

Avaliação de margens cirúrgicas e recorrência local do carcinoma de célula escamosa oral de felino

Marcel Vasconcellos^{1*} & Victor Senna Diniz²

¹Zootecnista e Médico Veterinário Pós Graduado em Oncologia Veterinária. Pós-Graduado em Oncologia Veterinária, Mestrando em Ciências Cirúrgicas pela UFRJ e bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES/MEC.

²Aluno do Curso de Graduação em Medicina da UFRJ e bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq).

*Autor para correspondência: E-mail: marcelvasconcellos@yahoo.com.br

RESUMO. Quando o carcinoma de células escamosas orais (CCEO) apresenta recorrência em margens cirúrgicas histologicamente comprometidas, podemos facilmente explicá-la pela permanência de resíduos tumorais. Entretanto no caso de margens livres, sua progressão parece estar relacionada a presença de células geneticamente modificadas adjacentes ao tumor primário. Os diferentes métodos utilizados na avaliação das margens cirúrgicas, não são perfeitos ou isentos de limitações. Em Medicina Veterinária a análise histológica por congelamento intra-operatória, ainda apresenta restrições técnicas e econômicas limitando sua utilização. Estudos moleculares demonstram potencial para contribuir com um melhor prognóstico através da caracterização de um perfil gênico que permita uma avaliação de risco acurada. Este artigo revisa os métodos de análise de margens cirúrgicas, ressaltando a importância de modelos felinos na compreensão da biologia molecular do carcinoma oral humano.

Palavras-chave: Carcinoma de células escamosas oral, exame histopatológico, análise molecular, felinos

Evaluation of surgical border and local recurrence in oral squamous cell carcinoma in feline

ABSTRACT. The recurrence of oral squamous cell carcinoma (OSCC) in compromised surgical border can be easily explained by the persistence of residual tumor. However, when the surgical borders are not compromised, the progression may be related to the presence of adjacent genetically modified cells generated by the primary tumor. The different methods used in the evaluation of surgical borders are not perfect and have limitations. In veterinary medicine, histological analysis by intraoperative frozen still has technical and economic restrictions limiting their use. Molecular studies demonstrate the potential contribution to a better prognosis through the characterization of a gene profile that allows a more accurate risk. This article reviews the methods of analysis of surgical borders, highlighting the importance of feline models to understand the molecular biology of human oral carcinoma.

Keywords: oral squamous cell carcinoma, histopathology, molecular analysis, feline

Introdução

O carcinoma de células escamosas orais (CCEO) representa um grande desafio para a Medicina. Em virtude de suas características clínicas de progressão e comportamento biológico similares ao homem, os felinos são considerados um importante modelo de estudo (Wolf, 2012; Wypij, 2013).

A principal causa de óbito deve-se a recorrência tumoral após tratamento cirúrgico, cuja progressão pode ocorrer num período de semanas a poucos meses (Marconato et al., 2013). Ressecções incompletas incluindo um pequeno número de células tumorais residuais indetectáveis ao exame histopatológico de rotina proliferam, formando a base do câncer recorrente. (Tabor et al., 2004. Braakhuis et al.,

2010). A recidiva loco-regional e sobrevida global dos pacientes relacionam-se diretamente ao status da margem cirúrgica, demonstrando a importância da ressecção completa do CCEO (Black et al., 2006).

Slootweg et al. (2002), em estudo com 207 (duzentos e sete) pacientes humanos aduziram que embora existam células tumorais nas margens cirúrgicas que evitem a detecção histológica, o seu impacto clínico parece ser quase insignificante. Neste estudo recorrências locais foram raras em pacientes com diagnóstico histopatológico de margens livres.

No caso da remoção completa do tumor, a fonte da recorrência pode estar relacionada a um campo geneticamente alterado. Deste modo, o diagnóstico e tratamento de tumores epiteliais não devem ser focados apenas no tumor, mas no campo a partir do qual se desenvolveu. (Torezan & Festa Neto, 2013) O conceito de um lócus pré-neoplásico adjacente a tumores orais, cujas alterações genéticas precedam alterações histológicas, tem sido investigado por análise molecular de margens cirúrgicas. A viabilização desta análise durante o procedimento cirúrgico poderá auxiliar o cirurgião na delimitação da extensão da ressecção, além de orientar o planejamento de terapia adjuvante (Carvalho et al., 2012)

Desenvolvimento

O diagnóstico definitivo do CCEO é obtido através de exame histopatológico. Regan et al. (2013), em estudo retrospectivo sobre o impacto de uma segunda avaliação histopatológica com 53 (cinquenta e três) cães e gatos, relatou que as principais divergências que poderiam afetar o tratamento estavam presentes em 37% dos casos, demonstrando importância de uma revisão histopatológica ao evitar-se custos e procedimentos desnecessários.

