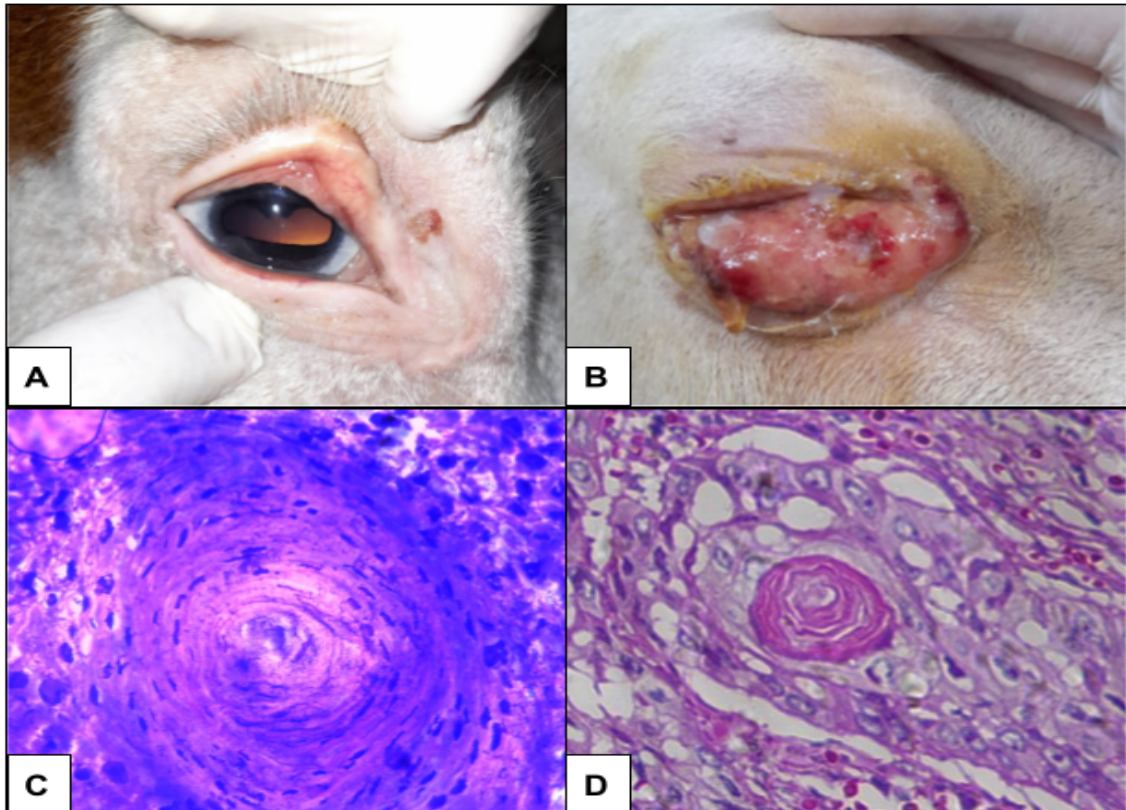
direita e esquerda. O estudo retrospectivo que avaliou 147 equinos com CCE realizado por Dugan (1992) demonstrou que em média, 16% dos casos de CCE acometem as pálpebras de forma bilateral.

De acordo com Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos, o estado de Pernambuco pode alcançar o grau 11 de radiação UV, considerado nível extremo pela Organização Mundial da Saúde (TIBA; LEAL; CAMPOS, 2011). Os altos níveis de radiação são capazes de realizar mutação no gene P53 e consequentemente causar o desenvolvimento do CCE em equinos. Como relatado em trabalhos anteriores, 100% dos equinos com CCE também apresentaram super expressão do gene P53 (TEIFKE; LÖHR, 1996, SIRONI et al. 1999).

Os altos níveis de radiação UV na região realizada o estudo pode indicar o motivo de 87,5% das neoplasias estudadas se tratar de CCE, enquanto outras neoplasias que a literatura cita que tenham igual ou menor incidência, como o sarcoide equino (GIULIANO, 2010) não tenham sido avaliados no presente estudo. Animais que possuem pouca melanina apresentam maior suscetibilidade aos danos da radiação UV, o que corrobora com o fato de que a maioria dos animais que apresentaram CCE neste estudo são de coloração tordilha (HENDRIX, 2005).

