

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**SARCOMAS NASOSSINUSAIS EM CÃES: SISTEMAS DE GRADUAÇÃO E
INDÍCES PROLIFERATIVOS**

EMANOELLY MACHADO SOUSA DA SILVA

PORTO ALEGRE

2024

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**SARCOMAS NASOSSINUSAIS EM CÃES: SISTEMAS DE GRADUAÇÃO E
INDÍCES PROLIFERATIVOS**

Autor: Emanoelly Machado Sousa da Silva

**Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências Veterinárias na área de Patologia
Animal e Patologia Clínica.**

Orientador: Prof.^a Dra. Luciana Sonne

PORTO ALEGRE

2024

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

CIP - Catalogação na Publicação

Machado Sousa da Silva, Emanoelly
SARCOMAS NASOSSINUSAIS EM CÃES: SISTEMAS DE
GRADUAÇÃO E INDÍCES PROLIFERATIVOS / Emanoelly Machado
Sousa da Silva. -- 2024.
46 f.
Orientador: Luciana Sonne.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2024.

1. Cão. 2. Nasal. 3. Sarcoma. 4. Ciclina D1. 5.
Ki-67. I. Sonne, Luciana, orient. II. Título.

EMANOELLY MACHADO SOUSA DA SILVA

SARCOMAS NASOSSINUSAIS EM CÃES: SISTEMAS DE GRADUAÇÃO E INDÍCES
PROLIFERATIVOS

Aprovado em Porto Alegre, 23 de fevereiro de 2024.

APROVADO POR:

Prof.^a Dra. Luciana Sonne

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr.^a Renée Laufer Amorim

Membro da comissão externa

Prof. Dr. Eduardo Conceição de Oliveira

Membro da comissão externa

Prof. Dr. Saulo Pettinati Pavarini

Membro da comissão interna

RESUMO

A cavidade nasal e os seios paranasais são compostos por diferentes tecidos que podem dar origem a diversos tipos de neoplasias, incluindo sarcomas. Estudos que avaliam critérios de classificação histológica e, imuno-histoquímica de sarcomas nasossinusais são escassos. Assim, o objetivo deste trabalho é descrever as características patológicas dos sarcomas nasossinusais em cães, além de submetê-los aos sistemas de classificação já descritos na literatura e verificar o índice proliferativo através de Ki-67 e Ciclina D1. Foi realizado um estudo retrospectivo do banco de dados de biópsias e necropsias e durante período de 2006 a 2022, 148 cães foram diagnosticados com tumores nasais. Destes, 39 (26,3%) tiveram o diagnóstico de sarcoma nasal agrupados em 15 casos de neoplasmas fusocelulares (8/15 fibrossarcoma, 3/15 sarcoma indiferenciado, 2/15 hemangiossarcoma, 1/15 mixossarcoma e 1/15 leiomiossarcoma), 12 casos de condrossarcoma nasal e 12 com osteossarcoma nasal. Destes, 53,9% eram machos e 46,1% fêmeas, com idade entre de 2 a 18 anos (média de 9 anos e mediana 10 anos). 53,8% dos cães eram sem raça definida e, nos casos de osteossarcoma nasal, houve predominância de raças de grande porte (7/12). Dados de sobrevida foram obtidos em 16/39 dos casos e variaram de 6 a 365 dias (média 115 dias e mediana 84 dias). Os tumores foram descritos com maior frequência na cavidade nasal (28/39) e dois casos nos seios paranasais. Os sinais clínicos mais frequentemente descritos foram deformidade nasal (20/39), epistaxe (17/39) e dispneia (10/39). Metástases representaram 10,2% dos casos, observadas em linfonodos mandibulares e inguinais superficiais nos casos de fibrossarcoma (2/15) e sarcoma indiferenciado (1/15), enquanto, um caso de osteossarcoma condroblástico houve envolvimento de múltiplos órgãos. Na análise estatística foi observado que quanto maior a contagem mitótica (P: <0,001) e imunomarcção para Ciclina (P: 0,023), menor era a sobrevida. Além disso, quanto maior a contagem mitótica, maior era o grau histológico (P: <0,001) e imunomarcção para Ciclina D1 (P: 0,035). Na comparação dos grupos, o número médio de figuras mitóticas foi mais frequente nos tumores fusocelulares (valor P: 0,012). Já o Ki-67 não apresentou significância nas análises estatísticas. Desse modo, esse estudo, descreveu achados patológicos de casos de sarcomas nasais em cães e demonstrou que a contagem mitótica, principalmente para tumores fusocelulares nasais e imunomarcção para Ciclina D1 podem auxiliar de maneira prognóstica.