Em relação aos sistemas de classificação e gradação histopatológica no CCEO, não existe consenso sobre qual sistema teria maior poder preditivo e mais adequado para avaliar esta neoplasia, dada a baixa correlação observada entre grau histológico, estadiamento e desfecho clínico da doença. A validação dessas gradações deve ser examinada através da aplicação das atuais classificações em estudos que delimitem amostras por sítios anatômicos específicos e pela terapêutica empregada nos pacientes, diminuindo, assim, possíveis vieses provenientes

da localização anatômica dos tumores (Lourenço et al., 2007)

A gradação histopatológica do CCEO é baseada na classificação clínica TNM (tumor, nódulo e metástase) da Organização Mundial da Saúde – *World Health Organization*(WHO). Este sistema considera que tumores pequenos sem propagação clínica têm melhor prognóstico do que tumores maiores com metástases. No entanto, alguns tumores com o mesmo estadiamento clínico, mostram diferentes padrões de crescimento e comportamento o que dificulta a descrição de um prognóstico com base apenas no seu estágio clínico (Sharma et al., 2013).

A determinação da presença e extensão do envolvimento ósseo no CCEO assume importância por definir o estadiamento e a estratégia terapêutica a ser utilizada. Ao estudar a eficácia das técnicas radiográficas convencionais *versus* tomografia computadorizada (TC) no diagnóstico da invasão de estruturas adjacentes (partes moles) aos tumores orais, Ghielli et al. (2013), relataram uma eficácia de 95,2% da TC e de 30% para o exame radiológico convencional. Especificamente para as alterações ósseas, a eficácia foi de 89,9% para radiografias e 95,2% para TC. O estudo sugeriu a realização de exames tomográficos para casos de tumores orais com suspeita de invasão por contigüidade.

Apesar do CCEO ainda gerar controvérsia sobre qual a melhor opção para seu tratamento, a ressecção cirúrgica é considerada como modalidade terapêutica eletiva devendo considerar aspectos funcionais, estéticos e oncológicos (DiBernardi et al., 2007).

A base da terapia é o controle local e devido a grande maioria dos cães ou gatos encontrarem-se em estádios avançados no momento do diagnóstico, a ressecção cirúrgica no CCEO é paliativa, com tempo médio de sobrevida variável entre cinco e doze meses (Wypij, 2013)

Diversos trabalhos relatam tempo médio de sobrevida, taxa de sobrevida global, tempo livre de progressão da doença e fatores associados à qualidade de vida dos pacientes submetidos a cirurgias orais, entre estes, Bradley et al. (1984) realizaram a mandibulectomia em cinco gatos acometidos por CCEO, os quais apresentaram recorrência local dentro de oito meses; Lascelles et al. (2004) procederam em dois gatos com CCEO a maxilectomia rostral e em ambos os

casos obtiveram margens completas, não havendo recidivas no período de seguimento entre onze a sessenta e seis meses; Northrup et al. (2006) relataram a sobrevida de quarenta e dois gatos submetidos a mandibulectomia para o tratamento de neoplasias orais, entre estas o CCEO, entre um e dois anos de 49 a 57%.

As variações observadas quanto ao tempo de recorrência local nos trabalhos descritos podem estar relacionadas, entre outras causas, à localização do tumor primário. Tumores localizados rostralmente na cavidade oral apresentam melhor prognósticos que os de localização caudal. Ademais, em alguns estudos, outros tipos tumorais de menor agressividade biológicas e melhor prognósticos foram incluídos, influenciando estes resultados.

A mandibulectomia segmentar ou hemimandibulectomia é recomendada em casos de invasão tumoral grosseira na mandíbula. Quando a invasão óssea é mínima ou ocorre apenas acometimento periosteal, a indicação de ressecção marginal apresenta controle satisfatório e tão eficaz quanto a ressecção segmentar. (Song & Har, 2003; Wolff, Hassfed & Hofele, 2004).

Após a ressecção tumoral, a avaliação das margens cirúrgicas é fundamental para o estabelecimento de um prognóstico e orientação de terapia adjuvante. Atualmente, a histopatologia é considerada o padrão ouro para a avaliação das margens cirúrgicas. A principal desvantagem do método é o desconhecimento da dimensão completa da excisão no momento da cirurgia. (Liptak, 2013).