As apresentações macroscópicas dos CCE acompanhados no presente trabalho foram variadas enquanto a intensidade e avanço do desenvolvimento neoplásico (Figura 7), características como ulceração, coloração avermelhada, aumento de volume, bordas crostosas e comprometimento da visibilidade foram observados nos animais e nos relatos citados na literatura. Características microscópicas clássicas do CCE também foram identificadas durante a consulta intraoperatória para confirmarem o diagnóstico (Figura 7) (HENDRIX, 2005; DRAZEK et al., 2015; PIGATTO et al., 2011).

Figura 8. Pálpebra, equino. **A:** Carcinoma de células escamosas causando lesão focal, avermelhada, superfície irregular, alopecica e de bordos crostosos em região próxima à pálpebra superior, por suas características macroscópicas e microscópicas, a lesão foi classificada como carcinoma *in-situ*. **B:** CCE causando lesão focalmente extensa, rosa, de superfície irregular, exofítica com áreas multifocais de ulceração e hemorragia, causando comprometimento da acuidade visual e da pálpebra inferior e superior. Por suas características macroscópicas e microscópicas, o CCE foi classificado como invasivo. **C:** Fotomicrografia realizada durante o procedimento cirúrgico, pálpebra, equino. Microscopicamente as células epiteliais neoplásicas se organizavam em pérolas córneas classificadas por tal arranjo lamelar de queratinócitos em disqueratose formando acúmulos concêntricos de queratina na derme. Azul de toluidina, 40x. **D:** Fotomicrografia, pálpebra, equino. Fragmento da figura C, análise pós cirúrgica por metodologia padrão de fixação e coloração. Nota-se a pérola córnea com características celulares semelhantes à encontrada durante a avaliação transcirúrgica. Hematoxilina e Eosina, 40x.