Palavras-chave: cão, nasal, sarcoma, Ciclina D1, Ki-67.

ABSTRACT

The nasal cavity and paranasal sinuses are made up of different tissues that can give rise to different types of neoplasms, including sarcomas. Studies that evaluate histological and immunohistochemical classification criteria for sinonasal sarcomas are scarce. Thus, the objective of this work is to describe the pathological characteristics of sinonasal sarcomas in dogs, in addition to submitting them to the classification systems already described in the literature and verifying the proliferative index through Ki-67 and Cyclin D1. A retrospective study of the biopsy and necropsy database was carried out and during the period from 2006 to 2022, 148 dogs were diagnosed with nasal tumors. Of these, 39 (26.3%) were diagnosed with nasal sarcoma grouped into 15 cases of fusocellular neoplasms (8/15 fibrosarcoma, 3/15 undifferentiated sarcoma, 2/15 hemangiosarcoma, 1/15 myxosarcoma and 1/15 leiomyosarcoma), 12 cases of nasal chondrosarcoma and 12 with nasal osteosarcoma. Of these, 53.9% were males and 46.1% females, aged between 2 and 18 years (average of 9 years and median 10 years). 53.8% of dogs were mixed breed and, in cases of nasal osteosarcoma, there was a predominance of large breeds (7/12). Survival data were obtained in 16/39 cases and ranged from 6 to 365 days (mean 115 days and median 84 days). Tumors were most frequently described in the nasal cavity (28/39) and two cases in the paranasal sinuses. The most frequently described clinical signs were nasal deformity (20/39), epistaxis (17/39) and dyspnea (10/39). Metastases represented 10.2% of cases, observed in mandibular and superficial inguinal lymph nodes in cases of fibrosarcoma (2/15) and undifferentiated sarcoma (1/15), while in one case of chondroblastic osteosarcoma there was involvement of multiple organs. In the statistical analysis it was observed that the higher the mitotic count ($P: <0.001$) and immunostaining for Cyclin ($P: 0.023$), the lower the survival. Furthermore, the higher the mitotic count, the higher the histological grade ($P: <0.001$) and immunostaining for Cyclin D1 ($P: 0.035$). When comparing groups, the average number of mitotic figures was more frequent in spindle cell tumors (P value: 0.012). Ki-67 did not show significance in statistical analyses. Thus, this study described pathological findings of cases of nasal sarcomas in dogs and demonstrated that mitotic counts, especially for nasal spindle cell tumors, and immunostaining for Cyclin D1 can help prognosis.

Keywords: dog, nasal, sarcoma, Cyclin D1, Ki-67 index.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. ARTIGO.....	11
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	12
REFERÊNCIAS.....	13

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, estima-se que a população total de cães seja em torno de 58,1 milhões de animais, e o faturamento da indústria pet em 2023 gerou em torno de 46,42 bilhões, isso ocorre, devido ao aumento dos cuidados sanitários com os animais de estimação e consequente aumento da expectativa de vida dos pacientes (Inoue *et al.* 2015; ABINPET, 2023a, 2023b). Dessa forma, desordens crônicas como doenças neoplásicas são mais frequentemente diagnosticadas nesses animais (Adams *et al.*, 2010; O'Neill *et al.*, 2013).

As neoplasias podem ser diagnosticadas em todos os sistemas orgânicos dos animais, mas nesse trabalho destaca-se as da cavidade e seios nasais de cães. A cavidade e os seios nasais são compostos por diversos tecidos que variam de acordo com a porção analisada como: cartilagem hialina, tecido conjuntivo denso, músculo liso e estriado, tecido ósseo da narina e septo nasal, artérias musculares pequenas, veias e vasos linfáticos. Todas essas estruturas são revestidas por epitélios que variam entre uma porção olfativa (células neurosensoriais), outra porção de epitélio escamoso estratificado queratinizado, que ocorrem principalmente no nariz, e posteriormente em estruturas internas é recoberto por um epitélio pseudoestratificado colunar ciliado juntamente com glândulas mistas (principalmente células caliciformes) (Liebich; Zengerling, 2019).