Kopke et al. (2005) acrescentaram que muitos laudos histopatológicos não informam se as bordas foram de fato marcadas, e considerando uma rotina padronizada pré-estabelecida pelo laboratório, somente um número reduzido de cortes e tipo de incidência são realizados. No caso de tumores infiltrativos como CCEO, a visão do patologista pode ser limitada. Os autores descreveram que métodos padronizados em laboratórios de anatomia patológica para análise de margens de peças cirúrgicas examinam geralmente menos de 0,01% da margem cirúrgica total, enfatizando a necessidade de instrução expressa por parte do cirurgião, de uma verificação detalhada.

A obtenção de margens cirúrgicas adequadas depende de fatores tais como limitações

anatômicas para ressecção, barreiras naturais de crescimento tumoral e padrões de crescimento e comportamento biológico diverso dos tumores. Aspectos técnicos relacionados com a avaliação histológica das margens como erro de amostragem, orientação dos cortes, e encolhimento do tecido no processamento, além da comunicação adequada entre cirurgiões e patologistas, também demonstram influência. (Wolf, 2012)

Margens adequadas podem ser órgão ou tumor específicas, e em estudo sobre o significado prognóstico da margem cirúrgica para o tempo de recorrência local, Sittitrai et al. (2013) confirmaram margem inferior a 5 mm como fator de risco no carcinoma de língua. Entre os fatores preditivos significativos para o CCEO recorrente local, os autores citaram status da margem cirúrgica, espessura do tumor, invasão perivascular e perilinfática.

Com o intuito de obter o conhecimento da margem cirúrgica no momento da ressecção tumoral, a técnica histopatológica por congelamento foi desenvolvida, sendo um procedimento amplamente conhecido e utilizado em medicina humana. Cortes de tecido congelado e corado com hematoxilina-eosina (H.E) são obtidos durante o ato cirúrgico. Esta técnica apresenta taxas de re-excisão de 5-10% após a avaliação intra-operatória, portanto, melhores que a técnica histopatológica convencional (Liptak, 2013)

A taxa de recidiva local no CCEO (10-30%) abrange pacientes com diagnóstico histológico de margens livres. No ser humano, recorrência local é definida de acordo com critérios clínicos tais como a ocorrência de outro tumor dentro de três anos e a menos de 2 cm de distância do carcinoma primário (Eckart et al., 2004, Tabor et al., 2004, Dakubo et al., 2007, Braakhuis et al., 2010, Carvalho et al., 2012)

Na histologia por congelamento são feitos cortes de 4 mm em todas as margens. A margem de fundo é investigada em uma ou mais seções centrais do tumor. Segue-se a mensuração da distância do tumor às margens profundas ou mucosas. Existe um relativo consenso desta distância e denomina-se de margens livres a distância superior a 5 mm entre o carcinoma e a margem. A denominação margem comprometida define a ausência do câncer a 1 mm da margem ou dentro da mesma. A relação entre as margens comprometidas a um pior prognóstico não

apresenta, no entanto, unanimidade entre pesquisadores (Braakhuuis et al., 2010).

O procedimento da histologia por congelamento é realizado em áreas selecionadas, sendo que as margens específicas relatadas pelo cirurgião são examinadas. No entanto, em virtude de seu elevado custo, toda a extensão da margem não é avaliada. A precisão do diagnóstico de congelamento para o diagnóstico final é superior a 90%. (Francisco et al., 2014)

Black et al. (2006), em estudo sobre avaliação crítica de margens de congelamento, sugeriram que esta varia muito entre as instituições e até mesmo dentro das instituições entre diferentes cirurgiões. Os resultados demonstraram não existir um método padronizado, havendo a necessidade de uma maior comunicação entre patologistas e cirurgiões.

Em relação à medicina veterinária, fatores como a ausência de instalações adequadas e equipamentos, além da presença de um patologista experiente no local para a avaliação intra-operatória, mostram-se inviáveis seu uso para a grande maioria das clínicas e hospitais veterinários. Entretanto, é importante conhecer as limitações da avaliação histopatológica convencional (Liptak, 2013)

Carvalho et al. (2012) citaram que a análise histológica das margens cirúrgicas avalia a mucosa oral, porém não detecta alterações moleculares que envolvam mudanças fenotípicas nas células envolvidas no processo de tumorigênese.