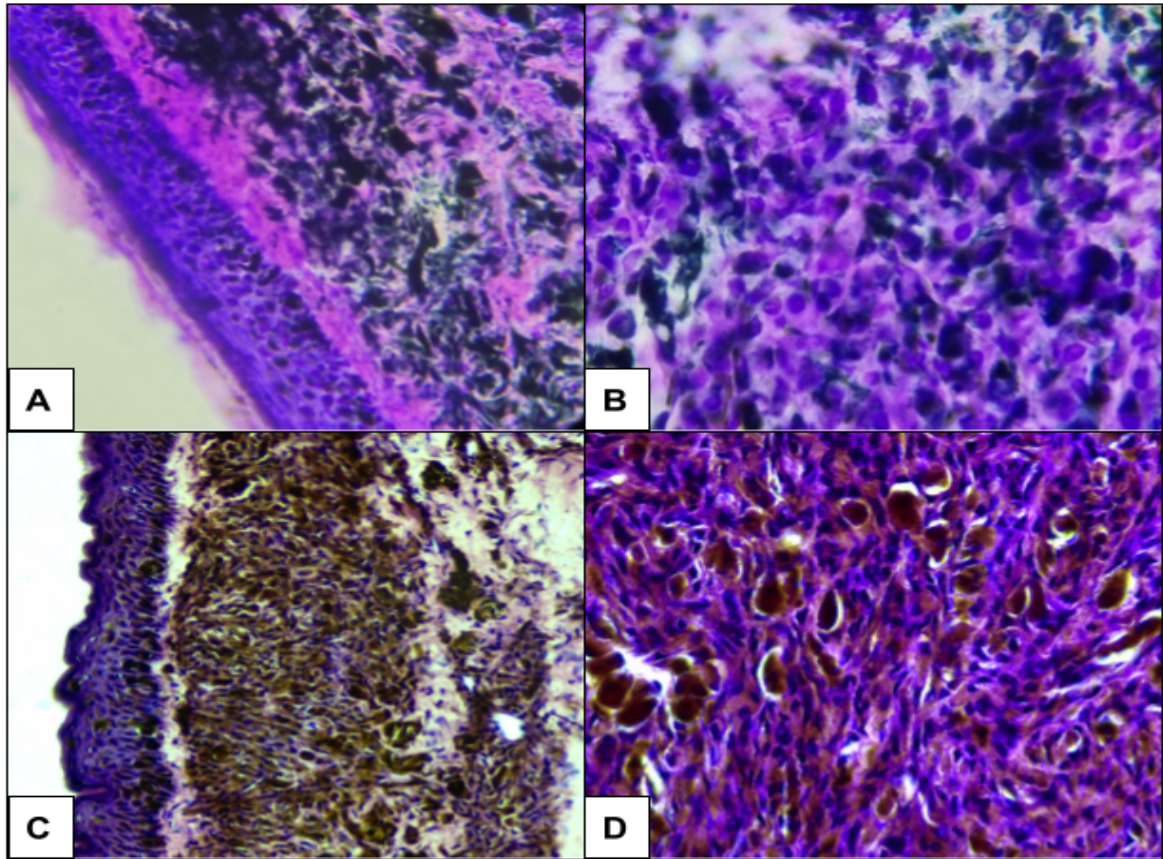


Fonte: Silva 2023

O melanocitoma, que também pode ser encontrado na literatura como nevo melanocítico, diagnosticado durante a pesquisa foi classificado como dérmico e benigno por suas características microscópicas (Figura 9). Tais características como poucas figuras de mitose e células fusiformes a redondas com presença de pigmentos acastanhados em seu interior também foram citadas nos trabalhos de Phillips e Luis (2013), Foley; Valentine e Kincaid (1991) e Hirst et al. (1983).

Figura 9. Fotomicrografia. Pálpebra, equino acometido por melanocitoma. **A:** Características microscópicas encontradas durante o procedimento transcirúrgico, nota-se população celular com intensa

quantidade de grânulos citoplasmáticos substituindo o tecido normal da derme superficial. Panótico rápido, 10X. **B**: Maior aumento da imagem A, além da presença do pigmento, as células apresentam núcleo central e basofílico, com nucléolos pouco visíveis, < 1 mitose por campo de maior aumento. Panótico rápido, 40x. **C e D**: Mesmo fragmento que A, método histotecnológico padrão e coloração por Hematoxilina e Eosina. Comparativamente, as células apresentam morfologia e organização semelhante aos encontrados na lâmina durante o transcirúrgico. Hematoxilina e eosina, 10x e 40x, respectivamente.

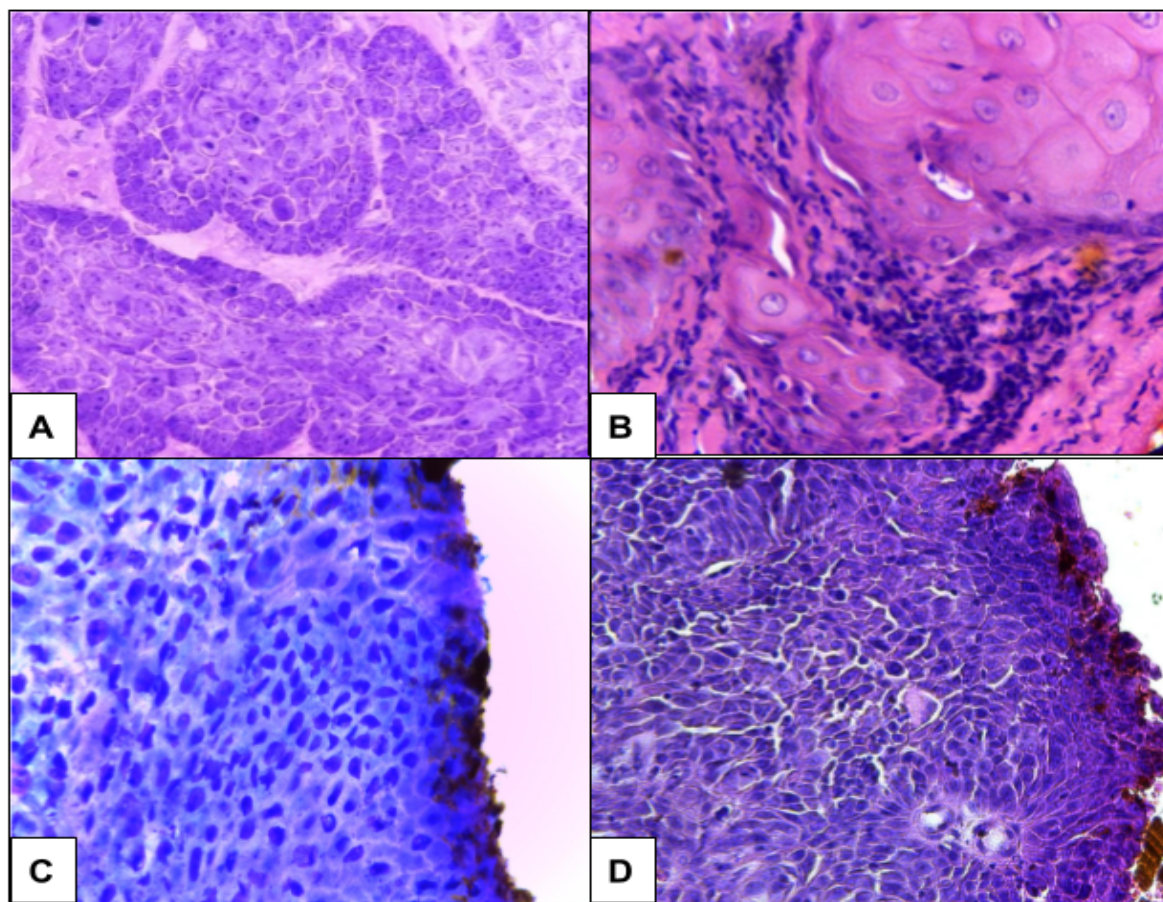


Fonte: Silva 2023

Todos os tumores avaliados durante a pesquisa tiveram suas margens laterais e profundas avaliadas, das 16 margens avaliadas, nove foram classificadas como comprometidas durante o procedimento cirúrgico (Figura 10), a equipe de cirurgiões realizou cortes mais profundos nestas regiões até que fossem classificadas como livres na microscopia. A pálpebra é o sítio anatômico de maior taxa de recidiva tumoral em casos de CCE (KING et al., 1991), a realização da consulta intraoperatória foi essencial para diminuir a taxa de recidivas e melhorar o prognóstico do paciente.

Figura 10. Fotomicrografia. Pálpebra, equino acometido por CCE: A: Características microscópicas da neoplasia avaliadas durante o momento da cirurgia: conjunto de células epiteliais, majoritariamente queratinócitos, formando trabéculas que infiltrar a derme adjacente, as células possuem citoplasma bem

delimitado e amplo, com núcleos centrais, anisocitose e anisocariose moderadas, com moderadas figuras de mitose. Azul de toluidina, 10x. **B:** Mesmo fragmento que a imagem A, processado e corado por Hematoxilina e Eosina, comparativamente, as células apresentam as mesmas características morfológicas. 40x. **C:** Avaliação de margem cirúrgica profunda durante o procedimento cirúrgico, presença de células neoplásicas em íntimo contato com a tinta nankin amarela utilizada para identificar os limites do corte cirúrgico, indicando margem comprometida. Azul de Toluidina, 40x. **D:** Mesmo fragmento que mostra a figura C, processado e corado por metodologia padrão por Hematoxilina e Eosina, também é possível identificar células neoplásicas em contato com a margem cirúrgica.



Fonte: Silva 2023

A escolha do tipo de coloração empregada levou em consideração a velocidade de realização do método, detalhamento celular e custo de obtenção do corante. Por ser mais econômico e rápido (KOTHARI, 2019), o azul de toluidina a 3% foi utilizado em todos os casos acompanhados na pesquisa. O melanocitoma, apesar de ser diagnosticado utilizando o azul de toluidina, apresentou características morfológicas (grânulos melanocíticos) melhor visualizados utilizando o corante derivado de Romanowsky. Fatores como diluição, tempo de utilização e exposição à luz podem ser relacionados com a menor caracterização morfológica das células neste caso (MURANO; HUDNALL, 2001).

5. Conclusão

Comparativamente, o diagnóstico histopatológico transoperatório e o pós-operatório obtiveram 100% de concordância quando analisados a avaliação ao diagnóstico morfológico da neoplasia e a avaliação do comprometimento das margens cirúrgicas. Os resultados obtidos a partir da realização dessa pesquisa confirmam que a avaliação histopatológica transcirúrgica é um método eficiente para realização do diagnóstico e avaliação do comprometimento de margens em tumores palpebrais de equinos. Melhorando a conduta cirúrgica e o prognóstico do animal. Até o momento da realização deste trabalho, este é o primeiro relato da literatura que aborda o diagnóstico histopatológico transcirúrgico na espécie equina.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A existência do ESO enquanto requisito para a formação no curso de Medicina Veterinária proporcionou o aprofundamento de conhecimentos teóricos e práticos na área da patologia veterinária. Sendo possível o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de necropsia, construção de laudos histopatológicos ou citopatológicos e realização de trabalhos acadêmicos. A disciplina também proporcionou a possibilidade de conhecer renomadas instituições de ensino com rotinas e metodologias diferentes das conhecidas na UFRPE, o somatório das novas experiências com os conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária serão essenciais na atuação profissional do aluno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGAR, N.; YOUNG, A.R. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage? **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 571, n. 1-2, p. 121-132, 2005.
- ALBANESE, V.; NEWTON, J. C.; WAGUESPACK, R. W. Malignant melanoma of the third eyelid in a horse. **Equine Veterinary Education**, v. 27, n. 7, p. e15-e19, 2015.
- ANDERSON, B. G.; WYMAN, M. Anatomy of the equine eye and orbit: Histological structure and blood supply of the eyelids. **Journal of Equine Medicine and Surgery (USA)**, 1979.
- BRØNDEN, L. B.; FLAGSTAD, A.; KRISTENSEN, A. T. Veterinary cancer registries in companion animal cancer: a review. **Veterinary and comparative oncology**, v. 5, n. 3, p. 133-144, 2007.
- COOLEY, Pennie L. Normal equine ocular anatomy and eye examination. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, n. 3, p. 427-449, 1992.
- DRAZEK, M., LEW, M., LEW, S., SZAREK, J., BALICKI, I., & SALDA, L. D. Equine ocular squamous cell carcinoma: a case report. **Veterinární medicína**, v. 60, n. 7, 2015.
- DUBIELZIG, R. R. Tumor of the Eye. In MEUTEN, Donald J. (Ed.). **Tumors in domestic animals**. John Wiley & Sons, 2020.
- DUGAN, S. J. Ocular neoplasia. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, n. 3, p. 609-626, 1992.
- FLEURY, C., BERARD, F., BALME, B. AND THOMAS, L. The study of cutaneous melanomas in Camargue-type gray-skinned horses (1): Clinical-pathological characterization. **Pigment Cell Research**, v. 13, n. 1, p. 39-46, 2000.

FOLEY, G. L.; VALENTINE, B. A.; KINCAID, A. L. Congenital and acquired melanocytomas (benign melanomas) in eighteen young horses. **Veterinary Pathology**, v. 28, n. 5, p. 363-369, 1991.

GAL, ANTHONY A.; CAGLE, PHILIP T. The 100-Year Anniversary of the Description of the Frozen Section Procedure. **Jama** —Vol 294, No. 24, December 28, 2005.

KOTHARI, K., TUMMIDI, S., AGNIHOTRI, M., SATHE, P., & NAIK, L. This 'Rose' Has no Thorns—Diagnostic Utility of 'Rapid On-Site Evaluation'(ROSE) in Fine Needle Aspiration Cytology. **Indian Journal of Surgical Oncology**, 10, 688-698. 2019.

LIEBICH, H.-C, SÓTONYI P., KÖNIG, H. E. The Eye. In KÖNIG, H.E. AND LIEBICH, H.-C. **Veterinary Anatomy of Domestic Mammals**. Textbook and Colour Atlas. 6th Edition, Schattauer, Stuttgart. 2014.

GEOMINI, P., BREMER, G., KRUITWAGEN, R., & MOL, B. W. Diagnostic accuracy of frozen section diagnosis of the adnexal mass: a metaanalysis. **Gynecologic oncology**, v. 96, n. 1, p. 1-9, 2005.

GIULIANO, E. A. Equine periocular neoplasia: current concepts in aetiopathogenesis and emerging treatment modalities. **Equine Veterinary Journal** 42.S37: 9-18. 2010.

GIULIANO, E. A. Equine ocular adnexal and nasolacrimal disease. **Equine ophthalmology**, p. 133-180, 2011.

GILGER, Brian. **Equine Ophthalmology-E-Book**. Elsevier Health Sciences, 2010.

GOLDSCHMIDT, M. H., GOLDSCHMIDT, K. H. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In **Tumors in Domestic Animals**. Fifth Edition. pp. 88-141. 2016

HENDRIX, D. V. H. Equine ocular squamous cell carcinoma. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 4, n. 1, p. 87-94, 2005.

HIRST, L.W., JABS, D.A., STOSKOPF, M., STRANDBERG, J.D. AND KEMPSKI, S. Benign epibulbar melanocytoma in a horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 183, n. 3, p. 333-334, 1983.

JUNGE, R. E., SUNDBERG, J. P., LANCASTER, W. D. Papillomas and squamous cell carcinomas of horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 185.6: 656-659. 1984.

KAPS, S., RICHTER, M., PHILIPP, M., BART, M., EULE, C., & SPIESS, B. M. Primary invasive ocular squamous cell carcinoma in a horse. **Veterinary ophthalmology**, v. 8, n. 3, p. 193-197, 2005.

KING, T. C., PRIEHS, D. R., GUM, G. G., & MILLER, T. R. Therapeutic management of ocular squamous cell carcinoma in the horse: 43 cases (1979–1989). **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 6, p. 449-452, 1991.

LAVACH J.D. **The Handbook of Equine Ophthalmology**. Ft Collins, CO, Giddings Studio Publishing, 1987, pp 2-357.

IRELAND, J., CLEGG, P., MCGOWAN, C., MCKANE, S. AND PINCHBECK, G. A cross-sectional study of geriatric horses in the United Kingdom. Part 1: Demographics and management practices. **Equine Veterinary Journal**, 43(1), 30-36. 2011.

JAAFAR, H. Intra-operative frozen section consultation: concepts, applications and limitations. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 13, n. 1, p. 4, 2006.

JOHNSON, P. J. Dermatologic tumors (excluding sarcoids). **Veterinary clinics of North America: equine practice**, v. 14, n. 3, p. 625-658, 1998.

JUBB, K. V. F., P. C. KENNEDY, AND N. PALMER. "Integumentary system." **Pathology of Domestic Animals**. Volume 1.: 553-554. 2016

KINDSCHI, G. W. Frozen sections: Their use and abuse. **JAMA**, v. 251, n. 19, p. 2559-2560, 1984.

MARCHEVSKY, A. M.; ABDUL-KARIM, F. W.; BALZER, B. General Guidelines for Intraoperative Consultations with Frozen Section, In: Marchevsky, A. M.; Abdul-Karim, F. W.; Balzer, B. **Intraoperative Consultation: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology**. Philadelphia: Elsevier, 2015.

MARTIN, C. L., ANDERSON, B.G. Ocular anatomy. In Gelatt KN (ed): **Textbook of Veterinary Ophthalmology**, ed I. Philadelphia, Lea & Febiger, 1981, pp 12-121

MONTGOMERY, K. W. Equine ocular neoplasia: a review. **Equine Veterinary Education** 26.7: 372-380. 2014.

MURANO, E.A., J. A. HUDNALL. Media, reagents, and stains. In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4th edition. American Public Health Association, Washington. D.C. 2001.

ÖZGEN, L., ÖZGEN, G. Comparison of frozen section accuracy with final pathology results in early clinical stage of endometrioid type endometrial cancer. **The European Research Journal**, v. 9, n. 5, p. 1034-1039, 2023.

PEIFFER, R., WILCOCK, B., DUBIELZIG, R., RENDER, J. AND WHITELEY, H.E. Fundamentals of veterinary ophthalmic pathology. In: **Veterinary Ophthalmology**, 3rd edn., Ed: K.N. Gelatt, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. pp 355-426. 1999.

PRIESTER, William A.; MANTEL, Nathan. Occurrence of tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian colleges of veterinary medicine. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 47, n. 6, p. 1333-1345, 1971.

PHILLIPS, J. C., LUIS M. L. Equine melanocytic tumors. **Veterinary Clinics: Equine practice** 29.3 (2013): 673-687.

PIGATTO, J. A. T., VARGAS, E. V. B. D., TORIKACHVILI, M., ALBUQUERQUE, L., ANDRADE, M. C. C. D., SANTOS, E. O. D., & DRIEMEIER, D. Conjunctival melanoma in a horse treated by tumor resection and cryotherapy. **Acta scientiae veterinariae**. Porto Alegre, RS. Vol. 46, suppl. 1 (2018), Pub. 258, 4 p., 2017.

PIGATTO, J. A. T., DE ALBUQUERQUE, L., HÜNNING, P. S., NÓBREGA, F., & DE SOUZA LEAL, J. Squamous cell carcinoma in the third eyelid of a horse. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 1, p. 1-5, 2011.

SILVA, A. G.; FURR, M. O. Diagnoses, clinical pathology findings, and treatment outcome of geriatric horses: 345 cases (2006–2010). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 12, p. 1762-1768, 2013.

VALENTINE, B. A. Equine cutaneous non-neoplastic nodular and proliferative lesions in the Pacific Northwest. **Veterinary dermatology**, v. 16, n. 6, p. 425-428, 2005.

SUNDBERG, J. P., BURNSTEIN, T., PAGE, E. H., KIRKHAM, W. W., & ROBINSON, F. R.. Neoplasms of equidae. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 2, p. 150-152, 1977.

SIRONI, G., RICCABONI, P., MERTEL, L., CAMMARATA, G., & BROOKS, D. E. p53 protein expression in conjunctival squamous cell carcinomas of domestic animals. **Veterinary ophthalmology**, v. 2, n. 4, p. 227-231, 1999.

SCHNOKE, A. T., BROOKS, D. E., WILKIE, D. A., DWYER, A. E., MATTHEWS, A. G., GILGER, B. C. Extraocular lymphoma in the horse. **Veterinary Ophthalmology**, v. 16, n. 1, p. 35-42, 2013.

TEIFKE, J. P., AND C. V. LÖHR. Immunohistochemical detection of P53 overexpression in paraffin wax-embedded squamous cell carcinomas of cattle, horses, cats and dogs. **Journal of Comparative Pathology**. 114.2. 205-210. 1996

TÍBA, C.;LEAL, S.S; CAMPOS, M.H. Radiação solar UV máxima mensal para o estado de Pernambuco. **Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente**, v. 15, 2011.

WANG, K. G., CHEN, T. C., WANG, T. Y., YANG, Y. C., & SU, T. H. Accuracy of frozen section diagnosis in gynecology. **Gynecologic oncology**, v. 70, n. 1, p. 105-110, 1998.

WHITEHAIR, J G; GRIFFEY, S M; OLANDER, H J; VASSEUR, P B & NAYDAN, D. The accuracy of intraoperative diagnoses based on examination of frozen sections. A prospective comparison with paraffin-embedded sections. **Veterinary Surgery**: 22, 4. 255-259, 1993.