Um estudo internacional com uma população de 106.204 cães, demonstrou que as neoplasias foram detectadas em 70.966 animais, dos quais 61 (0,1%) apresentaram tumores nasais (Aupperle-Lellbach *et al.*, 2022). Já no Brasil, um estudo demonstrou dados semelhantes em uma população total de 16.854 cães, 49 (0,2%) animais apresentaram neoplasmas nasossinusais (Ricaldi *et al.*, 2020). Devido aos diversos tecidos observados na cavidade nasal e seios paranasais, diferentes tipos de neoplasias podem surgir nessa região (Madewell *et al.*, 1976). Dados demonstram que 82% dos tumores nasais são malignos, destes 60% são carcinomas, 33,7% são sarcomas e 6,3% são outros (linfoma, tumor venéreo transmissível, mastocitoma) (Madewell; Priester, 1976; Hayes; Wilson; Fraumeni, 1982; Patnaik, 1989; Theon; Madewell, 1993).

As causas de tumores nasais em cães ainda não são determinadas, porém, estudos baseados em humanos e roedores sugerem que fatores ambientais (pó de madeira, colas, adesivos e formaldeído) podem possuir potencial de risco (Luce *et al.*, 1993; Reif; Bruns; Lower, 1998; Cohn, 2019). Os tumores mesenquimais malignos (sarcomas) em cavidade nasal ocorrem com menor frequência em cães quando comparado aos carcinomas e possuem baixo poder metastático, porém alta infiltração de tecidos locais (Madewell; Priester, 1976; Patnaik, *et al.*, 1989; Ricaldi *et al.*, 2020). Esses sarcomas nasais são

classificados histologicamente, conforme seu tecido de origem em: condrossarcoma, osteossarcoma, fibrossarcoma, hemangiossarcoma, angioleiomiossarcoma, leiomiossarcoma, rabiomiossarcoma, mesenquimoma maligno, mixossarcoma, tumor de bainha de nervo periférico maligno e sarcoma indiferenciado (McGhie; Fitzgerald; Hosgood, 2015; Wilson, 2017). Além disso, o tempo de sobrevivência de cães com sarcomas nasais é menor quando comparado com carcinomas nasais e por isso, estudos avaliando critérios histológicos de graduação, imuno-histoquímicos e terapias alternativas são necessários para compreender melhor essas neoplasias e favorecer o aumento no tempo de sobrevivência dos pacientes (Patnaik, *et al.*, 1989; Sones *et al.*, 2013).

Na medicina veterinária são utilizados sistemas de graduação histológica de maneira prognóstica, pois o grau afeta diretamente a sobrevivência do paciente (Dennis *et al.*, 2011; Avallone *et al.*, 2021). Em sarcomas nasais em cães, a verificação da graduação histológica ainda não estabelecida devido esses tumores serem raros e difíceis de terem casos suficientes para montar sistema de graduação, entretanto, existem sistemas de graduação estabelecidos, mas pouco utilizados, para a avaliação de sarcomas fora da cavidade nasal, como por exemplo o sistema de graduação dos condrossarcomas apendicular em cães adaptado de humanos (Farese *et al.*, 2009). Além disso, há dois sistemas de graduação histológica para osteossarcoma em cães, denominados Loukopoulos e Kirpensteijn, nos quais, ambos autores avaliaram osteossarcomas de esqueleto apendicular e axial em cães, sendo que o primeiro verificou que osteossarcomas apendiculares são mais agressivos do que os axiais (Loukopoulos; Robinson, 2007; Kirpensteijn *et al.*, 2002). Outro sistema de graduação utilizado em cães é o de sarcoma de tecido mole que inclui, fibrossarcoma, mixossarcoma, tumores da bainha do nervo periférico, tumor parede perivascular, sarcoma pleomórfico indiferenciado, mesenquimoma maligno e sarcoma indiferenciado. Lipossarcoma, leiomiossarcoma e rabiomiossarcoma são excluídos inconsistentemente dessa classificação e em hemangiossarcoma esse sistema não se aplica (Dennis *et al.*, 2011; Avallone *et al.*, 2021). Entretanto, nenhum desses estudos avaliou especificamente esses subtipos tumorais na cavidade nasal, de modo que não foi possível verificar a importância da graduação nesses casos.

Ainda, na rotina diagnóstica utiliza-se marcadores de imuno-histoquímica para a caracterização de neoplasias, ou de maneira prognóstica com potencial de determinar um fator de risco da neoplasia ou uma terapia alternativa (Oldenhuis *et al.*, 2008; Rizk, *et al.*, 2019). Dentre os marcadores prognósticos utilizados destaca-se o Ki-67 que avalia

proliferação celular. O Ki-67 é uma proteína não histônica que está presente em diversas fases do ciclo celular (principalmente G1, S, G2 e mitose, exceto G0) e o aumento da sua expressão significa um prognóstico ruim (Duchrow, *et al.*, 1996; Gown, 2023). Em carcinomas nasais em cães, a alta expressão de Ki-67 já foi avaliada e foi associada a uma pior resposta ao tratamento e os cães tiveram tempo de sobrevida curto (mediana 113 dias) (Fu *et al.*, 2014).

Outro marcador prognóstico que desempenha um papel importante na proliferação celular é a Ciclina D1, este é codificado pelo gene *CCND1* e promove a passagem da fase G1-S estimulando o complexo CDK4/CDK6 (Graña; Reddy, 1995; Zamboni *et al.*, 2020). A ciclina D1 é bem descrita em humanos principalmente em melanoma, linfoma de células do manto, neoplasias de mama, pulmonares, de cólon, além de carcinoma espinocelular do pescoço (Kim; Diehl, 2009; Zamboni *et al.*, 2020). Ademais, estudos com osteossarcomas em humanos demonstrou que a expressão aumentada da ciclina D1 reduz a fase G1 do ciclo celular, levando à progressão para a fase S e duplicação do ácido desoxirribonucleico (DNA) (Sunters *et al.*, 1998; Alao, 2007; Wu *et al.*, 2017; Niculescu *et al.*, 2021). Em cães, a expressão da Ciclina D1 já foi relatada em casos de tumores de mama, carcinoma de células escamosas, plasmocitomas, hemangiossarcomas e melanoma oral e sua expressão um potencial prognóstico (Murakami *et al.*, 2000; Cangul *et al.*, 2002; Sfacteria *et al.*, 2003; Yonemaru *et al.*, 2007; Zamboni *et al.*, 2020).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar e correlacionar as características patológicas, submeter os sarcomas nasais em cães em sistemas de graduação e verificar os seus índices proliferativos de Ki-67 e Ciclina D1.

2. ARTIGO

Nesse item é apresentado o artigo intitulado “Sarcomas nasossinusais em cães: caracterização patológica, aplicação de sistemas de graduação e avaliação de índices proliferativos Ki-67 e Ciclina D1” a ser submetido ao periódico “Veterinary Pathology”.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as neoplasias da cavidade nasal e seios paranasais, os sarcomas são raros, foram observados 39 cães nesse estudo, em 16 anos de análise de dados. Destes, 21 eram machos e 18 era fêmeas, com idade entre (média de 9 anos e mediana de 10 anos). Foram identificados 15 casos de neoplasmas fusocelulares (fibrossarcoma, sarcoma indiferenciado, hemangiossarcoma, mixossarcoma e leiomiossarcoma), 12 casos de condrossarcoma nasal e 12 com osteossarcoma nasal. Cães sem raça definida apresentaram mais tumores nasais e em casos de osteossarcoma nasal houve predominância de raças de grande porte. Os tumores ocorreram com maior frequência na cavidade nasal e dois casos nos seios paranasais. Os sinais clínicos mais frequentemente descritos foram deformidade nasal, dispneia e epistaxe. Metástases foram observadas em um caso de osteossarcoma condroblástico em vários órgãos, incluindo pulmão, já fibrossarcoma e sarcoma indiferenciado foram mais em linfonodos em 3 casos. Dados de sobrevida foram obtidos apenas em 16 casos e variaram de 6 a 365 dias (média 115 dias e mediana 84 dias). Na análise estatística foi possível verificar que o número médio de figuras mitóticas foi mais frequente nos tumores fusocelulares em comparação com condrossarcoma e no osteossarcoma nasais. Ainda houve correlação negativa entre as variáveis sobrevida e anti-Ciclina também entre número médio de mitoses e dias de sobrevivência, além de correlação positiva entre o número médio de figuras mitóticas e as variáveis anti-Ciclina e grau histológico. Já o Ki-67 não apresentou significância nas análises estatísticas com relação a sobrevida. Desse modo, esse estudo, descreveu achados clínico patológicos de raros casos de sarcomas nasais em cães e demonstrou que a contagem mitótica, principalmente para tumores fusocelulares nasais e imunomarcção para Ciclina D1 podem contribuir de maneira prognóstica em casos de sarcomas nasais em cães.

REFERÊNCIAS

ABINPET. **Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação**. 2023. Disponível em: https://abinpet.org.br/wpcontent/uploads/2023/03/abinpet_folder_dados_mercado_2023_draft1_incompleto_web.pdf. Acesso em: 12 de setembro de 2023.

ABINPET. **Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação**. 2023. Disponível em: <https://abinpet.org.br/2023/05/apesar-de-gargalo-tributario-industria-pet-deve-faturar-r-464-bilhoes-em-2023-com-base-no-faturamento-do-1o-trimestre/#:~:text=A%20ind%C3%BAstria%20de%20produtos%20para,o%201%C2%BA%20trimestre%20de%202023>. Acesso em: Acesso em: 12 de setembro de 2023.

ADAMS, V. J. *et al.* Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. **J Small Anim Pract**, v. 51, n. 10, p. 512-524, 2010.

ALAO, J. P. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. **Mol Cancer**, v.6, n.24. p. 2, 2007.

AULER, F. A. B. **Estudo clínico-cirúrgico, tomográfico e imuno-histoquímico de cães com neoplasia intranasal tratados com rinotomia e quimioterapia**. 2015. 112 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2015.

AUPPERLE-LELLBACH, H. *et al.* Tumour Incidence in Dogs in Germany: a Retrospective Analysis of 109,616 Histopathological Diagnoses (2014-2019). **J Comp Pathol**, v. 198, p. 33-55, 2022.

AVALLONE G. *et al.* Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. **Vet Pathol**. v.58, n.5, p. 809-828. 2021.

- CANGUL, I. T. *et al.* Clinico-pathological aspects of canine cutaneous and mucocutaneous plasmacytomas. *Journal of veterinary medicine. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, v. 49, n.6, p. 307–312, 2002.
- COHN LA. Canine Nasal Disease: An Update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* v.50, n., p.359-374, 2020.
- DUCHROW, M *et al.* Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67. *Cell proliferation*, v. 29, n.1, p. 1-12, 1996.
- FARESE, J. P. *et al.* Biologic behavior and clinical outcome of 25 dogs with canine appendicular chondrosarcoma treated by amputation: a Veterinary Society of Surgical Oncology retrospective study. *Vet Surg*, v. 38, n.8, p. 914–919. 2009.
- FU, D. R. *et al.* Prognostic utility of apoptosis index, Ki-67 and surviving expression in dogs with nasal carcinoma treated with orthovoltage radiation therapy. *J Vet Med Sci*, v.76, n.11, p. 1505–1512, 2014.
- GRAÑA, X.; REDDY E.P. Cell cycle in mammalian cells: role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs). *Oncogene*, v.11, p. 211-219. 1995.
- GOWN, A.M. The Biomarker Ki-67: Promise, Potential, and Problems in Breast Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, v.31, n.7, p. 478-484. 2023.
- HAYES Jr, H. M.; WILSON, G. P.; FRAUMENI Jr, H. F. Carcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses in dogs: descriptive epidemiology. *Cornell Vet*, v.72, n.2, p. 168–179, 1982.
- INOUE, M. *et al.* A current life table and causes of death for insured dogs in Japan. *Prev Vet Med*, v. 120, n. 2, p. 210-218, 2015.

KIM, J. K.; DIEHL, J. A. Nuclear cyclin D1: an oncogenic driver in human cancer. **J Cell Physiol.** v.220, n.2, p. 292–296. 2009.

KIRPENSTEIJN, J. *et al.* Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. **Vet Pathol**, v.39, n.2, p. 240–246. 2002.

LIEBICH H-G.; ZENGERLING, G. **Respiratory system (apparatus respiratorius)**. In: H-G. LIEBICH. Veterinary histology of domestic mammals and birds. Textbook and Colour Atlas. 5th, Sheffield, United Kingdom, Publishing, p.239-244, 2019.

LOUKOPOULOS, P.; ROBINSON, W. F. Clinicopathological relevance of tumour grading in canine osteosarcoma. **J Comp Pathol**, v.136, n.1, p. 65–73, 2007.

LUCE D. *et al.* Sinonasal cancer and occupational exposure to formaldehyde and other substances. **Int J Cancer**, v.53, n.2, p.224-231, 1993.

MADEWELL, B. R., PRIESTER, W. A. *et al.* Neoplasms of the nasal passages and paranasal sinuses in domesticated animals as reported by 13 veterinary colleges. **Am J Vet Res**, v.37, p. 851–856, 1976.

MCGHIE, J. A.; FITZGERALD, L.; HOSGOOD, G. Angioleiomyosarcoma in the Nasal Vestibule of a Dog: Surgical Excision via a Modified Lateral Approach. **J Am Anim Hosp Assoc**, v.51. n.2, p. 130–135, 2015.

MURAKAMI, Y. *et al.* Immunohistochemical analysis of cyclin A, cyclin D1 and P53 in mammary tumors, squamous cell carcinomas and basal cell tumors of dogs and cats. **J Vet Med Sci**, v. 62, n.7, p. 743-50, 2000.

NICULESCU, S. A. *et al.* Immunoexpression of Ki67, p53 and cyclin D1 in osteosarcomas. **Rom J Morphol Embryol**, v.62, n.3, p. 743-750, 2021.

OLDENHUIS, C. N. *et al.* Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology. **Eur J Cancer**, v.44, n.7, p. 946–953, 2008.

- O'NEILL, D. G. *et al.* Longevity and mortality of owned dogs in England. **Vet J**, v. 198, n. 3, p. 638-643, 2013.
- PATNAIK, A. K. Canine sinonasal neoplasm: Clinicopathology study of 285 cases. **J Am Anim Hosp Assoc**, v.25, p. 103–114, 1989.
- REIF J. S.; BRUNS, C.; LOWER, K. S. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and exposure to environmental tobacco smoke in pet dogs. **Am J Epidemiol**, v. 147, n.5, p. 488–492, 1998.
- RICALDI, G. F. S. *et al.* Sinonasal neoplasms in 49 dogs: clinical, macroscopic, and histopathological aspects. **Pesq Vet Bras**, v.40, n.8, p. 621-629, 2020.
- RIZK, E. M. *et al.* Prognostic and Predictive Immunohistochemistry-Based Biomarkers in Cancer and Immunotherapy. **Hematol Oncol Clin North Am**, v.33, n.2, p.291–299, 2019.
- SFACTERIA, A. *et al.* Cyclin D1 expression in pre-cancerous and cancerous lesions of the canine mammary gland. **J Comp Pathol**, v.128, n.4, p. 245-51. 2003.
- SONES, E. *et al.* Survival times for canine intranasal sarcomas treated with radiation therapy: 86 cases (1996-2011). **Vet Radiol Ultrasound**, v.54, n.2, p. 194–201, 2013.
- SUNTERS, A. *et al.* Control of cell cycle gene expression in bone development and during c-Fos-induced osteosarcoma formation. **Dev Genet**, v. 22, n.4, p.386-397, 1998.
- THEON, A. P. *et al.* Megavoltage irradiation of neoplasms of the nasal and paranasal cavities in 77 dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v. 202, p. 1469–1475, 1993.
- WILSON D. W. **Tumors of the Respiratory Tract**. In: MEUTEN D. J. Tumors in Domestic Animals. 5 th, Ames, Iowa, John Wiley & Sons, p. 467-480, 2017.

WU, J. *et al.* Clinical significance of the phosphorylation of MAPK and protein expression of cyclin D1 in human osteosarcoma tissues. **Mol Med Rep**, v. 15, n.4, p.2303-2307, 2017.

YONEMARU, K. *et al.* The significance of p53 and retinoblastoma pathways in canine hemangiosarcoma. **J Vet Med Sci**, v.69, n.3, p. 271-278. 2007.

ZAMBONI, C. *et al.* Cyclin D1 immunohistochemical expression and somatic mutations in canine oral melanoma. **Vet Comp Oncol**, v. 18, n.2, p. 231-238. 2020.