Em 1953, Slaughter introduzia o conceito de campo de cancerização ao constatar a presença de múltiplos tumores “independentes” e epitélio anormal adjacente ao tumor primário. Os estudos atuais sobre análise molecular de margens cirúrgicas baseiam-se neste conceito (Perez-Ordoñez et al., 2006, Jaiswal et al., 2013).

Tabor et al. (2004), Braakhuuis et al. (2010) corroboram com a hipótese de um campo de células pré-neoplásicas residuais, cujas alterações genéticas adicionais promoveriam o câncer invasivo. É amplamente aceito que um acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas em oncogenes e genes supressores tumorais formam a base para a progressão de uma célula normal para uma célula cancerosa. As células do CCEO são geneticamente instáveis e exibem extensas alterações cromossômicas, que aumentam em

número à medida que a doença progride. (Boundewijn et al., 2005).

Em um trabalho sobre o significado clínico das alterações moleculares em margens cirúrgicas histologicamente negativas, Carvalho et al. (2012) puderam demonstrar a sobre-expressão gênica relacionada a estas margens. Ao utilizarem o método de quantificação da expressão gênica em tempo real (RT-PCR), puderam avaliar sua utilidade na identificação dos pacientes com maiores riscos de recorrência local ou desenvolvimento de tumores primários.

Black et al (2006) citaram que métodos moleculares, tais como a reação em cadeia da polimerase (PCR) para mutações genéticas específicas, como o *p53*, baseiam-se na detecção da mutação em tecido marginal possibilitando a identificação de pacientes com alto risco de recorrência. Aventaram que estudos moleculares devem ser acompanhados com parâmetros de risco histológicos mais rigorosos, tais como padrão de invasão e invasão perineural, que justifiquem seu custo benéfico.

Alterações moleculares na frente invasiva dos tumores orais humanos foram documentadas por Sharma et al. (2013). Estas células exibiram um menor grau de diferenciação e um maior grau de dissociação celular em relação à parte central e superficial, o que, presumivelmente, demonstra que clones celulares mais agressivos residam neste local. Tumores recorrentes nesta localização são importantes preditores de mau prognóstico.

Em um estudo sobre a expressão do biomarcador epitelial E-caderina e do marcador mesenquimal MMP-9 em margens cirúrgicas histologicamente negativas, ambos demonstraram sua utilidade na detecção da ausência ou presença de células residuais mínimas indetectáveis ao exame histopatológico convencional. O biomarcador E-caderina demonstrou ser um importante preditor de risco de uma nova evolução neoplásica do CCEO (Mohtasham et al., 2014)

Dakubo et al. (2007) citaram que o uso de técnicas moleculares podem diminuir a taxa de recorrência local, porém sem impedir que novos campos geneticamente alterados se desenvolvam. Acrescentaram que a falta de extensos estudos genômicos ainda representam uma lacuna neste conceito de campo. Corroborando com estas observações, Wolf (2012) reiterou a importância

de se realizarem estudos moleculares em modelos felinos de ocorrência espontânea por poderem caracterizar vias gênicas alteradas, identificando e validando funcionalmente potenciais alvos terapêuticos.

Em um estudo utilizando espectroscopia de fluorescência como ferramenta auxiliar na delimitação de margens cirúrgicas, Francisco et al. (2014) relataram a necessidade do desenvolvimento de novas abordagens na detecção do campo de cancerização. Os resultados demonstraram o potencial da técnica para detectar alterações teciduais. Concluem os autores que por ser um método não-invasivo, a espectroscopia de fluorescência deve ser investigada em um número maior de pacientes.

Conclusão

Por apresentar baixa correlação entre grau histológico, estadiamento e desfecho clínico, a maioria dos estudos em CCEO apresenta vieses provenientes da localização tumoral. Destarte, são necessários estudos com delimitações das amostras por sítios anatômicos específicos e pela terapêutica empregada.

Considerando a hipótese amplamente aceita de que neoplasias epiteliais apresentam um lócus pré-neoplásico adjacente ao tumor primário, margens cirúrgicas histológica e geneticamente livres poderão ser obtidas através da análise molecular intra-operatória das margens cirúrgicas como rotina em centros cirúrgicos oncológicos, não desconsiderando fatores estéticos e funcionais fundamentais.

A caracterização de um perfil gênico das mutações ocorridas no CCEO encontra-se em fase de validação, sugerindo que estudos moleculares acompanhados por parâmetros de risco histológicos rigorosos tais como padrão de invasão e invasão perineural, assim como a utilização de modelos felinos de ocorrência espontânea da doença sejam investigados. A complexidade desta tarefa é bem demonstrada por Mountzios et al. (2014) ao conceituarem o câncer de células escamosas de cabeça e pescoço como uma entidade heterogênea, com vários fatores etiológicos envolvidos na gênese de subconjuntos moleculares distintos de tumores, os quais exibem comportamento clínico e biológico diferentes.

Tais esforços se justificam, pois muito embora a compreensão da biologia molecular do câncer tenha avançado significativamente nas últimas

décadas, não se observa no carcinoma oral correspondente aplicação clínica.

Referências

- Boundewijn, J.M. et al. Second Field Tumors: A New Opportunity for Cancer Prevention?. *The Oncologist*. 2005, 10:493-500. Disponível em: <<http://theoncologist.alphamedpress.org/content/10/7/493.full.pdf>>. Acesso em: 7 mar. 2014. doi: 10.1634/theoncologist.10-7-493.
- Black, C. et al. Critical evaluation of frozen section margins in head and neck cancer resections. *Cancer*. 2006, Dec 15; 107(12):2792-800. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ncr.22347/full>>. Acesso em 24 mar. 2014.
- Braakhuis, B. J. et al. Molecular analysis of surgical margins in head and neck cancer: more than a marginal issue. *Oral Oncology*. 2010, July;46(7):485-91. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837510000321>>. Acesso em: 10 mar. 2014. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.01.019.
- Bradley, R. L. et al. Mandibular resection for removal of oral tumors in 30 dogs and 6 cats. *J Am Vet Med Assoc*. 1984, Feb 15;184(4):460-3. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- Carvalho, A. C. et al. Clinical significance of molecular alterations in histologically negative surgical margins of head and neck cancer patients. *Oral Oncology*, v. 48, n.3, p.240-248, Mar 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837511008785>>. Acesso em: 6 mar. 2014. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.10.018.
- Dakubo, G. D. et al. Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer Cell International*. 2007, 7:2. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1838897/>>. Acesso em: 4 mar. 2014. doi: 10.1186/1475-2867-7-2.
- DiBernardi, L. et al. Study of feline oral squamous cell carcinoma: potential target for cyclooxygenase inhibitor treatment prostaglandins. *Leukot Essent Fatty Acids*. 2007. Apr; 76(4):245-50. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article>

- /pii/S0952327807000233>. Acesso em 6 mar. 2014. doi:10.1186/1475-2867-7-2.
- Eckart, E. et al. Recurrent carcinoma of the head and neck: treatment strategies and survival analysis in a 20-year period. *Oral Oncology*, 40(4) (2004), pp 427-432. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837503002173>>. Acesso em: 10 mar. 2014. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2003.09.019>.
- Francisco, A. L. et al. Analysis of surgical margins in oral cancer using in situ fluorescence spectroscopy. *Oral Oncology*. 2014 Mar 13. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136883751400044X?via=ihub>>. Acesso 24mar. 2014. doi:10.1016/j.oraloncology.2014.02.008.
- Ghirelli, C. O. et al. Comparison of standard radiography and computed tomography in 21 dogs with maxillary masses. *Journal Veterinary Dental*. 2013, 30(2):72-6. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- Jaiswal, G. et al. Field cancerization: concept and clinical implications in head and neck squamous cell carcinoma. *Journal Experimental Ther Oncology*, 2013; 10(3):209-14. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- Kopke, L. F. F. et al. Margem de segurança: um conceito antigo e relativo. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v.80, n. 3, jun. 2005. Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S036505962005000300009&script=sci_arttext>. Acesso em: 10 abr. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962005000300009>.
- Lascelles, B. D. et al. Bilateral rostral maxillectomy and nasal planectomy for large rostral maxillofacial neoplasms in six dogs and one cat. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2004; Mar-Apr; 40(2):137-46. Disponível em: <<http://www.jaaha.org/content/40/2/137.long>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- Lourenço, S. Q. C. et al. Classificações histopatológicas para o carcinoma de células escamosas da cavidade oral. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2007: 53(3) 325-333. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_53/v03/pdf/revisao3.pdf>. Acesso em: 4 mar. 2014.
- Liptak, J. The future for surgical margins. *J Small Anim Pract*. 2013, Nov;54(11):563. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jsap.12145/full>>. Acesso em: 11 mar. 2014. doi:10.1111/jsap.12145.
- Marconato, L. et al. Multimodal therapeutic approach and interdisciplinary challenge for the treatment of unresectable head and neck squamous cell carcinoma in six cats: a pilot study. *Vet Comp Oncol*. 2013 June; 11(2):101-12. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Acesso em: 10 mar. 2014. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00304.x.
- Mohtasham, N. et al. Expression of E-cadherin and matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma and histologically negative surgical margins and association with clinicopathological parameters. *Rom J Morphol Embryol*, 2014;55(1):117-21. Disponível em: <<http://www.rjme.ro/RJME/resources/files/550114117121.pdf>>. Acesso em 18 abr. 2014.
- Moutzios, G. et al. The mutational spectrum of squamous-cell carcinoma of the head and neck: Targetable genetic events and clinical impact. *Annales of Oncology*. 2014. Apr. 8. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24718888>>. Acesso em: 17 abr. 2014.
- Northrup, N. C. et al. Outcomes of cats with oral tumors treated with mandibulectomy: 42 cases. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2006 Sept-Oct; 42(5):350-60. Disponível em: <<http://www.jaaha.org/content/42/5/350.full.pdf+html>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- Perez-Ordoñez, B. et al. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol*. May 1, 2006. 59:445-453. Disponível em <<http://jcp.bmjournals.com/content/59/5/445.full.pdf+html>>. Acesso em: 7 mar. 2014. doi:10.1136/jcp.2003.007641.
- Regan, R. C. et al. A prospective evaluation of the impact of second-opinion histopathology on diagnostic testing, cost and treatment in dogs and cats with cancer. *Vet Comp Oncol*.

- 2013, Feb 19. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Acesso em: 10 mar. 2014. doi:10.1111/vco.12023.
- Torezan, L. A.; Festa Neto, C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological, and therapeutics aspects. *An Bras Dermatol.* 2013. Sept-Oct, 88(5):775-86. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3798355/>>. Acesso em: 4 mar. 2014. doi: 10.1590/abd1806-4841.20132300.
- Sharma, M. et al. Molecular changes in invasive front of oral cancer. *J. Oral Maxillofac Pathol.* 2013 May; 17(2):240-247. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3830234/>> Acesso em: 4 mar. 2014. doi:10.4103/0973-029X.119740.
- Sittitrai, P. et al. Impact of clinical and Histopathological prognostic factors on T1-2N0-1 oral tongue carcinoma. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* Jan 2013; 65(1): 66-70. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3585553/>>. Acesso em: 5 mar. 2014. doi:10.1007/s12070-012-0605-7.
- Song, C. S.; Har-el, G. Marginal mandibulectomy: Oncologic and nononcologic outcome. *Am J Otolaryngol.* 2003 Jan-Feb; 24(1):61-3. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196070902324165>>. Acesso em: 6 mar. 2014.
- Slootweg, P. J. et al. Treatment failure and margin status in head and neck cancer. A critical view on the potential value of molecular pathology. *Oral Oncology.* v. 38, 5 July 2002, p. 500-50. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837501000926>>. Acesso em: 10 mar. 2014. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1368-8375\(01\)00092-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1368-8375(01)00092-6).
- Tabor, M. P. et al. Genetically altered fields as origin of locally recurrent head and neck cancer: a retrospective study. *Clin Cancer Res.* 2004 June 1, 10(11):3607-13. Disponível em: <<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/10/11/3607.long>>. Acesso em: 4 mar. 2014. doi:10.1158/1078-0432.CCR-03-0632.
- Wolf, G. T. Surgical Margins in the Genomic Era: The Hayes Martin Lecture, 2012. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012, 138(11):1001-13. Disponível em: <<http://archotol.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1392517>>. Acesso em: 6 mar. 2014. doi:10.1001/2013.jamaoto.82.
- Wolff, D. et al. Influence of marginal and segmental mandibular resection on the survival rate in patients with squamous cell carcinoma of the inferior parts of the oral cavity. *J Craniomaxillofac Surg.* 2004 Oct; 32(5):318-23. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1010518204000861>>. Acesso em: 6 mar. 2014.
- Wypij, J. M. A naturally occurring feline model of head and neck squamous cell carcinoma. *Patholog Res Int.* 2013, 2013:502197. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3730145/>>. Acesso em: 4 mar. 2014. doi: 10.1155/2013/502197.

Recebido em Agosto 22, 2014:

Aceito em Dezembro 30, 2014.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited