

# **Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia**

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

## **Tumores mamários em cadelas**

Joana Isabel Simões Silva

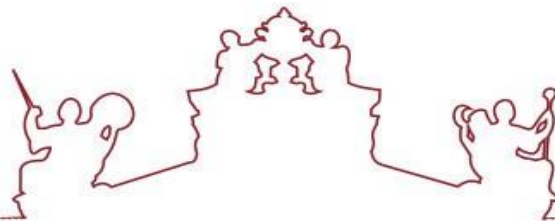
Orientador(es) | Maria Teresa Oliveira

Joana Reis

Karla Menezes Cardoso

Évora 2021





# Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

## Tumores mamários em cadelas

Joana Isabel Simões Silva

Orientador(es) | Maria Teresa Oliveira

Joana Reis

Karla Menezes Cardoso

Évora 2021



## Agradecimentos

Ao longo deste percurso cruzei-me com pessoas incríveis sem as quais não seria possível ter chegado aqui.

A toda a equipa do Hospital Veterinário e Universitário de Coimbra, por toda a paciência, apoio, disponibilidade e partilha de conhecimentos. Obrigada por me ajudarem a crescer, tanto a nível pessoal como profissional.

À minha orientadora externa, a Mestre Karla Cardoso, por me ter acompanhado sempre ao longo de todo o estágio e ajudado a delinear e desenvolver este trabalho. Obrigada pela amizade e disponibilidade em todos os momentos.

À minha orientadora interna, Professora Joana Reis, por ter aceitado orientar o meu trabalho e pela prontidão de resposta sempre que surgiam dúvidas ou dificuldades.

À minha mãe, sem a qual nada disto seria possível. És o meu modelo de mulher pela tua força, coragem e resiliência. Obrigada por me teres incentivado e acompanhado em todas as etapas da minha vida.

Ao meu namorado, por todos estes anos de amor e companheirismo. Obrigada por estares presente em todos os momentos e seres um pilar na minha vida.

À melhor colega de quarto e amiga que me acompanhou em todo este percurso. Obrigada por todos os momentos inesquecíveis que vou guardar para sempre.

A toda a minha família e amigos por estarem sempre presentes em todos os momentos importantes e por me incentivarem a dar sempre o meu melhor.

## Resumo

As neoplasias mamárias constituem as neoplasias mais comuns em cadelas não esterilizadas. Na bibliografia publicada é possível identificar uma relação entre a presença de determinados fatores individuais e o aparecimento destas neofomações. Uma abordagem correta e completa a esta patologia inclui um estadiamento tumoral seguido da elaboração de um plano terapêutico individual e personalizado para cada paciente.

A presente dissertação contém uma revisão bibliográfica sobre tumores mamários em cadelas bem como um estudo epidemiológico sobre o tema onde os objetivos principais foram detetar fatores predisponentes para o aparecimento destas neofomações e fazer a caracterização destas massas quanto à localização, tipo histológico, estadiamento tumoral e tratamento escolhido.

**Palavras – chave:** tumores mamários, epidemiologia, estadiamento, tratamentos.

# “Mammary tumours in bitches”

---

## Abstract

Mammary tumors are the most common tumors in non-sterilized female dogs. In the published bibliography it is possible to identify a relationship between the presence of certain individual factors and the appearance of these neoformations. A correct and complete approach to this pathology includes a tumor staging followed by the elaboration of an individual and personalized therapeutic plan for each patient.

This dissertation contains a literature review on mammary tumors in female dogs as well as an epidemiological study on the topic where the main objectives were to detect predisposing factors for the appearance of this neoformations and characterize them in terms of location, histological type, tumor staging and treatment options.

**Keywords:** mammary tumors, epidemiology, staging, treatments.

# Índice

Agradecimentos .....	IV
Resumo.....	V
Abstract .....	VI
Índice de figuras .....	IX
Índice de tabelas .....	X
Índice de gráficos .....	XI
Índice de abreviaturas.....	XII
Introdução.....	XIV
1. Revisão Bibliográfica .....	1
1.1. Glândula mamária .....	1
1.1.1. Fisiologia e anatomia.....	1
1.1.2. Irrigação sanguínea e drenagem linfática .....	3
1.2. Epidemiologia.....	5
1.2.1. Incidência .....	5
1.2.2. Idade.....	5
1.2.3. Raça .....	6
1.2.4. Localização .....	6
1.3. Fatores de risco .....	6
1.3.1. Fatores hormonais .....	6
1.3.2. Fatores genéticos .....	9
1.3.3. Dieta .....	10
1.4. Apresentação clínica e diagnóstico .....	10
1.5. Estadiamento tumoral.....	11
1.6. Classificação de tumores mamários.....	13
1.7. Fatores de prognóstico .....	21
1.7.1. Classificação histológica e grau de malignidade .....	22
1.7.2. Metastização .....	24
1.7.3. Idade.....	24
1.7.4. Estadiamento clínico .....	25
1.7.5. Tempo entre o diagnóstico e a cirurgia.....	25
1.7.6. Tamanho tumoral.....	25
1.7.7. Biomarcadores tumorais .....	26

1.8.	Tratamentos .....	30
1.8.1.	Abordagem cirúrgica .....	30
1.8.2.	Terapia médica .....	37
2.	Estudo epidemiológico sobre tumores mamários em cadelas .....	45
2.1.	Introdução .....	45
2.2.	Objetivo .....	45
2.3.	Materiais e métodos .....	46
2.4.	Resultados .....	48
2.4.1.	Caraterização da população .....	48
2.4.2.	Estadiamento clínico .....	52
2.4.3.	Tratamento.....	57
2.4.4.	Classificação histológica .....	59
2.5.	Discussão .....	62
2.6.	Conclusão .....	68
3.	Bibliografia .....	70
4.	Anexo 1.....	81



## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Imagem ilustrativa da cadeia mamária. Adaptado de Patsikas et al., 2016....	1
<b>Figura 2</b> - Esquema da drenagem linfática normal. LA - linfonodo axilar; LIS - Linfonodo inguinal superficial. Adaptado de Patsikas et al., 1996.....	4
<b>Figura 3</b> - Incisão elítica em torno das glândulas mamárias a remover. Imagem original .....	34
<b>Figura 4</b> - Ligadura da artéria epigástrica superficial caudal. Imagem original.....	35
<b>Figura 5</b> - Aproximação da pele com pinças de Allis. Imagem original.....	35
<b>Figura 6</b> - Resultado final de uma mastectomia unilateral total. Imagem original .....	36

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Categorias de classificação de tumores mamários quanto ao tamanho.....	11
<b>Tabela 2</b> - Classificação de tumores mamários quanto à presença de metástases nos linfonodos.....	11
<b>Tabela 3</b> - Classificação de tumores mamários quanto à presença de metástases à distância.....	12
<b>Tabela 4</b> - Grau de estadiamento clínico. Adaptada de Vail et al., 2019.....	13
<b>Tabela 5</b> - Classificação de tumores mamários. Adaptada de Goldschmidt et al., 2011.....	14
<b>Tabela 6</b> - Classificação proposta em 2016. Adaptada de Zappulli et al., 2019.....	17
<b>Tabela 7</b> - Critérios de classificação do grau de malignidade. Adaptada de: Goldschmidt et al., 2011.....	20
<b>Tabela 8</b> – Determinação do grau de malignidade .....	21
<b>Tabela 9</b> - Classificação histológica obtida.....	60

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1</b> - Esperança média de vida de acordo com a classificação histológica atribuída à neoplasia. Adaptado de Rassoto et al, 2017.....	22
<b>Gráfico 2</b> - Relação entre o grau de malignidade e a esperança média de vida. Adaptado de Rassoto et al., 2017.....	23
<b>Gráfico 3</b> - Caracterização da população em estudo relativamente à idade (em anos) que apresentam no momento de diagnóstico.....	48
<b>Gráfico 4</b> - Distribuição da população de acordo com a raça.....	49
<b>Gráfico 5</b> - Distribuição da população relativamente ao porte .....	50
<b>Gráfico 6</b> - Avaliação relativa ao estado reprodutivo do animal.....	50
<b>Gráfico 7</b> - Avaliação relativa à utilização de medicação contraceptiva.....	51
<b>Gráfico 8</b> - Número de gestações.....	51
<b>Gráfico 9</b> - Desenvolvimento de pseudogestações.....	52
<b>Gráfico 10</b> - Tempo de desenvolvimento da massa.....	53
<b>Gráfico 11</b> - Representação do método de estadiamento escolhido .....	53
<b>Gráfico 12</b> - Número de neoformações identificadas no exame físico de cada paciente .....	54
<b>Gráfico 13</b> - Localização das neoformações na cadeia mamária.....	55
<b>Gráfico 14</b> - Classificação do tamanho das neoplasias.....	55
<b>Gráfico 15</b> - Quantificação da presença de envolvimento dos linfonodos .....	56
<b>Gráfico 16</b> - Grau de estadiamento clínico atribuído a cada cadela .....	57
<b>Gráfico 17</b> - Tipo de tratamento efetuado .....	57
<b>Gráfico 18</b> - Tipo de mastectomia realizada.....	58
<b>Gráfico 19</b> - Classificação histológica.....	59
<b>Gráfico 20</b> - Avaliação quanto ao grau de malignidade .....	59

## Índice de abreviaturas

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**AINEs** – Anti-inflamatório não esteroide

**ALT** - Alanina aminotransferase

**BRCA-1 e 2** – *Breast cancer gene 1 and 2* – Gene tumoral 1 e 2

**COX** – Ciclo-oxigenase

**COX-1** – Ciclo-oxigenase – 1

**COX-2** – Ciclo-oxigenase-2

**FA** – Fosfatase alcalina

**ER** – Recetor de estrogénios

**ER- $\alpha$**  – Recetor de estrogénios  $\alpha$

**ER- $\beta$**  – Recetor de estrogénios  $\beta$

**GH** – *Growth hormone* – Hormona do crescimento

**HER-1 e HER-2** - Recetor epidérmico do fator de crescimento

**HPF** – *High power fields* – Campos de alta ampliação

**IGF**– *Insulin like factor* – Fator semelhante à insulina

**IGF-1** – *Insulin like factor – 1* – Fator semelhante à insulina do tipo 1

**IV** – *Intravenous fluids* - Fluídos endovenosos

**M1** – Glândula mamária 1

**M2** – Glândula mamária 2

**M3** – Glândula mamária 3

**M4** – Glândula mamária 4

**M5** – Glândula mamária 5

**OMS** – Organização mundial de saúde

**OVH** - Ovariohisterectomia

**PR** – Recetor de progesterona

**ARN** – Ácido ribonucleico

**TC** – Tomografia computadorizada

**TNM** – *tumor size – lymph nodes involvement – metastasis*; tamanho tumoral-  
envolvimento dos linfonodos - metastização

## Introdução

A presente dissertação foi elaborada no seguimento do estágio curricular realizado no Hospital Veterinário e Universitário de Coimbra, no período compreendido entre 13 de setembro de 2020 e 13 de março de 2021.

Este estágio permitiu-me acompanhar profissionais de diferentes especialidades, entre as quais: dermatologia, oncologia, oftalmologia, neurologia, cirurgia e medicina interna. Para além disto, permitiu-me ainda praticar e desenvolver novas capacidades essenciais para o exercício futuro da profissão bem como recolher os dados necessários ao desenvolvimento do presente estudo.

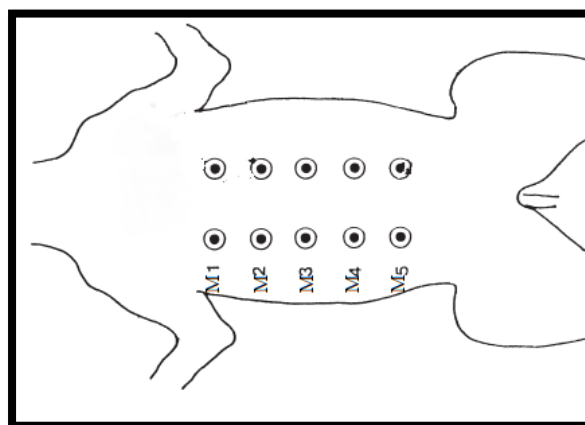
# 1. Revisão Bibliográfica

## 1.1. Glândula mamária

### 1.1.1. Fisiologia e anatomia

A glândula mamária é uma glândula sudorípara modificada, presente apenas em mamíferos (Santos et al., 2009; Sleenckx et al., 2011; Peña et al., 2013). É constituída por uma rede de ductos, que culmina num alvéolo secretor e que está rodeada por tecido adiposo (Santos et al., 2009; Sorenmo et al., 2011).

As cadelas apresentam duas cadeias mamárias simétricas, com quatro a seis glândulas cada, sendo o mais frequente apresentarem cinco (Sorenmo et al., 2011). Destas glândulas, duas são torácicas (M1 e M2), duas são abdominais (M3 e M4) e uma é inguinal (M5), como representado na figura 1 (Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011).



**Figura 1** - Imagem ilustrativa da cadeia mamária. Adaptado de Patsikas et al., 2016.

O desenvolvimento da cadeia mamária inicia-se na embriogénese com a formação de epitélio glandular e dos principais ductos (Santos et al., 2009; Sorenmo et al., 2011). Após o nascimento inicia-se um período de pausa, havendo apenas um crescimento de tecido mamário proporcional ao crescimento do corpo do animal, sem crescimento ductal ou glandular (Sorenmo et al., 2011).

Com a entrada na puberdade e início do ciclo éstrico, o desenvolvimento mamário vai recomeçar por influência hormonal, e irá prolongar-se por toda a vida reprodutiva do animal (Santos et al., 2009). As hormonas identificadas como responsáveis por esta estimulação são: estrogénios, progesterona, hormona do crescimento (GH) e a prolactina (Santos et al., 2009; Concannon et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Spoerri et al., 2015).

Assim, ao longo do ciclo éstrico, as variações hormonais vão estimular o desenvolvimento de diferentes estruturas da glândula mamária (Concannon et al., 2011; Spoerri et al., 2015). Os estrogénios, libertados em maior quantidade no estro, estimulam a proliferação do epitélio ductal, aumentando desta forma a área de extensão dos ductos (Sorenmo et al., 2011; Spoerri et al., 2015).

A progesterona, produzida em maiores quantidades no diestro, irá atuar de duas formas distintas: estimula a produção de GH no tecido mamário e, juntamente com a prolactina, estimula o desenvolvimento lobulo-alveolar e aumenta as conexões da rede ductal (Mol et al., 2002; Rehm et al., 2007; Concannon et al., 2011; Sorenmo et al., 2011).

A GH irá atuar de forma direta e indireta sobre o tecido mamário (Vail et al., 2019). Ou seja, atua de forma direta estimulando o desenvolvimento e a diferenciação do tecido epitelial mamário, e atua de forma indireta estimulando a produção de fatores de crescimento semelhantes à de insulina (IGF) (Mol et al., 2002; Vail et al., 2019). Os IGF-1 irão também contribuir para a proliferação epitelial e irão aumentar a sobrevivência das células epiteliais (Mol et al., 2002).

Por último, a prolactina, produzida no final do ciclo, é responsável pela diferenciação do tecido mamário, com formação de alvéolos, que constituem a unidade secretora da glândula mamária (Sorenmo et al., 2011; Spoerri et al., 2015).

A última fase de desenvolvimento só ocorre quando a cadela fica gestante pela primeira vez, e corresponde à secreção de leite, estimulada pelas grandes quantidades de prolactina em circulação (Concannon et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Spoerri et al., 2015; Vail et al., 2019).

No período de anestro verifica-se uma regressão da glândula mamária, havendo uma diminuição do diâmetro dos ductos e do tamanho dos lóbulos (Rehm et al., 2007; Sorenmo et al., 2011). Esta regressão é mais notória nos pares inguinais pois são também



estes que têm um maior desenvolvimento durante as fases anteriores do ciclo (Santos et al., 2009).

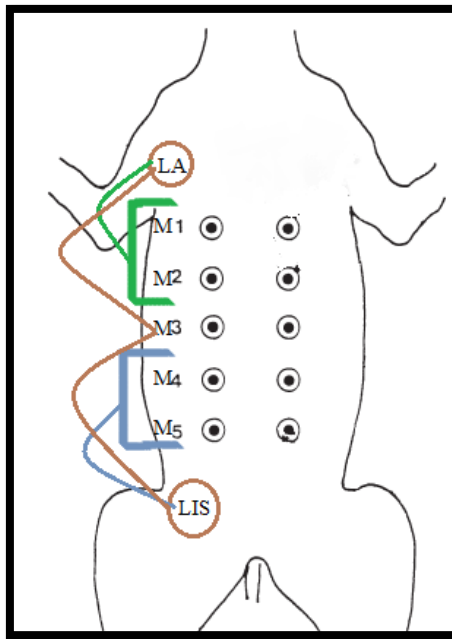
### **1.1.2. Irrigação sanguínea e drenagem linfática**

Em termos de irrigação sanguínea, existem duas artérias principais responsáveis pela suplementação sanguínea, a epigástrica superficial e a pudenda externa. As glândulas torácicas são irrigadas pela artéria epigástrica superficial cranial. Já as glândulas abdominais e a inguinal são irrigadas pela epigástrica superficial caudal e por ramos da artéria pudenda externa (Sleeckx et al., 2011).

O conhecimento das vias de drenagem linfática das glândulas mamárias assume um papel de destaque pois o sistema linfático constitui a principal via de metastização de tumores mamários, em particular dos carcinomas (Sorenmo et al., 2011).

No estudo da drenagem linfática, os primeiros linfonodos a drenar uma região são designados por linfonodos sentinela e assumem um papel importante no que toca ao estadiamento da doença e à determinação da probabilidade de metastização (Stan et al., 2009).

Em animais saudáveis, a drenagem da cadeia mamária é feita, consoante a localização, para dois linfonodos principais: o axilar e o inguinal superficial (Patsikas et al., 1996; Pereira et al., 2011). Assim, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> drenam para o linfonodo axilar, M<sub>3</sub> drena tanto para o linfonodo axilar como para o linfonodo inguinal superficial e, por último, M<sub>4</sub> e M<sub>5</sub> drenam para o linfonodo inguinal superficial, como representado na figura 2 (Patsikas et al., 1996; Pereira et al., 2011; Sorenmo et al., 2011).



**Figura 2** - Esquema da drenagem linfática normal. LA - linfonodo axilar; LIS - Linfonodo inguinal superficial. Adaptado de Patsikas et al., 1996.

Estudos comprovam que, mesmo em animais saudáveis, podem existir conexões entre os vasos linfáticos das duas cadeias mamárias e também entre duas glândulas mamárias adjacentes (Pereira et al. 2003; Patsikas et al., 2006; Stan et al., 2009) .

Para além disto, em processos neoplásicos, poderá ainda existir linfangiogénese, ou seja, formação de novos capilares linfáticos que estabelecem comunicações entre as várias glândulas mamárias de uma ou das duas cadeias, facilitando a comunicação e a disseminação de células neoplásicas (Pereira et al., 2003; Patsikas et al., 2006). Estas ligações podem justificar a presença de tumores em mais do que uma glândula mamária ou até nas duas cadeias mamárias (Stan et al., 2009).

Assim, em casos de neoplasia, este padrão de drenagem poderá sofrer alterações, sendo que, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> para além de drenarem para o linfonodo axilar poderão também fazê-lo para os linfonodos esternais, tornando-os também em linfonodos sentinelas no que respeita a tumores que envolvam estas glândulas (Sleeckx et al., 2003; Patsikas et al., 2006; Sorenmo et al., 2011).

Já M<sub>3</sub> poderá drenar tanto para o linfonodo axilar ipsilateral, como para o inguinal superficial e/ou para o ilíaco médio. O facto de M<sub>3</sub> poder drenar para o linfonodo ilíaco

médio justifica o aparecimento de metástases pulmonares mesmo quando os linfonodos axilares e inguinais superficiais não estão afetados (Pereira et al., 2003; Patsikas et al., 2006; Sorenmo et al., 2011).

Por último, M<sub>4</sub> e M<sub>5</sub> poderão drenar tanto para o linfonodo inguinal superficial como para os poplíteos ou os mediastínicos, sendo que, M<sub>4</sub> poderá ainda drenar para o linfonodo ilíaco médio (Pereira et al., 2003; Patsikas et al., 2006; Sorenmo et al., 2011).

## **1.2. Epidemiologia**

### **1.2.1. Incidência**

Os tumores mamários constituem o segundo tipo tumoral mais frequente na espécie canina, logo a seguir aos tumores de pele (Queiroga et al., 2002). Porém, em cadelas inteiras os tumores de mama constituem o tumor mais frequente (Queiroga et al., 2002; Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011). As fêmeas são as mais afetadas, sendo que estão descritos casos em machos, mas estes são pouco frequentes (Saba et al., 2007).

A percentagem de tumores malignos e benignos é cerca de 50%, porém, a tendência que se tem verificado é para um aumento da percentagem de tumores malignos (Sleenckx et al., 2011; De Araújo et al., 2015; Vail et al., 2019).

### **1.2.2. Idade**

O risco de desenvolvimento destas patologias parece aumentar com a idade, sobretudo em cadelas não esterilizadas. A idade descrita como sendo de maior risco é a partir dos oito anos, sendo que, a idade mais prevalente de aparecimento dos primeiros sintomas está compreendida entre os oito e os onze anos (Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Gray et al., 2020).

O aparecimento de tumores antes dos cinco anos é bastante raro, excepto se o animal tiver utilizado progestagénios como método contraceptivo (Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Gray et al., 2020). Verifica-se uma tendência para que cadelas mais jovens

apresentem principalmente tumores benignos e cadelas idosas apresentem malignos (Kim et al., 2016).

### **1.2.3. Raça**

Quando analisada a prevalência relativamente à raça, verificamos que, apesar de poder ocorrer em qualquer animal, existe uma predisposição em cães de raças puras e/ou de porte pequeno / *toy*. As principais raças descritas em vários estudos são: poodle miniatura, maltês, chihuahua, beagle, pastor alemão, yorkshire terrier, cocker spaniel, english setter e o pointer (Sorenmo et al., 2003; Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011).

### **1.2.4. Localização**

Estas massas podem surgir em qualquer glândula mamária, porém, verifica-se que as glândulas mais afetadas são as abdominais caudais e a inguinal (Queiroga et al., 2002; Sorenmo et al., 2011; De Araújo et al., 2015). A justificação para isto poderá estar relacionada com o maior desenvolvimento de tecido epitelial que se verifica nestas glândulas, o que aumenta a probabilidade de ocorrência de transformações neoplásicas durante as mitoses e também com a maior secreção de leite que se verifica no pós-parto (Queiroga et al., 2002).

## **1.3. Fatores de risco**

### **1.3.1. Fatores hormonais**

Como descrito anteriormente, a regulação do desenvolvimento do tecido mamário é feita por via hormonal, sendo que, as principais hormonas envolvidas neste processo são os estrogénios, a progesterona, a GH e a prolactina (Sorenmo et al., 2011; Spoerri et al., 2015).

A exposição a estas hormonas constitui o principal fator de risco para o desenvolvimento de neoplasias mamárias, sendo que, o risco é proporcional ao tempo de exposição, pois estas têm um efeito cumulativo (Mol et al., 2005; Sorenmo et al., 2011). Ou seja, quanto

mais tempo o tecido mamário estiver sob influência hormonal, maior será a estimulação de proliferação e diferenciação celular e, conseqüentemente maior a probabilidade de ocorrerem transformações neoplásicas que conduzam ao desenvolvimento de neoplasias (Mol et al., 2005; Sleenckx et al., 2011).

Os estrogénios têm um efeito proliferativo e anti-apoptótico, sendo cruciais para o desenvolvimento ductal e, por isso, considerados uma das principais hormonas envolvidas na carcinogénese (Spoerri et al., 2005; Russo et al., 2006; Queiroga et al., 2015; Canadas et al., 2019; Sorenmo et al., 2019). De acordo com Russo et al., 2006 e Sorenmo et al., 2019, estão descritos três mecanismos principais pelos quais esta hormona poderá contribuir para o desenvolvimento de tecido neoplásico, sendo eles:

- A estimulação da proliferação tecidual, induzida pela ligação aos recetores hormonais;
- O aumento da taxa de mutações desencadeado pela ativação metabólica do citocromo P450;
- A indução de aneuploidia.

A progesterona por outro lado irá ter efeitos cruciais na proliferação e diferenciação do tecido mamário, levando a um aumento das concentrações de GH. O aumento da GH poderá atingir concentrações passíveis de induzir acromegalia e/ou insulinoresistência (Mol et al., 2005; Spoerri et al., 2015). Para além disto, o aumento de GH irá ainda estimular a produção de IGF – 1 (Mol et al., 2002; Queiroga e al., 2008; Vail et al., 2019).

O IGF-1 tem uma ação proliferativa e de estimulação do crescimento, estando envolvido na regulação da expressão de genes responsáveis pela carcinogénese, tendo um papel importante na tumorigénese (Mol et al., 2002; Sorenmo et al., 2003; Vail et al., 2019). Os estrogénios têm um efeito sinérgico e potenciador com este fator de crescimento, criando um ambiente propício à ocorrência de mutações (Queiroga et al., 2008; Dolka et al., 2011). Tumores malignos expressam valores elevados de IGF-I (Vail et al., 2019).

A prolactina tem uma ação luteotrófica estimulando o desenvolvimento do sistema ductal e o início da atividade secretora das glândulas mamárias. Em cadelas gestantes, os níveis desta hormona mantêm-se elevados durante a fase de lactação (Queiroga et al., 2005; Spoerri et al., 2015).

Estudos revelam que os níveis de prolactina, tanto em tumores malignos como benignos, são superiores aos presentes em tecido normal, sendo que, os tumores malignos apresentam a maior quantidade. Esta constatação parece indicar que esta hormona poderá ter origem no tecido neoplásico da glândula mamária e não na hipófise. Assim, a prolactina irá apresentar um efeito autócrino, nas próprias células neoplásicas, mas também parácrino no tecido envolvente (Queiroga et al., 2005).

Em cadelas que ficam gestantes, a duração da fase lútea é idêntica à de cadelas não gestantes, mas os valores de progesterona e de prolactina alcançados são superiores, tendo por isso um efeito mais notório de proliferação de tecido mamário e de secreção de leite, o que, com o aumento do número de gestações, agrava o risco (Alenza et al., 2000; Concannon, 2011).

Os fármacos contraceptivos irão aumentar as concentrações das hormonas sexuais e, conseqüentemente, aumentar o risco de aparecimento de tumores mamários (Selman et al., 1993; Alenza et al., 2000; Mol et al., 2005; Spoerri et al., 2015).

Em ciclos onde não há gestação, os efeitos das hormonas deveriam ser pouco notórios. Porém, em algumas cadelas poderá verificar-se a existência de uma condição conhecida por pseudogestação, que faz com que os efeitos hormonais sejam igualmente significativos (Concannon, 2011; Root et al., 2018).

A pseudogestação caracteriza-se pela presença de sinais fisiológicos e comportamentais de peri e pós-parto em cadelas não gestantes (Root et al., 2008). A nível fisiológico ocorre desenvolvimento significativo do tecido mamário, acompanhado por lactogénese e lactopoiese, perda de apetite, vômito e ganho de peso. A nível comportamental, as cadelas afetadas podem manifestar comportamento de ninho, redução da atividade, esconder objetos, entre outros. A etiologia deste evento poderá estar relacionada com uma diminuição prematura da progesterona na fase lútea, associada a um aumento da prolactina ou a um aumento da sensibilidade do tecido mamário à prolactina (Concannon, 2011; Sorenmo et al., 2011; Root et al., 2018).

Assim, a esterilização apresenta-se como a forma mais eficaz de prevenção do aparecimento de neoplasias mamárias (Sorenmo et al., 2000; Beauvais et al., 2012; Smith et al., 2014; Kristiansen et al., 2016). Contudo, o momento em que ela é realizada dita o

seu sucesso preventivo. Isto é, se a cadela for submetida a OVH antes do primeiro cio, o risco de desenvolvimento de tumores mamários é de 0,5%, se antes do segundo cio o risco aumenta para 8%, porém se for após o segundo cio, o risco já aumenta para valores na ordem dos 26% (Smith et al., 2014; Kristiansen et al., 2016; Gray et al., 2020).

### **1.3.2. Fatores genéticos**

Uma vez que existe uma predisposição racial, podemos assumir que a esta estará associada uma predisposição genética. Vários estudos descrevem a presença de mutações tanto no gene p53 como nos genes BRCA 1 e/ou 2 (Gene tumoral 1 e 2) (Sorenmo et al., 2003; Rivera et al., 2009; Yoshikawa et al., 2015; Thumser-Henner et al., 2020).

O gene p53 codifica a proteína p53, responsável pela supressão tumoral através da regulação da proliferação celular, controlo da estabilidade genómica e desencadeamento da apoptose sempre que são detetadas mutações (Sorenmo et al., 2003; Silva et al., 2004; Queiroga et al., 2011; Kaszak et al., 2018). As mutações neste gene são tidas como as mais frequentes no desenvolvimento de tumores mamários em cadelas (Muto et al., 2000; Sorenmo et al., 2003; Kaszak et al., 2018). Na presença deste tipo de mutações, a proteína irá perder a sua função de supressão tumoral, passando a funcionar como oncogene e acumulando-se nos tecidos (Nieto et al., 2003; Kaszak et al., 2018). Esta acumulação ocorre tanto em tumores benignos como em tumores malignos e pode ser detetada através de técnicas de imunohistoquímica, constituindo assim um biomarcador de interesse (Muto et al., 2000; Kaszak et al., 2018).

Os genes BRCA- 1 e 2 são responsáveis por garantir a estabilidade do genoma e minimizar a ocorrência de erros na replicação do ADN (Nieto et al., 2003; Silva et al., 2004; Gray et al., 2020). Mutações nestes genes vão fazer com que este mecanismo seja menos eficiente, proporcionando a ocorrência de erros na replicação de ADN e aumentando a probabilidade de ocorrência de transformações neoplásicas (Yoshikawa et al., 2015; Kaszak et al., 2018; Thumser – Henner et al., 2020).

A expressão de níveis baixos de BRCA–1 está associada à presença de tumores malignos, verificando-se uma relação de proporcionalidade inversa entre os níveis de BRCA–1 e o grau de malignidade (Nieto et al., 2003).

Segundo Yoshikawa et al., 2005 e Thumser-Henner et al., 2020, verificou-se uma diminuição dos níveis de BRCA-2 em glândulas mamárias neoplásicas relativamente aos níveis presentes em tecido mamário normal. Estes achados parecem então sugerir que a diminuição da expressão do BRCA-2 poderá ser um fator desencadeante de tumorigénese.

### **1.3.3. Dieta**

Uma análise à relação da dieta/obesidade com o desenvolvimento desta patologia revelou que cães com uma dieta rica em carnes vermelhas ou obesos até aos 9 a 12 meses de idade, se encontram significativamente mais predispostos do que animais com o peso recomendado ou até ligeiramente abaixo (Vail et al., 2019; Gray et al., 2020).

O mecanismo que torna a obesidade um fator de risco está relacionado com o aumento dos níveis de estrogénios livres em circulação e, também, pela acumulação dos mesmos na gordura. Esta relação existe apenas no início de vida do animal, pois animais obesos em idade mais avançada e na altura do diagnóstico não parecem ter nenhuma predisposição adicional (Sleeckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019).

## **1.4. Apresentação clínica e diagnóstico**

A apresentação clínica típica consiste numa cadela adulta/idosas, não esterilizada e com uma ou mais massas palpáveis numa ou nas duas cadeias mamárias (Sorenmo et al., 2011, Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

É essencial fazer uma anamnese detalhada que permita recolher informação relativamente ao historial clínico do animal, hábitos de vida e que permita identificar a existência de fatores de risco que possam ter predisposto ao aparecimento destas neoplasias. Por serem animais mais velhos, deve ser investigada a presença de condições concomitantes, que poderão agravar o prognóstico da neoplasia (Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019).

De seguida, deve ser realizado um exame de estado geral completo, seguido de um exame cuidadoso das cadeias mamárias e palpação dos linfonodos sentinela (Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). É essencial fazer uma palpação atenta de ambas as



cadeias e caracterizar todas as massas presentes quanto às dimensões, localização e presença de características de malignidade (aderências, edema, inflamação, ulceração ou temperatura elevada) (Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

## 1.5. Estadiamento tumoral

O estadiamento da doença tumoral é feito de acordo com o método TNM, que representa três critérios: tamanho tumoral, infiltração dos linfonodos regionais e metastização à distância (WHO, 1980; Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

O primeiro critério deste sistema corresponde ao tamanho do tumor, sendo que, para efeitos de classificação utilizamos sempre o nódulo de maiores dimensões. São então estabelecidas três categorias, de acordo com o apresentado na tabela 1 (WHO, 1980; Sorenmo et al., 2011; Cassali et al., 2020).

**Tabela 1** - Categorias de classificação de tumores mamários quanto ao tamanho.

<b>Classificação</b>	<b>Dimensões</b>
<b>T1</b>	<3 cm
<b>T2</b>	3-5 cm
<b>T3</b>	>5 cm

O segundo critério corresponde ao envolvimento dos linfonodos regionais e, aí encontramos duas classificações, consoante o seu envolvimento ou não, tal como representado na tabela 2 (WHO, 1980; Sorenmo et al., 2011; Cassali et al., 2020).

**Tabela 2** - Classificação de tumores mamários quanto à presença de metástases nos linfonodos.

<b>Classificação</b>	<b>Envolvimento dos linfonodos</b>
<b>N0</b>	Não
<b>N1</b>	Sim

Os métodos para avaliação dos linfonodos incluem: palpação, citologia aspirativa e excisão cirúrgica com a restante cadeia mamária, sobretudo se for o linfonodo inguinal superficial. A palpação deve ser a primeira abordagem e, devemos procurar sinais de aumento ou inflamação. Caso algum destes sinais seja detetado ou se queira confirmar a ausência de metástases, pode ser realizada uma punção aspirativa por agulha fina dos linfonodos sentinela, que se tem demonstrado altamente sensível a detetar metástases de tumores sólidos. A excisão cirúrgica do linfonodo sentinela deve ser realizada sempre que possível e este deve ser enviado para histopatologia, como forma de confirmar de forma definitiva se existe ou não metastização (Sorenmo et al., 2003; Sorenmo et al., 2011; Cassali et al., 2020).

O terceiro critério diz respeito à presença de metástases à distância, sendo que, nestes tumores, o principal local de metastização são os pulmões. Este parâmetro apresenta também duas classificações possíveis, tal como representado na tabela 3 (WHO, 1980; Cassali et al., 2020).

**Tabela 3** - Classificação de tumores mamários quanto à presença de metástases à distância.

<b>Classificação</b>	<b>Metastização à distância</b>
<b>M0</b>	Não
<b>M1</b>	Sim

A pesquisa de metástases à distância pode ser feita de duas formas diferentes: a primeira com recurso a raio-x de tórax (três projeções) e ecografia abdominal e a segunda com recurso a tomografia computadorizada (TC) tóraca e abdominal ( Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

O método mais utilizado continua a ser o primeiro, porém, o raio-x apenas consegue detetar lesões com dimensões iguais ou superiores a 7 mm (Sorenmo et al., 2003; Otoni et al., 2010; Sorenmo et al., 2011; Cassali et al., 2020). A ecografia por seu lado em animais pequenos e magros revela grande sensibilidade.

O segundo método permite a detecção de micrometástases, isto é, lesões com dimensões na ordem de 1 mm, fazendo por isso uma avaliação muito mais profunda (Otoni et al., 2010; Sorenmo et al., 2011; Cassali et al., 2020;).

Conjugando as classificações obtidas em cada parâmetro, obtemos o grau de estadiamento tumoral, de acordo com a tabela 4.

**Tabela 4** - Grau de estadiamento clínico. Adaptada de Vail et al., 2019.

Grau	T	N	M
<b>I</b>	T <sub>1</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
<b>II</b>	T <sub>2</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
<b>III</b>	T <sub>3</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
<b>IV</b>	Qualquer T	N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
<b>V</b>	Qualquer T	Qualquer N	M <sub>1</sub>

Para completar o estadiamento, devem ser feitas análises sanguíneas completas e também análise de urina, para podermos excluir a presença de doenças concomitantes e avaliar o estado de saúde do animal (Sleeckx et al., 2011; Sorenmo 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

## 1.6. Classificação de tumores mamários

O *gold-standard* da classificação de tumores mamários é a histopatologia. A primeira proposta de classificação histológica foi publicada em 1974 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Beveridge et al., 1974). Nesta proposta identificavam-se seis categorias de tumores benignos e catorze de tumores malignos (Goldschmidt, 2011; Canadas et al., 2019)

Em 2011 Goldschmidt apresentou uma proposta de classificação, que apresentava como critérios de base a arquitetura das células neoplásicas e o possível envolvimento das células mioepiteliais (Goldschmidt et al., 2011). Esta classificação ainda é utilizada na grande maioria dos laboratórios a nível nacional.

De acordo com a classificação de Goldschmidt et al., 2011 apresenta-se a divisão exposta na tabela 5.

**Tabela 5** - Classificação de tumores mamários. Adaptada de Goldschmidt et al., 2011.

	Carcinoma in situ
	Carcinoma simples: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tubular;</li> <li>• Tubulopapilar;</li> <li>• Papilar-cístico;</li> <li>• Cribiforme.</li> </ul>
	Carcinoma micropapilar invasivo
	Carcinoma sólido
	Comedocarcinoma
<b>Neoplasmas epiteliais malignos</b>	Carcinoma anaplásico
	Carcinoma com origem num adenoma complexo/tumor misto
	Carcinoma complexo
	Carcinoma e mioepitelioma maligno
	Carcinoma misto
	Carcinoma ductal maligno
	Carcinoma papilar intraductal
	Carcinoma de células escamosas
<b>Tipos Especiais de Neoplasmas epiteliais malignos</b>	Carcinoma adenoescamoso
	Carcinoma mucinoso
	Carcinoma rico em lípidos
	Carcinoma de células espinhosas
	Carcinoma inflamatório
<b>Sarcomas</b>	Osteossarcoma
	Condrossarcoma
	Fibrossarcoma
	Hemangiossarcoma
	Outros sarcomas
<b>Carcinossarcoma</b>	

<b>Neoplasmas benignos</b>	Adenoma simples
	Adenoma papilar intraductal
	Adenoma ductal
	Fibroadenoma
	Mioepitelioma
	Adenoma complexo
	Tumor misto benigno
<b>Hiperplasia/Displasia</b>	Ductectasia
	Hiperplasia lobular: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Regular;</li> <li>• Secretora;</li> <li>• Com fibrose inter-lobular;</li> <li>• Com atipia.</li> </ul>
	Epiteliiose
	Papilomatose
	Alterações fibroadenomas
<b>Neoplasmas do mamilo</b>	Ginecomastia
	Adenoma
	Carcinoma
	Carcinoma com infiltração epidermal

**Hiperplasia/Displasia do mamilo**      Melanose da pele do mamilo

Dentro desta divisão encontram-se 7 subtipos de tumores benignos e 23 subtipos de tumores malignos (Goldschmidt et al., 2011; Canadas et al., 2019).

Os tumores mais frequentes são os epiteliais, sendo que os tumores malignos mais comuns são os carcinomas e, dentro dos carcinomas, o carcinoma complexo (Sorenmo et al., 2003; Milanta, 2005; Peña et al., 2013; Canadas et al., 2019; Gedon et al, 2020). Os tumores benignos mais comuns são os adenomas, sendo o adenoma complexo aquele que aparece com mais frequência (Sorenmo et al., 2003; Milanta 2005; Canadas et al., 2019).

Com o objetivo de certificar a malignidade de uma neoplasia, Goldschmidt elaborou ainda um conjunto de critérios de malignidade, a serem aplicados aquando da análise de fragmentos tumorais corados por hematoxilina-eosina. Os critérios são os seguintes: (Golschmidt et al., 2011).

- Tipo tumoral;
- Presença de pleomorfismo nuclear e celular;
- Índice mitótico;
- Presença de áreas de necrose distribuídas de forma aleatória;
- Invasão linfática e peritumoral;
- Metastização nos linfonodos regionais.

Recentemente surgiu uma nova versão da classificação tumoral em glândulas mamárias caninas. Esta nova proposta apresenta onze divisões principais, fazendo uma classificação mais extensa e detalhada tanto das neoplasias mamárias como de neoplasias que podem surgir na zona da glândula mamária ou metastizar para este local. A tabela 6 apresenta as classes e as subclasses definidas nesta classificação (Zappulli et al., 2019).

**Tabela 6** - Classificação proposta em 2016. Adaptada de Zappulli et al., 2019.

<b>Carcinoma <i>in situ</i></b>	
<b>Neoplasmas epiteliais malignos</b>	<p>Carcinomas simples:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma tubular simples;</li> <li>• Carcinoma tubulopapilar;</li> <li>• Carcinoma sólido;</li> <li>• Carcinoma micropapilar invasivo;</li> <li>• Comedocarcinoma;</li> <li>• Carcinoma anaplásico.</li> </ul>
	<p>Carcinomas não-simples:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma em adenoma ou tumor misto benigno;</li> <li>• Carcinoma complexo;</li> <li>• Carcinoma e mioepitelioma maligno;</li> <li>• Carcinoma misto.</li> </ul>
	<p>Carcinomas associados a ductos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma ductal;</li> <li>• Carcinoma papilar intraductal.</li> </ul>
	<p>Carcinoma de células escamosas</p> <p>Carcinoma adenoscamoso</p> <p>Carcinoma mucinoso</p> <p>Carcinoma rico em lípidos</p> <p>Carcinoma de células espinhosas</p> <p>Mioepitelioma maligno</p> <p>Carcinoma inflamatório</p>
<b>Tipos especiais de neoplasmas epiteliais malignos</b>	Osteosarcoma
	Condrosarcoma
	Fibrosarcoma
	Hemangiosarcoma
	Outros sarcomas
<b>Neoplasmas mesenquimatosos malignos</b>	

<b>Carcinossarcoma</b>	
<b>Hiperplasia /Displasia do mamilo</b>	Melanose da pele do mamilo Hiperplasia do mamilo
<b>Neoplasmas do mamilo</b>	Neoplasmas benignos associados aos ductos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Adenoma ductal;</li> <li>• Adenoma papilar intraductal</li> </ul>
	Neoplasmas malignos associados aos ductos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma ductal;</li> <li>• Carcinoma papilar intraductal</li> </ul>
	Carcinoma com infiltração epidérmica
<b>Outros neoplasmas que podem surgir na zona da glândula mamária</b>	Neoplasmas benignos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Neoplasmas mesenquimatosos benignos;</li> <li>• Fibroma;</li> <li>• Lipoma;</li> <li>• Hemangioma;</li> <li>• Neoplasmas epiteliais benignos;</li> <li>• Tumores foliculares benignos;</li> <li>• Tumores das glândulas apócrinas;</li> <li>• Tumor benigno das células redondas;</li> <li>• Histiocitoma cutâneo;</li> <li>• Melanocitoma.</li> </ul>
<b>Neoplasmas malignos que podem surgir na zona da glândula mamária</b>	Tumores mesenquimatosos malignos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sarcomas de tecidos moles;</li> <li>• Hemangiosarcoma</li> </ul>
	Carcinomas não mamários: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinomas de células escamosas;</li> </ul>



	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumores malignos das glândulas apócrinas</li> </ul>
	Tumores malignos de células redondas: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma;</li> <li>• Mastocitoma.</li> </ul>
	Melanoma maligno
<b>Neoplasmas que podem metastizar para a glândula mamária</b>	Tumor venéreo transmissível
	Melanoma
	Pilomatricoma maligno
<b>Hiperplasia/ Displasia</b>	Hiperplasia lobular: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hiperplasia lobular regular;</li> <li>• Hiperplasia lobular com atividade secretora;</li> <li>• Hiperplasia lobular com fibrose;</li> <li>• Hiperplasia lobular com atipia</li> </ul>
	Epitelióse
	Papilomatose
	Fibroadenomas
	Ginecomastia
<b>Tumores benignos</b>	Tumores benignos simples: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Adenoma simples;</li> <li>• Mioepitelioma.</li> </ul>
	Tumores benignos não simples: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Adenoma ductal;</li> <li>• Adenoma papilar intraductal</li> </ul>

Para avaliar o grau de malignidade de uma neoplasia, existem duas escalas (Vail et al., 2019). A primeira a ser desenvolvida foi a de Nottingham, criada primariamente para humanos (Peña et al., 2013; Santos et al., 2015; Canadas et al., 2019). É uma escala numérica, desenvolvida com base em 3 critérios: formação tubular, pleomorfismo nuclear e índice mitótico, sendo que, cada um destes critérios é classificado com uma pontuação

de um a três (Santos et al., 2015). Esta escala não tinha, por si só, um valor preditivo em animais e, não tinha em conta algumas características específicas deste tipo de tumores em cães (Peña et al., 2013).

**Tabela 7** - Critérios de classificação do grau de malignidade. Adaptada de: Goldschmidt et al., 2011.

Pontos	Formação tubular	Pleomorfismo nuclear	Mitoses por 10 campos de alta ampliação (HPF)
<b>1</b>	Presença de túbulos em mais de 75% da amostra	Pequenos núcleos uniformes ou regulares e nucléolos ocasionais	0-9 mitoses / 10 HPF
<b>2</b>	Moderada formação tubular (10 a 75% da amostra) intercalada com áreas de crescimento tumoral	Grau moderado de variação no tamanho e forma nuclear, núcleos hipercrómicos e presença de nucléolos (alguns dos quais proeminentes)	10-19 mitoses / 10 HPF
<b>3</b>	Formações tubulares mínimas (< 10%)	Grande variação do tamanho nuclear, núcleos hipercrómicos e nucléolos presentes	>20 mitoses / 10 HPF

Surgiram então duas novas escalas desenvolvidas particularmente para animais, uma criada por Peña e outra por Misdorp, que têm também como critérios a formação tubular, o pleomorfismo nuclear e o índice mitótico. (Goldschmidt et al., 2011; Misdorp, 2002; Peña et al., 2013) Estas escalas têm ambas um valor preditivo elevado, porém, a de Peña revela-se mais objetiva e estudos retrospectivos indicam que apresenta um melhor valor preditivo. (Peña et al., 2011; Rasotto et al., 2011) Assim, a tabela 7 apresenta a escala elaborada por Peña et al., bem como os critérios de classificação estabelecidos.

O grau de malignidade é depois calculado através da soma das pontuações obtidas em cada um dos parâmetros descritos na tabela 7. A tabela 8 apresenta o grau atribuído consoante a soma das pontuações.

**Tabela 8** - Determinação do grau de malignidade.

Soma de pontos	Grau de malignidade
<b>3-5</b>	I
<b>6-7</b>	II
<b>8-9</b>	III

Vários estudos defendem que, com o passar do tempo, um tumor benigno poderá evoluir para maligno, sendo que, a fase final desta evolução poderá culminar com a transformação em carcinoma (Sorenmo et al., 2009; Sleenckx et al, 2011; Sorenmo et al., 2011; Gedon et al., 2020). Esta evolução parece estar também associada ao aumento de tamanho do tumor e a um aumento da agressividade (Sorenmo et al., 2009; Gedon et al., 2020).

Estão descritos diferentes comportamentos biológicos dentro dos carcinomas, sendo que, se verifica um aumento da agressividade desde o carcinoma complexo até ao carcinoma anaplásico (Gedon et al., 2020).

## **1.7. Fatores de prognóstico**

O prognóstico deste tipo de neoplasia pode ser feito com base em vários fatores, entre os quais: estadiamento clínico, classificação histológica, tamanho da maior massa presente, invasão dos linfonodos sentinela, metastização à distância, presença de biomarcadores

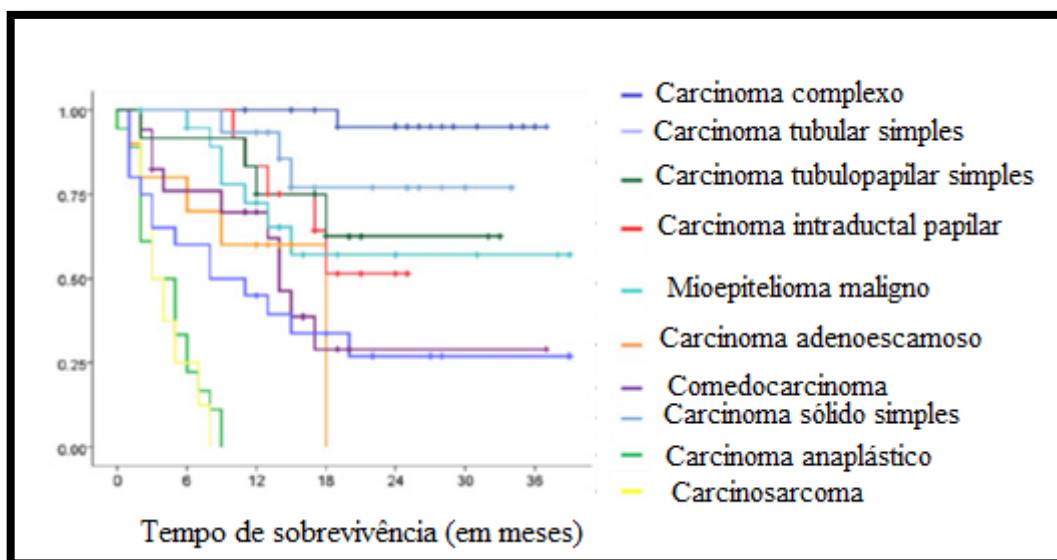
tumorais, idade do animal e plano terapêutico (Mulas et al., 2005; Zaidan, 2008; Vail et al., 2019; Gray et al., 2020).

### 1.7.1. Classificação histológica e grau de malignidade

Após a publicação da nova proposta de classificação histológica de Goldschmidt et al., 2011, e da proposta de adaptação da escala de grau histológico de Peña e de Misdorp, vários estudos relativos ao valor individual prognóstico das mesmas surgiram. Estes estudos permitiram concluir que estas escalas têm por si só um valor prognóstico e preditivo elevado (Santos et al., 2013; Rasotto et al., 2017; Canadas et al., 2019).

Foi estabelecida uma relação significativa entre o tipo histológico de tumor e o tempo médio de sobrevivência, representada no gráfico 1, tendo-se verificado que o carcinoma anaplásico e o carcinosarcoma são os tumores mais agressivos, apresentando um tempo médio de sobrevivência de aproximadamente três meses. Por outro lado, animais com carcinoma tubular simples ou carcinoma complexo têm tempos de sobrevivência muito superiores, podendo chegar aos 30 meses (Rassoto et al., 2017; Canadas et al., 2019).

**Gráfico 1** - Esperança média de vida de acordo com a classificação histológica atribuída à neoplasia. Adaptado de Rassoto et al, 2017.



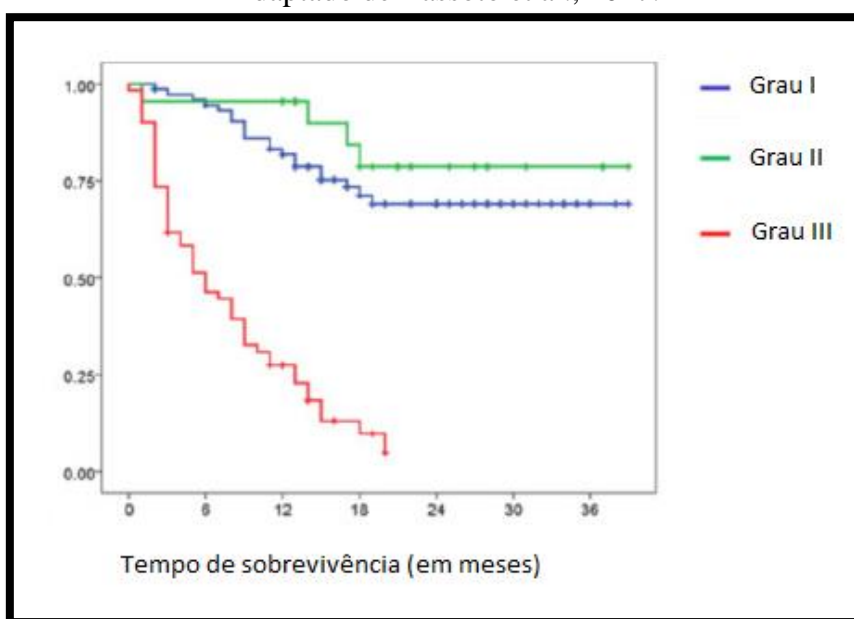
Torna-se visível que os carcinomas anaplásicos têm pior prognóstico que os carcinomas sólidos e estes, por sua vez, são mais agressivos que os carcinomas complexos e os carcinomas tubulopapilares (Rassoto et al., 2017).

O carcinoma adenoescamoso foi descrito como tendo uma maior propensão para recidivar do que o carcinoma anaplásico e o carcinoma complexo, porém, apresenta um tempo sobrevivência superior. A tendência de reaparecimento parece estar relacionada com o componente escamoso do tumor que, quando presente noutras localizações anatómicas é localmente invasivo (Rassoto et al., 2017).

Quando se considera o grau de malignidade como indicador prognóstico, também é possível tirar conclusões relativamente ao tempo de sobrevivência. O grau de malignidade é avaliado de acordo com a diferenciação celular, avaliada pela formação tubular e pleomorfismo nuclear, e com a taxa de crescimento, avaliada pelo índice mitótico (Goldschmidt et al., 2011; Peña et al., 2013; Peña et al., 2014).

Verifica-se que tumores com elevada diferenciação celular e baixo índice mitótico, ou seja, tumores classificados como de grau I e II, apresentam um melhor prognóstico e um tempo de sobrevivência superior aos tumores de grau III (Goldschmidt et al., 2011; Santos et al., 2013; Rasotto et al., 2017; Sorenmo et al., 2019). A relação entre o grau de malignidade e a esperança média de vida é representada no gráfico 2.

**Gráfico 2** - Relação entre o grau de malignidade e a esperança média de vida.  
Adaptado de Rassoto et al., 2017.



No que diz respeito à raça, as raças grandes tendem a ter um pior prognóstico. E, por último, animais com estadiamento tumoral de grau IV ou V têm tempos de sobrevivência menores. (Peña, 2013; Santos et al., 2013).

### **1.7.2. Metastização**

Estes tumores podem metastizar por via linfática ou por via sanguínea, sendo que, nos carcinomas a via linfática é a mais importante (Queiroga et al., 2002; Sorenmo et al., 2003). Os locais de metastização mais comuns são os linfonodos e os pulmões, sendo que, estão descritos outros locais menos frequentes, tais como: fígado, baço, osso, rim, entre outros (Queiroga et al., 2002; Clemente et al., 2010; Sleenckx et al., 2011).

A presença de metastização no linfonodo ipsilateral ou contralateral é um fator de prognóstico crucial (Mulas et al., 2005; Vail et al., 2019). Assim, está descrito na literatura que animais com metástases nos linfonodos têm uma maior probabilidade de desenvolver metástases à distância e, conseqüentemente, têm um tempo de sobrevivência inferior a animais livres de metástases (Mulas et al., 2005; Santos et al., 2013; De Araújo et al., 2015).

Relativamente à probabilidade de metastização à distância e de recorrência, comprovou-se que as massas com maior probabilidade são: o carcinosarcoma, seguido do carcinomas sólido, o comedocarcinoma, o carcinoma adenoescamoso, o carcinoma simples e o complexo (Peña et al., 2013; Rasotto et al., 2017).

Caso a probabilidade de metastização seja avaliada pelo grau de malignidade, verifica-se que a maioria dos neoplasmas que metastizam são de grau III (Rasotto et al., 2017; Gedon et al., 2020).

### **1.7.3. Idade**

A idade é considerada por alguns estudos como um fator relevante de prognóstico, considerando que animais diagnosticados em idade mais avançada têm tendencialmente tumores malignos e com maior grau de malignidade do que animais mais jovens, tendo por isso um pior prognóstico (Chang et al., 2005; Gedon et al., 2020). Um estudo pontual

relata o intervalo de idades entre os nove e os onze como tendo o menor tempo de sobrevivência. (Chang et al., 2005; Peña et al., 2013; Gedon et al., 2020).

#### **1.7.4. Estadiamento clínico**

O estadiamento clínico é também um fator importante, sendo que, podemos agrupar os animais em dois grupos: os animais classificados com nível I, II ou III e aqueles classificados com nível IV ou V. Para os animais com nível IV ou V, o prognóstico é bastante pior, com um tempo de sobrevivência que ronda os seis meses, pois já estão presentes metástases (Chang et al., 2005; Peña et al., 2012; Santos et al., 2013).

#### **1.7.5. Tempo entre o diagnóstico e a cirurgia**

O tempo que decorre entre o diagnóstico e a intervenção cirúrgica, pode ser considerado como um fator de prognóstico. Assim, quanto mais tempo passar entre os dois acontecimentos, maior a probabilidade de metastização e maior será o crescimento tumoral, principalmente se for maligno (Chang et al., 2005).

#### **1.7.6. Tamanho tumoral**

Foi estabelecida uma relação entre o tamanho tumoral e o comportamento da massa, ou seja, tumores de maiores dimensões e com crescimento rápido, estão associados a um maior índice proliferativo e, conseqüentemente, a um maior grau de malignidade (Alenza et al., 2000; Ferreira et al., 2009; Whitrow et al., 2019; Gedon et al., 2020).

Tumores benignos são visivelmente mais pequenos do que tumores malignos, sendo que, um aumento de poucos milímetros no diâmetro de uma massa poderá significar alterações histopatológicas significativas, com elevado impacto no prognóstico do animal (Sorenmo et al., 2009; Sorenmo et al., 2011; Gedon et al., 2020).

Assim, animais com massas de dimensões superiores a 3 cm têm maior probabilidade de terem tumores malignos e têm por isso um pior prognóstico, estando associadas a tempos de sobrevivência inferiores (Peña et al., 2013; Vail et al., 2019; Gedon et al., 2020).

### **1.7.7. Biomarcadores tumorais**

As células tumorais produzem e libertam proteínas específicas que podem ser medidas nos tecidos, sangue ou até na urina (Kaszak et al., 2018). Estas proteínas denominam-se de biomarcadores tumorais e dão-nos informação importante relativamente ao estadiamento, resposta a tratamento e prognóstico (Kaszak et al., 2018; Gray et al., 2020).

Nos tumores mamários estes biomarcadores são determinados principalmente no tecido mamário através de técnicas de imunohistoquímica, sendo que, os principais são: Ki-67, recetores de estrogénios (ER), recetores de progesterona (PR), a ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e o recetor epidérmico do fator de crescimento (HER- 1 e 2) (Kaszak et al, 2018).

#### **1.7.7.1. Biomarcadores de proliferação e apoptose celular**

A determinação do potencial de proliferação de um tumor é essencial para antever o seu comportamento pois, tumores malignos e com um comportamento mais invasivo tendem a ter uma taxa de proliferação mais elevada e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de metastizar (Queiroga et al., 2011; Carvalho et al., 2016; Rodrigues et al., 2016; Kaszak et al., 2018).

- **Ki-67**

A medição deste marcador pode ser feita tanto por imunohistoquímica de tecido mamário como através de uma PAAF da glândula mamária, o que constitui uma vantagem no que toca ao estadiamento inicial (Kaszak et al., 2018).

Pode então ser estabelecida uma correlação direta entre os níveis de Ki-67 expressos e as características tumorais, entre as quais: tamanho, tipo histológico, índice de mitoses, grau de malignidade, polimorfismo nuclear e grau de diferenciação (Rodrigues et al., 2016; Kaszak et al., 2018). Ou seja, níveis elevados estão associados a tumores com taxa de crescimento/proliferação elevadas, com maior grau de malignidade, maior tamanho e maior probabilidade de metastizar (Queiroga et al., 2011; Carvalho et al., 2016; Rodrigues et al., 2016; Kaszak et al., 2018).



### 1.7.7.2. Biomarcadores de angiogénese

- Recetores hormonais

Como mencionado anteriormente as hormonas sexuais, estrogénios e progesterona, são essenciais para o desenvolvimento do tecido mamário, constituindo os biomarcadores mais estudados para a caracterização de tumores mamários (Spoerri et al., 2005; Sorenmo et al., 2011; Kaszal et al., 2018).

Estudos demonstram que tanto o tecido mamário neoplásico como o normal apresentam recetores de estrogénios e de progesterona (Sleeckx et al., 2011; Millanta et al., 2015; Spoerri et al., 2015).

Os níveis expressos em casos de neoplasias, estão diretamente relacionados com o grau de malignidade tumoral, mas não só, podendo ser também estabelecidas relações com o tamanho tumoral, o estadiamento clínico ou com a presença de metástases (Chang et al., 2009).

Relativamente aos recetores de estrogénios, existem duas isoformas, o ER- $\alpha$  e o ER- $\beta$ , sendo que aquele com valor prognóstico mais estudado é o ER- $\alpha$  (Queiroga et al., 2011).

O papel do ER- $\alpha$  é estimular o crescimento e o desenvolvimento tecidual, verificando-se que a sua expressão é superior em casos de displasias e tumores benignos, do que em carcinomas, onde se verifica uma diminuição significativa (Millanta et al., 2005; Mulas et al., 2005; Spoerri et al., 2015). Para além disto, é ainda possível estabelecer a existência de uma correlação inversa entre a presença destes recetores de estrogénios e os índices de proliferação nuclear. Ou seja, tumores clinicamente mais agressivos e malignos, com índices de proliferação e probabilidade de metastização elevadas têm menos recetores de estrogénios (Queiroga et al., 2011; Peña et al., 2013; Sorenmo et al., 2019; Gray et al., 2020).

Os ER- $\beta$ , têm uma função oposta aos anteriores, sendo responsáveis pela supressão do crescimento tecidual, podendo mesmo funcionar como supressores tumorais (Maehle et al., 2009). A sua expressão está tendencialmente associada a tumores benignos, sendo que, a sua presença em tumores malignos de baixo grau de malignidade, constitui um bom fator de prognóstico (Queiroga et al., 2011).

Níveis mais elevados destes recetores foram detetados em tumores de animais mais jovens, não castrados e com ciclos éstricos regulares (Gray et al., 2020).

Relativamente à expressão dos recetores de progesterona, não se verificaram alterações significativas entre os valores existentes em tecido normal, displásico ou em neoplasias benignas. Porém, em tumores malignos, os níveis expressos reduzem, sendo este um fator de prognóstico importante (Milanta, 2005; Mulas et al., 2005; Chang et al., 2009).

Os PR têm um valor preditivo significativo no que toca à recorrência em cadelas submetidas a tratamento cirúrgico, sendo que, a ausência destes recetores por norma está associada a mau prognóstico (Chang et al., 2009; Queiroga et al., 2011; Peña et al., 2013).

Em suma, estudos apontam que a presença de ambos os recetores no tecido mamário está normalmente associada a tumores benignos e menos invasivos, enquanto a ausência de ambos se correlaciona com um pior prognóstico (Millanta et al., 2005; Sleenckx et al., 2011; Spoerri et al., 2015; Kaszak et al., 2018).

- Recetor epidérmico do fator de crescimento (HER-1 e HER-2)

O HER-1 é um recetor transmembranar de tirosina quinase, associado a fenómenos de angiogénese e de aumento da atividade metastática (Kaszak et al., 2018). Assim, a sua presença em grandes quantidades está associada a tumores de grandes dimensões, com necrose/ulceração, elevado grau de malignidade e maior probabilidade de terem já metastizado (Queiroga et al., 2011; Kaszak et al., 2018).

O recetor HER-2 pertence à mesma família e é responsável pela regulação do crescimento, diferenciação e sobrevivência das células tumorais (Kaszak et al., 2018). A sua expressão tem um valor prognóstico e preditivo significativo, verificando-se uma correlação positiva entre a sua presença e o índice proliferativo, grau de malignidade e classificação histológica do tumor (Queiroga et al., 2011; Peña et al., 2013; Vail et al., 2019; Gray 2020).

### 1.7.7.3. Biomarcadores de inflamação

- COX-2

A ciclo-oxigenase (COX) é uma enzima que cataliza a produção de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico. Esta enzima apresenta duas isoformas, COX-1 e COX-2, que são produzidas por genes diferentes e desempenham também funções diferentes (Queiroga et al., 2007; Kaszak et al., 2018).

A COX-1 está presente em vários tecidos e é essencial para a regulação da função normal de vários órgãos, tais como o rim, o sistema reprodutor e o estômago. Já a COX-2 não se encontra presente nos tecidos saudáveis, sendo que, a sua produção é estimulada pela presença de reações inflamatórias, fatores de crescimento tumoral e oncogenes (Queiroga et al., 2007; Kaszak et al., 2018).

Durante um processo neoplásico existe sempre um processo inflamatório associado, sendo que são libertados mediadores da inflamação como as citocinas e as quimoquinas, que promovem a angiogénese e o crescimento tumoral (Carvalho et al., 2016; Kaszak et al., 2018). A presença destes mediadores estimula a produção de COX-2, fazendo com que os níveis em circulação aumentem significativamente (Carvalho et al., 2016).

Segundo Queiroga et al., os níveis de COX-1 detetados em tecido normal e em tecido tumoral, tanto maligno como benigno, foram semelhantes no estudo realizado. Porém, relativamente aos níveis de COX-2, verificaram-se grandes diferenças, sendo que, a sua expressão é praticamente nula em tecido normal e bastante elevada em tecido tumoral, especialmente em tumores malignos (Queiroga et al., 2007).

Uma vez que existe a possibilidade de um tumor benigno evoluir para um maligno, a expressão de quantidades elevadas de COX-2 poderá ser um forte indicador desta mudança, permitindo antever este desfecho e atuar em conformidade (Queiroga et al., 2007; Kaszak et al., 2018).

A presença de COX-2 nos tecidos mamários não neoplásicos adjacentes ao tumor poderá indicar o comprometimento dos mesmos e o aumento da probabilidade de recidivas (Kaszak et al., 2018).

Tumores que expressem este biomarcador têm uma grande probabilidade de resposta a tratamento com inibidores da COX-2 como o meloxicam ou o piroxicam, que, ao inibirem

a expressão desta enzima, vão diminuir a angiogénese e o crescimento tumoral (Kaszak et al., 2018).

## **1.8. Tratamentos**

A abordagem terapêutica ao paciente com neoplasia mamária pode ser feita de três formas distintas: cirurgia, tratamento médico ou radioterapia (Novosad, 2003; Sorenmo et al., 2003; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

O tratamento de eleição é o cirúrgico, exceto em casos de carcinoma inflamatório ou tumores inoperáveis e/ou com metastização em vários órgãos (Queiroga et al., 2002; Novosad, 2003; Sorenmo et al., 2003; Sleenckx et al., 2011; Cassali et al., 2020).

Em casos mais graves, como tumores de elevado grau de malignidade ou metastização regional, pode ser necessário fazer uma associação entre duas ou mais destas modalidades para obter uma maior taxa de sucesso (Sorenmo et al., 2003; Vail et al., 2019).

### **1.8.1. Abordagem cirúrgica**

A excisão cirúrgica constitui o método de eleição no tratamento de tumores mamários, exceto no caso do carcinoma inflamatório e de tumores inoperáveis com elevada disseminação metastática (Novosad, 2003; Sleenckx et al., 2011; Cassali et al., 2020).

O objetivo da cirurgia é alcançar a cura ou, quando isto já não é possível, melhorar a qualidade de vida e atrasar a progressão da doença. A excisão das massas deve ser feita com margens amplas e limpas, permitindo o diagnóstico por histopatologia e minimizando a probabilidade de progressão da lesão tumoral (Sorenmo et al., 2003; Fossum 2013, Cassali et al., 2020).

Uma vez que podem estar presentes massas em mais do que uma glândula mamária e estas podem ser histologicamente diferentes entre si, é importante realçar que todas elas devem ser removidas (Fossum, 2013; Sleenckx et al., 2019; Vail et al., 2019).

A escolha da técnica cirúrgica é algo que ainda gera algum debate, com médicos a defender intervenções mais agressivas com o objetivo de prevenção e outros, a

defenderem intervenções menos invasivas (Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). Os critérios de decisão devem ter por base: tamanho tumoral, localização, consistência, envolvimento dos linfonodos, estadiamento clínico e estado geral do animal (Horta et al., 2014; Cassali et al., 2019; Vail et al., 2019). No processo de seleção a preferência do cirurgião e do médico que acompanha o caso terão também uma grande influência (Cassali et al., 2020).

Podemos diferenciar quatro técnicas cirúrgicas: a lumpectomia/nodulesctomia, a mastectomia simples, a mastectomia regional e a mastectomia radical (Fossum, 2013; Cassali et al., 2020).

A lumpectomia ou nodulesctomia consiste na remoção circunscrita de uma massa juntamente com algum tecido saudável para ter margens seguras (Fossum, 2003). Esta técnica é utilizada em massas com um tamanho inferior a 5 mm, encapsuladas, não invasivas e localizadas na periferia da glândula (Fossum,2003; Horta et al., 2014; Cassali et al., 2020).

A mastectomia simples consiste na remoção da glândula mamária completa. É utilizada quando a massa está presente no centro da glândula tornando mais difícil a remoção por lumpectomia (Fossum, 2003; Cassali et al., 2020).

A mastectomia regional consiste na remoção da glândula mamária afetada pelo nódulo tumoral e das glândulas adjacentes (Fossum, 2003). Esta técnica é utilizada quando temos vários tumores presentes ou quando o tumor se localiza entre duas glândulas mamárias, mas, também poderá ser utilizada de forma preventiva, sempre associada a exame histopatológico (Fossum, 2003; Horta et al., 2003; Cassali et al., 2020).

Como explicado anteriormente, algumas glândulas partilham a mesma drenagem linfática (Pereira et al. 2003; Patsikas et al., 2006; Stan et al., 2009). Assim, a remoção em bloco destas glândulas e dos linfonodos envolvidos, diminui o risco de metastização e de recidiva tumoral (Cassali et al., 2020).

Os critérios para aplicação desta técnica são também discutíveis, porém, se a avaliação for feita consoante a localização define-se que: (Cassali et al., 2020)

- Tumor em M1 – remoção de M1 e M2 juntamente com o linfonodo axilar;

- Tumor em M2 – remoção de M1, M2 e M3 juntamente com o linfonodo axilar;
- Tumor em M3 – não se aplica esta técnica, a remoção deverá ser total unilateral;
- Tumor em M4 – remoção de M3, M4 e M5 juntamente com o linfonodo inguinal superficial;
- Tumor em M5 – remoção de M4 e M5, juntamente com o linfonodo inguinal superficial.

Para além do critério localização, é importante definir que esta técnica deve ser aplicada em massas com fatores de prognóstico relativamente favoráveis e que aparentemente não são muito agressivas (Cassali et al., 2020). Isto é, massas com tamanho inferior a 3 cm, sem aderências, ulcerações ou sinais de inflamação e de crescimento lento (Fossum, 2003; dos Santos Horta et al., 2014; Cassali et al., 2020).

A mastectomia total uni- ou bilateral consiste na remoção completa de uma ou das duas cadeias mamárias (Fossum, 2003). Quando se opta por uma remoção total bilateral, devem ser planeadas duas intervenções cirúrgicas, uma para cada cadeia mamária, pois, o encerramento é muito difícil e o pós-cirúrgico muito doloroso se as duas cadeias forem removidas em simultâneo (Fossum, 2003; Cassali et al., 2020).

A aplicação desta técnica é indicada em casos de tumores múltiplos, massas com localização em M3, mesmo que únicas, e tumores com maus fatores de prognóstico, tais como: tamanho superior a 3 cm, crescimento rápido, presença de metástases, sinais de ulceração, inflamação ou aderências (Fossum, 2003; Cassali et al., 2020).

As margens tumorais devem ser de 1 a 2 cm de tecido saudável e, caso o tumor esteja aderido ao músculo, devem ser removidas também fâscias do mesmo (Fossum, 2003).

A remoção dos linfonodos é sempre recomendada para comprovar se estão ou não comprometidos e minimizar a probabilidade de metástases. O linfonodo inguinal superficial é facilmente removido quando se remove M5, devido à sua proximidade da glândula e fácil exposição (Fossum, 2003; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). Por outro lado, o linfonodo axilar pode ser difícil de encontrar se não estiver aumentado e, por isso, deverá ser removido sempre que existam evidências do seu envolvimento e sempre que se conseguir uma boa visualização do mesmo (Fossum, 2003; De Araújo et al., 2015; Cassali et al., 2020).

### **1.8.1.1. Anestesia local**

A mastectomia é uma técnica que causa bastante dor tanto no intra- como no pós-cirúrgico, devido à grande quantidade de tecidos que são removidos (Fossum, 2003). Assim, com vista à obtenção de um bom manejo de dor deve-se recorrer a uma analgesia multimodal, que consiste na administração de fármacos tanto por via sistémica como local/regional (Fossum, 2003; Grubb et al., 2020).

Os bloqueios locais/locoregionais impedem a propagação do estímulo da dor, bloqueando por completo a nociceção e demonstram ter menos reações adversas do que as drogas administradas por via sistémica (Grubb et al., 2020; Sanches et al., 2020).

A anestesia tumescente consiste numa técnica de anestesia local na qual se infiltram grandes áreas com soluções diluídas de anestésicos locais, como a lidocaína ou a ropivacaína, associados a vasoconstritores como a adrenalina (Credie et al., 2013; Sanches et al., 2020). Como são soluções diluídas, podem ser utilizadas grandes quantidades sem risco de toxicidade (Credie et al., 2013).

As soluções tipicamente utilizadas consistem numa mistura de lidocaína e adrenalina diluídas em lactato de ringer (Credie et al., 2013; Sanches et al., 2020). A aplicação deve ser feita usando uma cânula de Klein, pois, para além de um grande diâmetro esta também apresenta furos laterais que facilitam a dispersão (Credie et al., 2013; Sanches et al., 2020).

O uso deste tipo de anestesia tem inúmeras vantagens descritas, tais como: analgesia intra- e pós-cirúrgica, diminuição da hemorragia intra-cirúrgica e hidrodisecação dos tecidos, o que facilita o procedimento cirúrgico, minimizando o trauma tecidual e diminuindo o tempo do procedimento (Credie et al., 2013).

### **1.8.1.2. Técnica cirúrgica**

O procedimento cirúrgico é semelhante em qualquer glândula mamária, variando apenas na extensão de tecido removido.

Relativamente à técnica cirúrgica podemos definir os seguintes passos: (Fossum, 2013)

- I. Fazer uma incisão elíptica em torno das glândulas mamárias a remover e a cerca de 1 cm da massa, como é demonstrado na figura 3;



**Figura 3** - Incisão elítica em torno das glândulas mamárias a remover. Imagem original.

- II. Continuar a incisão pelo tecido subcutâneo até alcançar a fáscia da parede abdominal externa;
- III. Elevar uma das pontas da incisão e iniciar o desbridamento do tecido cutâneo com uma tesoura. A aplicação de tração no fragmento a remover facilita a dissecação;
  - a. As glândulas abdominais e inguinais são facilmente desbridadas e removidas pois estão ligadas a uma grande quantidade de gordura e tecido conjuntivo. Por outro lado, as glândulas torácicas estão bastante aderidas aos músculos peitorais, tornando o desbridamento e remoção mais difíceis;
  - b. Se a excisão for das glândulas inguinais, o linfonodo inguinal superficial, deverá sair juntamente com M5;
  - c. Por outro lado, se a excisão for de glândulas torácicas e houver sinais de envolvimento do linfonodo este deve ser removido separadamente da ressecção em bloco;
- IV. Ao encontrar os vasos principais, fazer ligaduras de transfixação nas seguintes localizações:
  - a. Os ramos das artérias que irrigam as glândulas torácicas, devem ser ligados no local de penetração nos músculos peitorais;
  - b. A artéria epigástrica cranial superficial deve ser ligada no local de entrada no reto abdominal (entre M2 e M3);



- c. A artéria epigástrica caudal superficial deve ser ligada junto à gordura inguinal localizada junto ao anel inguinal, como ilustrado na figura 4.



**Figura 4** - Ligadura da artéria epigástrica superficial caudal. Imagem original.

- V. Fazer a excisão em bloco e lavar a ferida;
- VI. Verificar se a hemóstase foi realizada corretamente e de forma suficiente e que não está presente qualquer tecido anormal;
- VII. Desbridar a pele de cada lado da ferida cirúrgica para obter maior elasticidade;
- VIII. Aproximar a pele de ambos os bordos até ao centro e fixá-la com pinças de Allis, como ilustrado na figura 5;



**Figura 5** - Aproximação da pele com pinças de Allis. Imagem original.

- IX. Aplicar “walking sutures” para aproximar os dois bordos e diminuir o espaço morto;
  - a. Caso exista muito espaço morto poder-se-á optar pela colocação um dreno para evitar a acumulação de fluido.
- X. Fazer a aposição dos bordos com uma sutura subcutânea com fio monofilamentoso absorvível 3-0/ 4-0;
- XI. Encerrar o defeito com uma sutura intradérmica com fio monofilamentoso absorvível e, se necessário, fazer pontos externos com fio monofilamentoso não absorvível. Resultado final ilustrado na figura 6.



**Figura 6** - Resultado final de uma mastectomia unilateral total. Imagem original.

### **1.8.1.3. Pós-cirúrgico**

Por se tratar de uma cirurgia bastante dolorosa e com feridas cirúrgicas extensas, deverá ser feito um penso que proteja a sutura e deverão ser administrados analgésicos opióides, anti-inflamatórios, antibióticos, quando necessário, e tratamento de suporte (Fossum 2013).

Nos primeiros dois a três dias o penso deverá ser trocado diariamente e a sutura inspecionada para descartar a presença de complicações, sendo que, as principais são: inflamação, edema, hemorragia, enfisema subcutâneo, deiscência de pontos, necrose, hematoma ou seroma (Fossum, 2013; Horta et al., 2015).

Se o animal evoluir de acordo com o esperado, os pontos deverão ser removidos dez dias após a cirurgia. Consoante a dimensão da sutura e a evolução podem ser removidos todos de uma vez ou podem ser removidos a dois tempos (Fossum, 2013).

## **1.8.2. Terapia médica**

A terapia médica pode ser usada no pós-cirúrgico, de forma adjuvante ou pode ser utilizada isoladamente em casos de tumores com metástases distantes, inoperáveis ou em carcinomas inflamatórios (Novosad, 2003; Sleenckx et al., 2011; Cassali et al., 2020).

Podemos definir quatro modalidades de terapêuticas médicas, sendo elas: quimioterapia, utilização de fármacos não quimioterápicos, hormonoterapia e radioterapia (Sleenckx et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). Estas modalidades podem ser combinadas entre si por forma a obter um maior sucesso e aumentar a esperança média de vida do animal (Sleenckx et al., 2011; Vail et al., 2019).

### **1.8.2.1. Quimioterapia**

A quimioterapia consiste na utilização de drogas com efeito citotóxico que atuam nas células tumorais em divisão, interferindo com o ciclo de replicação celular. Estes fármacos atuam de três formas principais: interferindo com a replicação do ADN, inibindo as mitoses e/ou induzindo a apoptose (Vail et al., 2019).

Esta terapêutica pode ser selecionada como: primária, adjuvante, neoadjuvante, de consolidação, de manutenção, de resgate, paliativa ou de radiosensibilização (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). A sua utilização de forma primária destina-se a casos de tumores inoperáveis ou tumores cientificamente reconhecidos como responsivos a determinados agentes quimioterápicos, como os tumores hematopoiéticos (Vail et al., 2019).

A quimioterapia adjuvante é realizada após a terapia definitiva (cirurgia ou radioterapia) e o seu objetivo é assegurar o sucesso da mesma. Ou seja, é aplicada com o intuito de erradicar micrometástases que possam estar presentes, eliminar células tumorais remanescentes, em casos em que a excisão não foi com margens limpas, e minimizar a

probabilidade de reaparecimento tumoral. A sua utilização é sempre recomendada em casos de tumores agressivos, com probabilidades de metastização elevadas e em animais com um estadiamento clínico de grau IV ou V (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

A quimioterapia neoadjuvante é realizada antes da terapêutica definitiva e o seu objetivo é contribuir para a eficácia da mesma. Isto é, a sua aplicação pretende diminuir o tamanho do tumor para facilitar a excisão cirúrgica ou diminuir o grau de estadiamento clínico (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

A quimioterapia paliativa é utilizada em tumores com metástases disseminadas por todo o corpo e /ou inoperáveis, que diminuem a qualidade de vida do animal. O objetivo deste tipo de quimioterapia é reduzir os sinais clínicos e a dor do animal melhorando a sua qualidade de vida e prolongando ao máximo a sua sobrevivência (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

A quimioterapia pode ainda ser usada em combinação com a radioterapia para aumentar a sensibilização das células tumorais à radiação. Os mecanismos pelos quais isto ocorre estão relacionados com a citoredução e alteração vascular que aumentam a oxigenação das células, e com a destruição seletiva das células resistentes à radiação (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020).

Nos protocolos de quimioterapia o mais frequente será a utilização de uma combinação de fármacos, pois esta demonstra uma maior eficácia do que a utilização de um só agente. A eficácia superior está relacionada com o facto de as terapias combinadas permitirem alcançar uma maior destruição de células malignas, dentro dos limites máximos de toxicidade nos quais os fármacos podem ser aplicados, e diminuir o desenvolvimento de resistências aos fármacos usados (Vail et al., 2019).

Nos protocolos combinados devem ser utilizados apenas fármacos cuja eficácia contra o tumor em terapias simples seja comprovada, e, de preferência, fármacos que induzam a remissão. Para além disto, os agentes, sempre que possível, não devem ter toxicidades coincidentes e devem ser utilizadas as doses ótimas (Vail et al., 2019).

Outra abordagem possível é a quimioterapia metronómica. Este tipo de quimioterapia consiste na administração de fármacos quimioterápicos em doses baixas e minimamente

tóxicas por um longo período, sem interrupções (Mutsaers et al., 2009; Gaspar et al., 2018). Por serem administrados de forma contínua, permitem que as células tumorais fiquem expostas por mais tempo aos fármacos potenciando uma maior destruição celular (Mutsaers et al., 2009).

Este tipo de quimioterapia pode ser utilizada como cuidado paliativo em animais cujo tumor está em estado avançado, com metástases disseminadas pelo corpo (Gaspar et al., 2018). Por ser uma terapêutica fácil de administrar, económica e com poucos efeitos secundários, é cada vez mais utilizada pela classe veterinária (Mutsaers et al., 2009; De campos et al., 2018).

Nesta terapêutica podemos distinguir quatro mecanismos de ação: (Mutsaers et al., 2009; Gaspar et al., 2018)

- efeito antiangiogénico, inibindo a formação de novos vasos sanguíneos, necessários para o crescimento da massa;
- reforça a ação do sistema imunitário contra as células neoplásicas;
- elimina as células responsáveis pelo início da formação de tecido neoplásico;
- impulsiona o tumor a entrar numa fase de dormência, onde não há crescimento e a formação de novas células neoplásicas é igual à apoptose das células já presentes.

Por norma, este tipo de terapêutica é associada a outros fármacos, como por exemplo, os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) ou a agentes antiangiogénicos e imunomoduladores como a ciclofosfamida. Também pode fazer-se a associação ente este tipo de quimioterapia e ciclos pontuais de quimioterapia regular (Mutsaers et al., 2009; De campos et al., 2018; Gaspar et al., 2018)

### **1.8.2.2. Agentes quimioterápicos**

Os agentes quimioterápicos descritos como mais eficazes contra tumores mamários malignos são: ciclofosfamida, carboplatina, 5-fluorouracilo e a doxorrubicina (Sorenmo et al., 2003; Polton, 2009; Karayannopoulou et al., 2016; Cassali et al., 2020).

A ciclofosfamida pertence ao grupo dos agentes alquilantes e o seu mecanismo de ação é a interferência com a replicação do ADN (ácido desoxirribonucleico) (Karayannopoulou et al., 2016). Pode ser administrada por via oral ou endovenosa (IV) (Ramirez et al., 2019). É frequentemente utilizada como primeira linha em protocolos combinados para tratamento de carcinomas mamários juntamente com o 5- fluorouracil, havendo estudos comprovativos dos seus resultados benéficos na sobrevida dos animais (Karayannopoulou et al., 2001; Sorenmo et al., 2003). O principal efeito secundário deste fármaco é a neutropenia, sendo que os efeitos a nível gastrointestinal são pouco frequentes (Todorova et al., 2005; Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019).

A doxorrubicina pertence ao grupo dos antibióticos anti-tumorais e atua interferindo com a replicação do ADN e do ARN (ácido ribonucleico) inibindo as mitoses, a sua administração é IV e deve ser lenta, pois, caso contrário, poderá desencadear um choque anafilático (Todorova et al., 2005; Vail et al., 2019). Pode ser administrada como agente único ou em protocolos combinados para vários tumores, inclusive para o carcinoma mamário e seus efeitos secundários mais conhecidos são a nível gastrointestinal, mielossupressão e cardiotoxicidade em cães (Todorova et al., 2005; Vail et al., 2019).

O 5- fluorouracil pertence ao grupo dos antimetabolitos e o seu mecanismo de ação passa por inibir o crescimento e a divisão celular. É administrado IV e é utilizado em tumores epiteliais (tumores de mama, hepáticos, pancreáticos e renais). Os seus efeitos secundários dependem da dose utilizada e variam desde mielossupressão a alterações gastrointestinais ou neurotoxicidade (Vail et al., 2019).

A carboplatina pertence ao grupo dos agentes de platina e o seu mecanismo de ação consiste na interferência com a replicação do ADN. É administrada IV e tem efeitos secundários sobretudo a nível gastrointestinal, como vômito e náusea, e a nível renal pois é excretada pela urina (Vail et al, 2019).

Os protocolos terapêuticos utilizados em veterinária e em medicina humana são bastante semelhantes, sendo que, entre os fármacos usados em ambos os protocolos destacam-se o 5-fluoracil, a doxorrubicina e a ciclofosfamida. Em estudos atuais em humanos, terapias como inibidores de tirosina quinase, derivados do carbamato de fluoropirimidina, anticorpos monoclonais, imunoterapia, assim como inibidores de ciclooxigenase e as suas mais distintas associações com drogas citostáticas já estão a ser utilizadas, porém poucos

protocolos estão disponíveis na rotina médico veterinária, embora os cães sejam ótimos modelos para experimentar novas combinações e modalidades de tratamento devido à sua semelhança com os seres humanos (Oliveira et al., 2009; Pierini et al., 2012; Jiang et al., 2020; Saura et al., 2020).

### **1.8.2.3. Agentes não quimioterápicos**

Dentro dos agentes não quimioterápicos com eficácia anti-tumoral devemos salientar os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), como o piroxicam, que é um inibidor da COX-2 e o masitinib, inibidor da tirosina quinase (Sleeckx et al., 2011; Karayannopoulou et al., 2016; Cassali et al., 2020).

Os tumores de mama, como abordado anteriormente, expressam valores elevados de COX-2, principalmente se forem malignos (Queiroga et al., 2007). Assim, o uso de AINEs torna-se claramente uma opção interessante numa abordagem terapêutica multimodal (Karayannopoulou et al., 2016; Cassali et al., 2020).

O piroxicam, é um dos fármacos mais frequentemente utilizados, sendo um inibidor não específico da COX. Atua reduzindo a inflamação e, conseqüentemente, a produção de COX. Em doses elevadas reduz o crescimento das células tumorais e aumenta a apoptose (Karayannopoulou et al., 2016).

O deracoxib é um análogo seletivo da COX-2, que, a doses elevadas, apresenta também um efeito citotóxico e de redução das células tumorais (Karayannopoulou et al., 2016).

O problema quando se pensa na utilização de AINEs *per si* reside nas doses pois para obterem efeitos antiproliferativos e antineoplásticos, estes fármacos têm que ser administrados a doses superiores ao recomendado, o que acarreta efeitos secundários (Ustun et al., 2012; Karayannopoulou et al., 2016). Os principais efeitos secundários que podem advir da utilização de doses elevadas destes fármacos são a nível gastrointestinal, podendo ir desde vômitos e diarreias até ulceração da mucosa gástrica, e a nível renal pela inibição da síntese de prostaglandinas, podendo conduzir a uma diminuição do fluxo sanguíneo que chega ao rim que, pode culminar numa azotémia (Weber et al., 2004 Monteiro-Steagall et al., 2013; Lomas et al., 2015; Eishtad et al., 2016).

Devido a estes efeitos secundários a opção que demonstrou ser mais vantajosa foi a combinação com agentes quimioterápicos como a doxorrubicina ou a carboplatina (Karayannopoulou et al., 2016; Cassali et al., 2020).

Sempre que são incluídos AINEs no protocolo terapêutico, devem ser medidos primeiro os níveis de COX-2 expressos pelo tumor através de imunohistoquímica, por forma a perceber se este tratamento faz ou não sentido. Para além disto ao longo do tratamento estes níveis devem ser monitorizados, para verificar se este está a surtir o efeito desejado ou não (Kaszak et al., 2018; Cassali et al., 2020).

Outros agentes possíveis de serem utilizados são o masitinib e o toceranib, ambos inibidores da tirosina quinase, sendo que, atualmente o único disponível para uso em medicina veterinária é o toceranib (Palladia de nome comercial) (London et al., 2011; Karayannopoulou et al., 2016).

A tirosina quinase é uma enzima associada ao aumento da angiogénese, do crescimento tumoral e da metastização (Karayannopoulou et al., 2016). A utilização de toceranib irá ter efeitos antiangiogénicos e anti-tumorais (London et al., 2011).

O uso deste fármaco tem várias vantagens, nomeadamente a administração por via oral, o que permite uma maior flexibilidade na dosagem e a administração pelos tutores em casa. Como efeitos adversos podem surgir reações a nível gastrointestinal, dermatológico ou renal (London et al., 2011).

Um estudo pontual descreve a existência de uma relação benéfica e segura na combinação de toceranib com o piroxicam, nas suas recomendadas (Chon et al., 2012).

Um fármaco atualmente estudado como terapêutica adjuvante é a desmopressina, porém, o seu uso só se tem revelado benéfico em cadelas com carcinomas de grau III ou IV (Hermo et al., 2008; Hermo et al., 2011; Karayannopoulou et al., 2016).

A desmopressina consiste num derivado sintético da hormona antidiurética (ADH), com propriedades hemostáticas e anti-metastáticas. Assim, a sua administração pré cirúrgica (cerca de 30 minutos antes) e pós cirúrgica (24 horas após) irá melhorar a hemóstase e consequentemente diminuir a disseminação de células tumorais e prevenir a formação de metástases (Hermo et al., 2008; Hermo et al., 2011; Sleenckx et al., 2011; Karayannopoulou et al., 2016).



#### 1.8.2.4. Terapia hormonal

O recurso a uma terapêutica hormonal em animais não esterilizados está relacionado com o facto destes tumores serem marcadamente hormonodependentes e continuarem o seu crescimento devido à influência hormonal (Mol et al., 2005; Sorenmo et al., 2011).

Esta terapia poderá ser cirúrgica, através da realização de OVH, ou médica, pela administração de fármacos com efeitos hormonal. O objetivo é interromper a ação das hormonas e consequentemente atrasar/reduzir o desenvolvimento tumoral (Novosad, 2003; Sorenmo et al., 2003; Vail et al., 2019).

A aglepristona, é um antagonista competitivo da progesterona que tem sido utilizado como terapêutica neoadjuvante para redução tumoral (Karayannopoulou et al., 2016; Vail et al., 2019). Este fármaco irá atuar ligando-se aos recetores de progesterona e impedindo que esta hormona se ligue e exerça o seu efeito. Assim, comprova-se que este fármaco tem um efeito antiproliferativo sobre os carcinomas mamários, diminuindo o índice de proliferação celular (Guil-Luna et al., 2011).

Para além de ser utilizada como terapêutica neoadjuvante, a aglepristona é usada em veterinária como tratamento para situações fisiológicas e patológicas que sejam dependentes da ação da progesterona, tais como: terminar uma gestação, indução de parto ou tratamento conservativo de piómetra abertas (Gogny et al., 2016).

O tamoxifeno, antagonista dos recetores de estrogénio, tem demonstrado efeitos secundários significativos, principalmente efeitos pró-estrogénicos como inchaço vulvar, corrimento vulvar ou piómetra, pelo que, a sua utilização em cães tem sido evitada (Vail et al., 2019; Gray et al., 2020).

A terapia cirúrgica consiste na realização de OVH no momento da mastectomia, sendo que, as opiniões relativamente a este tópico divergem. Alguns autores defendem que a realização de OVH no momento da cirurgia não traz benefícios ao animal nem diminui o risco de reaparecimento tumoral (Alenza et al., 2000; Chang et al., 2005; Vail et al., 2019). Porém, outros, defendem que a realização de OVH no momento da mastectomia ou até dois anos antes diminui a probabilidade de reincidência e aparecimento de tumores (Sorenmo et al., 2003). Os animais que parecem beneficiar mais deste procedimento são aqueles com tumores positivos para recetores de estrogénio, com concentrações de

estrogénio elevadas no pré-cirúrgico ou estadiamento clínico de grau II ou superior (Sorenmo et al., 2000; Kristiansen et al., 2016).

### **1.8.2.5. Radioterapia**

A radioterapia é recorrentemente utilizada em medicina humana, porém o seu uso em animais ainda necessita de mais estudos (Novosad et al., 2003).

É normalmente utilizada para cuidados paliativos ou como neoadjuvante, com o objetivo de reduzir o tamanho de uma massa para se poder partir para cirurgia (Novosad et al., 2003; Lana et al., 2009). Para além disto, pode ainda ser utilizada para minimizar as recidivas de um tumor removido sem margens limpas e minimizar também o aparecimento de metástases (Novosad et al., 2003).

## **2. Estudo epidemiológico sobre tumores mamários em cadelas**

### **2.1. Introdução**

Os tumores mamários são as neoplasias mais comuns em cadelas não esterilizadas, constituindo 25 a 50% de todas as neoplasias que surgem nestes animais (Queiroga et al., 2002; Milanta, 2005; Roberta et al., 2017).

Vários estudos defendem a existência de fatores que predispõe para o aparecimento destas neoplasias, entre eles: fatores hormonais, genéticos e nutricionais (Sleeckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019).

No presente trabalho será apresentado um estudo epidemiológico relativo a tumores mamários em cadelas, onde é feita a caracterização relativamente à raça, idade, estado sexual, número de gestações, utilização de medicação contraceptiva e gestações psicológicas. Para além disto, é descrito o processo de estadiamento tumoral utilizado bem como as opções terapêuticas adotadas.

### **2.2. Objetivo**

Com o desenvolvimento deste estudo, o principal objetivo foi avaliar a presença de fatores de risco que contribuam para o aparecimento de neoplasias mamárias, bem como perceber quais as neoplasias mais frequentemente diagnosticadas.

Para isso, foi recolhida informação da anamnese de todas as cadelas diagnosticadas com tumores mamários e os tumores removidos cirurgicamente foram analisados por histopatologia.

## **2.3. Materiais e métodos**

O presente estudo foi realizado durante o período de 13 de setembro de 2020 a 13 de março de 2021, no Hospital Veterinário e Universitário de Coimbra. Foram incluídas nesta pesquisa as cadelas diagnosticadas com tumores mamários neste período.

Este trabalho é dividido em três momentos: o preenchimento do inquérito e a caracterização inicial dos tumores, o estadiamento clínico e a análise histológica das neoplasias removidas cirurgicamente.

### **2.3.1. Inquérito e caracterização inicial dos tumores**

Na primeira consulta foi realizado pelo médico veterinário um inquérito (Anexo I), onde constavam as seguintes questões:

1. Nome da paciente;
2. Idade da paciente;
3. Raça da paciente;
4. A paciente é esterilizada? Se sim, com que idade?
5. Em algum momento administrou medicação contraceptiva? Se sim, quanto tempo?
6. A paciente já teve alguma gestação? Se sim, quantas vezes?
7. A paciente já desenvolveu gestações psicológicas?

Após a resposta a este inquérito, procedeu-se ao exame físico da paciente com o objetivo de avaliar as neoformações através dos seguintes procedimentos: localização na cadeia mamária envolvida, avaliação do tamanho das neoformações e da presença de características relativas à malignidade, como ulceração, inflamação ou aderências e, por último, avaliação do envolvimento dos linfonodos através de palpação.

### **2.3.2. Estadiamento tumoral**

Após o diagnóstico clínico, foram propostos a cada tutor dois métodos de estadiamento tumoral, ambos disponíveis no hospital, sendo eles o raio-x torácico combinado com ecografia abdominal ou a TC torácica e abdominal, assim como análises bioquímicas

séricas sanguíneas, incluindo fosfatase alcalina (FA), ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), glucose, albumina e cálcio.

Os linfonodos sentinela foram avaliados por palpação e, posteriormente, aqueles que foram cirurgicamente removidos foram submetidos a análise histopatológica. Não foi realizada marcação dos linfonodos sentinela.

### **2.3.3. Técnica Cirúrgica**

A técnica cirúrgica utilizada foi escolhida de acordo com as características das neoplasias presentes e com a preferência do cirurgião. Foram utilizadas no total quatro técnicas diferentes: nodulectomia, mastectomia regional, mastectomia simples e mastectomia total.

### **2.3.4. Análise histopatológica**

Todos os tumores removidos cirurgicamente e autorizados pelos tutores, foram analisados histologicamente para obter a classificação tumoral. Assim, os tumores removidos em cirurgia eram conservados em formol a 10% e enviados para o laboratório de histopatologia de referência, onde eram analisados, e um resultado era emitido pelos mesmos.

Os laboratórios escolhidos foram: UTAD (oito análises), DNATECH (uma análise) e INNO (uma análise). A classificação feita nestes laboratórios está de acordo com a classificação publicada por Goldschmidt em 2011.

### **2.3.5. Análise estatística**

Foi realizada a estatística descritiva da amostra com recurso ao programa Microsoft Excel (Microsoft Office 2021, Microsoft Corporation, Washington, EUA).

## 2.4. Resultados<sup>1</sup>

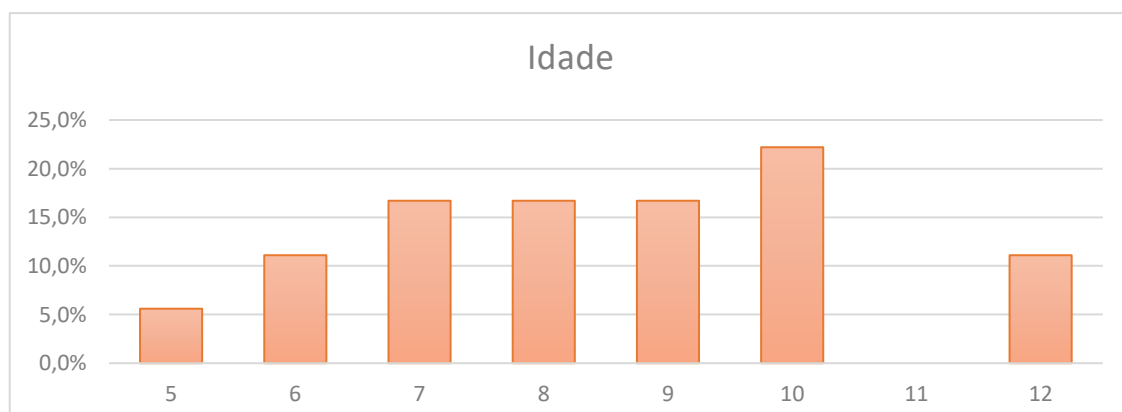
### 2.4.1. Caracterização da população

Neste estudo participaram 18 cadelas diagnosticadas com tumores mamários no Hospital Veterinário e Universitário de Coimbra, no período compreendido entre 13 de setembro de 2020 e 13 de março de 2021. Estas cadelas foram submetidas a estadiamento tumoral e para cada uma foi delineado um plano terapêutico específico.

#### 2.4.1.2. Idade

Tal como demonstrado no gráfico 3, o intervalo de idades verificado foi entre os cinco e os doze anos, sendo que, a idade mais frequente foram os dez anos. Cerca de metade da população estudada tinha entre sete e nove anos, sendo que, a média de idade são oito anos e meio.

**Gráfico 3** - Caracterização da população em estudo relativamente à idade (em anos) que apresentam no momento de diagnóstico (n = 18).

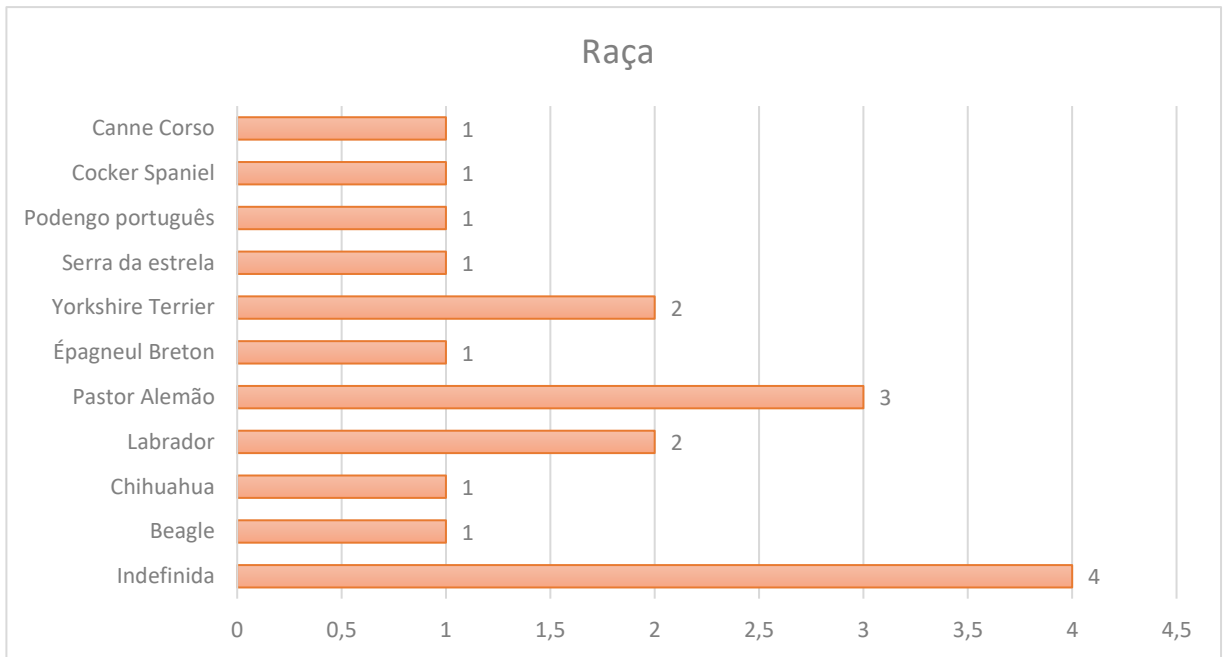


<sup>1</sup> Os resultados aqui apresentados foram obtidos em co-autoria com a Mestre Karla Cardoso.

### 2.4.1.3. Porte e raça

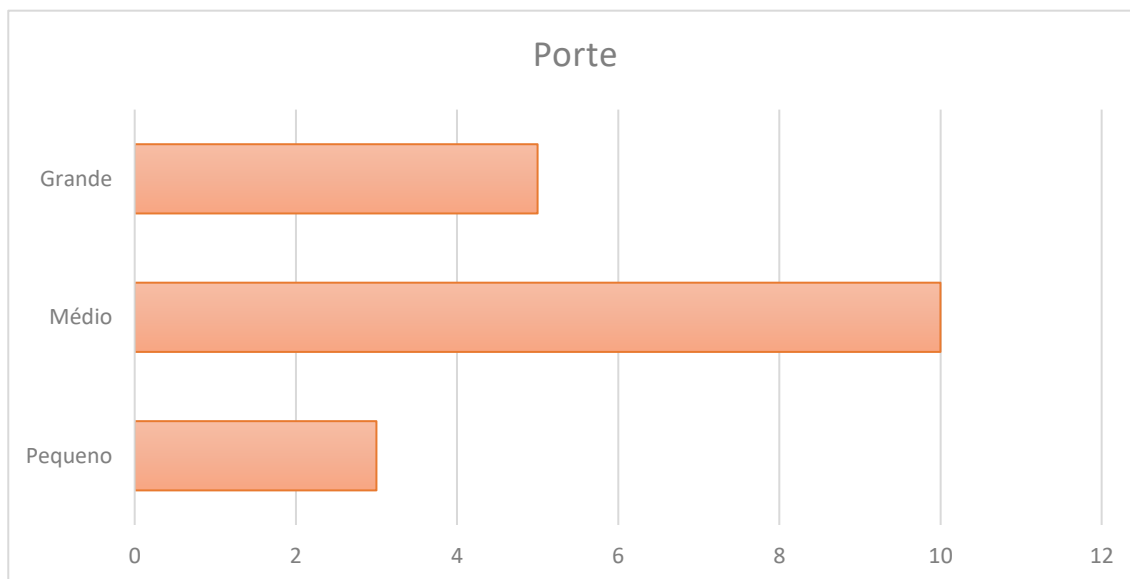
Relativamente à raça (gráfico 4), verificamos que a maioria dos animais integrantes do estudo são de raça pura (14) e uma pequena minoria não tem raça definida. Dentro das raças puras, a mais frequente foi o Pastor Alemão, seguida do Yorkshire Terrier e do Labrador.

**Gráfico 4** - Distribuição da população de acordo com a raça.



Numa análise relativa ao porte (gráfico 5) verifica-se que a maioria dos animais (10) são de porte médio (10 – 20 Kg), seguidos dos animais de porte grande (> 20 Kg) e por último, os de pequeno porte (< 10Kg).

**Gráfico 5** -Distribuição da população relativamente ao porte.



#### 2.4.1.4. Estado reprodutivo

Em análise ao estado reprodutivo das cadelas (gráfico 6) verificamos que 94% dos animais não eram esterilizados no momento de diagnóstico das neoplasias e apenas 6% tinham sido esterilizadas.

**Gráfico 6** - Avaliação relativa ao estado reprodutivo do animal (n = 18).

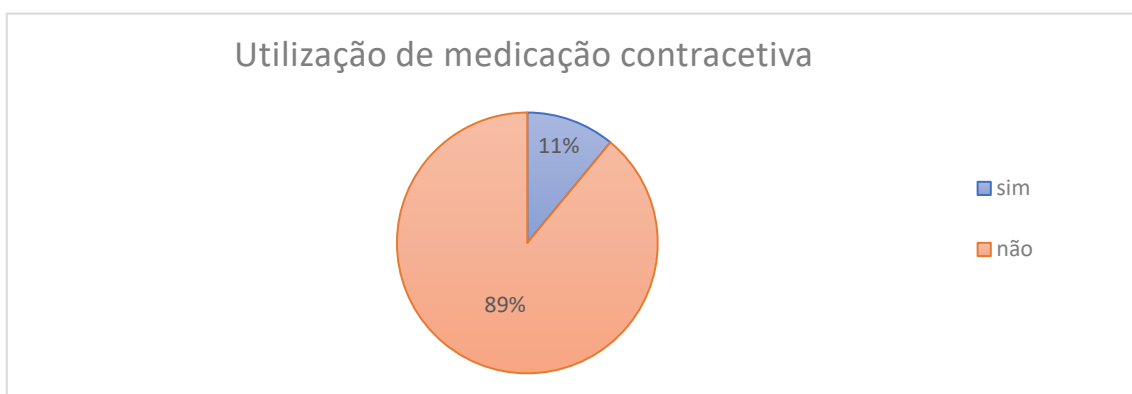




### 2.4.1.5. Utilização de medicação contracetiva

Quando questionados sobre o uso de medicação contracetiva (gráfico 7) verificamos que, a grande maioria dos tutores (89%) nunca utilizou este tipo de medicação nos animais. Apenas 11% referiu já ter recorrido ao uso de pílulas anticoncepcionais.

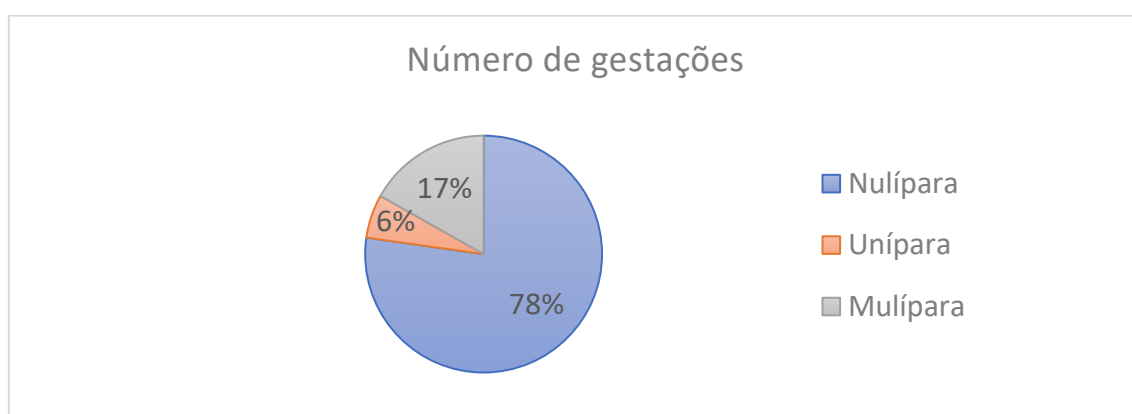
**Gráfico 7** – Avaliação relativa à utilização de medicação contracetiva.



### 2.4.1.6. Número de gestações

No que toca ao número de gestações, gráfico 8, a grande maioria das cadelas (78%) eram nulíparas no momento de diagnóstico. Das cadelas que desenvolveram gestações 17% eram múltíparas e apenas 6% uníparas.

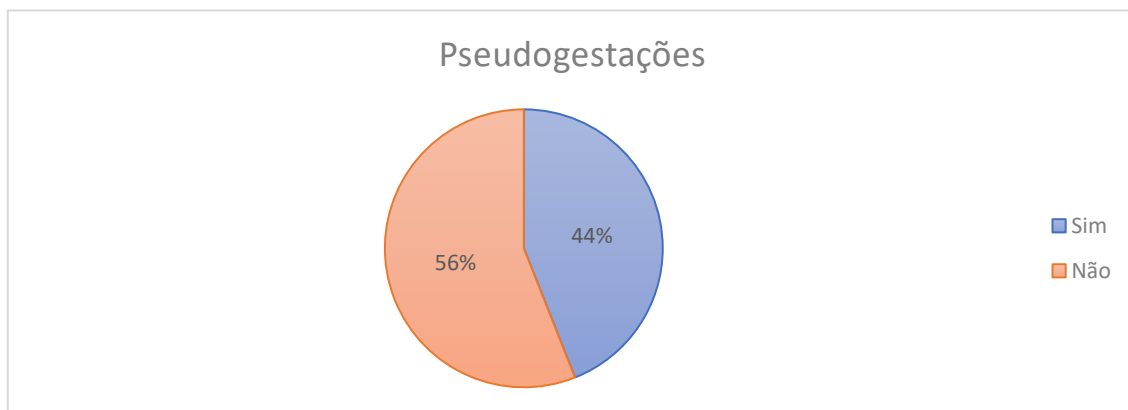
**Gráfico 8** - Número de gestações (n= 18).



### 2.4.1.7. Pseudogestações

Quando elucidados sobre o que eram pseudogestações e os seus sinais, 44% dos tutores reconheceram que os seus animais já as haviam desenvolvido no passado, identificando sintomas como a lactação na ausência de gestação. Por outro lado, 56% não reconheceu estes sinais e respondeu negativamente, como demonstrado no gráfico 9.

**Gráfico 9** - Desenvolvimento de Pseudogestações (n=18).

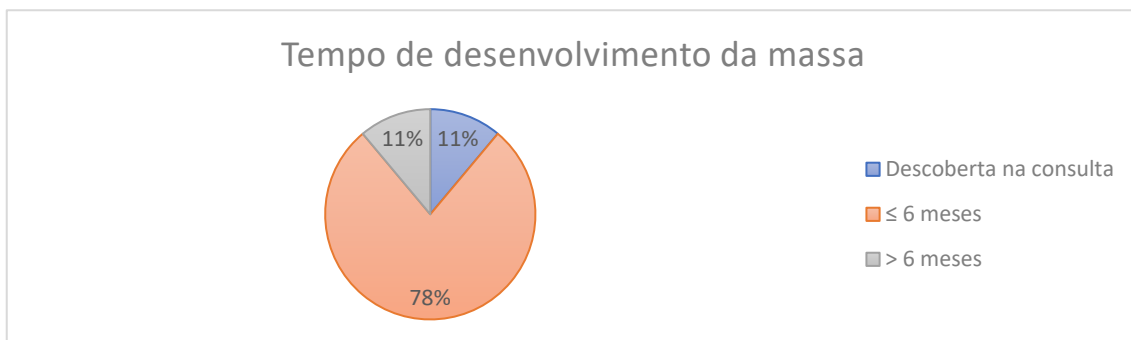


## 2.4.2. Estadiamento clínico

### 2.4.2.1. Identificação da neoplasia pelo tutor

Quando questionados sobre o momento em que detetaram as neofomações (gráfico 10), a maioria dos tutores (78%), afirmou que teriam menos de meio ano, enquanto, 11% afirmou que estas já estariam presentes há mais de meio ano. Por outro lado, 11% dos tutores afirmaram nunca ter detetado alterações, sendo que, as neofomações foram identificadas no momento da consulta durante o exame físico realizado pelo médico veterinário.

**Gráfico 10** - Tempo de desenvolvimento da massa (n=18).



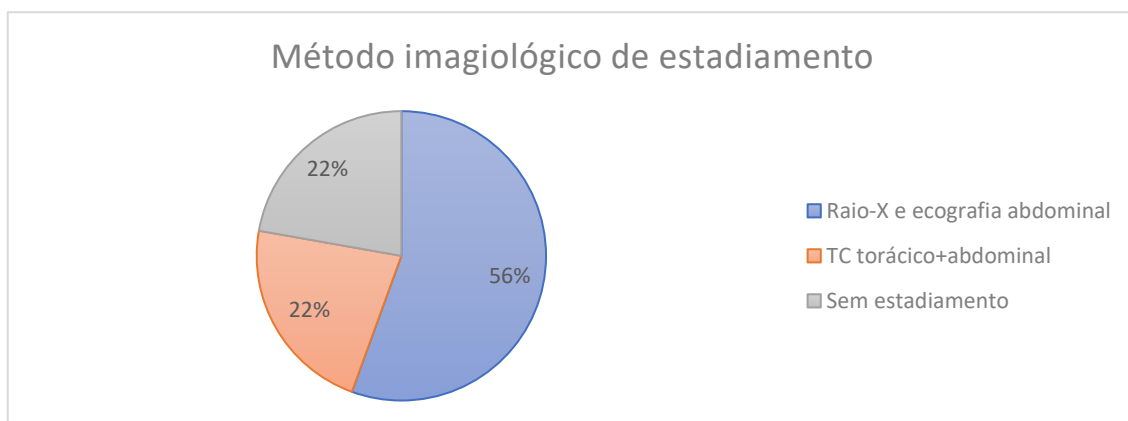
#### 2.4.2.2. Método imagiológico de estadiamento

Após o diagnóstico foi proposto a cada tutor a realização de estadiamento tumoral por um de dois métodos, ou o raio-x torácico associado a ecografia abdominal ou a TC de tórax e de abdómen.

Através do gráfico 8, verificamos que 78% dos tutores autorizaram o estadiamento e apenas 22% optaram por não avançar para esta fase.

Dos métodos de estadiamento propostos a maioria dos tutores (56%), optou pelo estadiamento tradicional, através de raio-x e ecografia abdominal. Apenas 22% optou pelo estadiamento através de TC, tal como demonstrado no gráfico 11.

**Gráfico 11** – Método imagiológico de estadiamento (n=18).

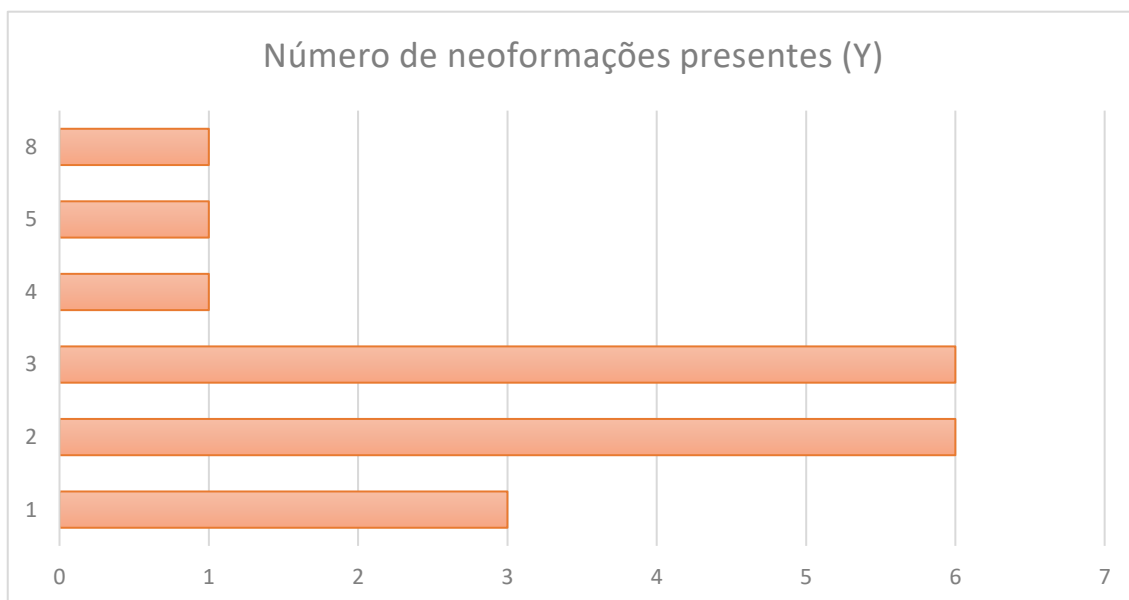


### 2.4.2.3. Número de neofomações

Numa análise relativa ao número de neofomações que cada paciente apresenta (gráfico 12), verificamos que o intervalo varia entre uma e oito neoplasias, tendo sido identificadas um total de 50 neofomações. Destas neofomações 36 seguiram para histopatologia, referentes a dez cadelas.

Apenas três animais apresentaram uma neoplasia no momento de diagnóstico, enquanto, quinze tinham mais do que uma. Dentro dos animais com múltiplas neoplasias verificou-se que o mais frequente foi terem duas ou três.

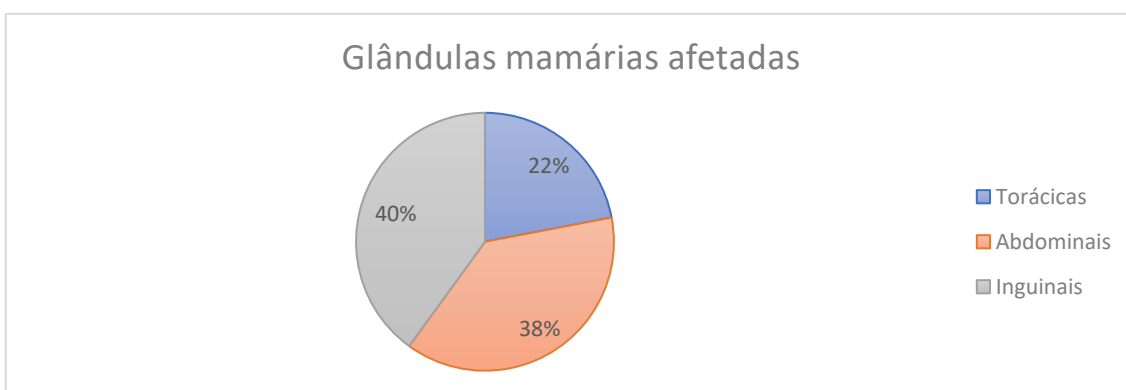
**Gráfico 12** - Número de neofomações identificadas no exame físico de cada paciente.



### 2.4.2.4. Glândulas mamárias mais afetadas

Num total de 50 neofomações identificadas verificou-se que 78% das neoplasias se localizavam nas glândulas mamárias abdominais ou inguinais e apenas 22% nas torácicas, tal como demonstrado no gráfico 13. Entre as glândulas abdominais e as inguinais a distribuição é semelhante, porém, as inguinais são as mais afetadas com 40% das massas.

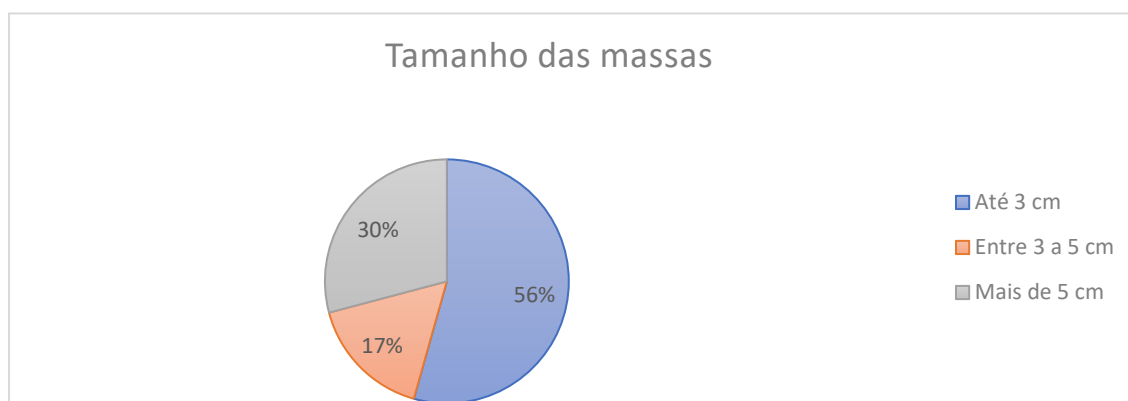
**Gráfico 13-** Localização das neofomações na cadeia mamária (n=50).



#### 2.4.2.5. Tamanho das neoplasias

A avaliação do tamanho das neoplasias, representada no gráfico 14, com vista à classificação de grau de estadiamento clínico foi feita de acordo com a dimensão da maior massa. Assim, verificou-se que em 56% dos animais o maior nódulo presente tinha até 3 centímetros. Em 30% das cadelas verifica-se que a maior massa tem mais de 5 centímetros e só 17% têm entre 3 a 5 centímetros.

**Gráfico 14** - Classificação do tamanho das neoplasias (n= 18).

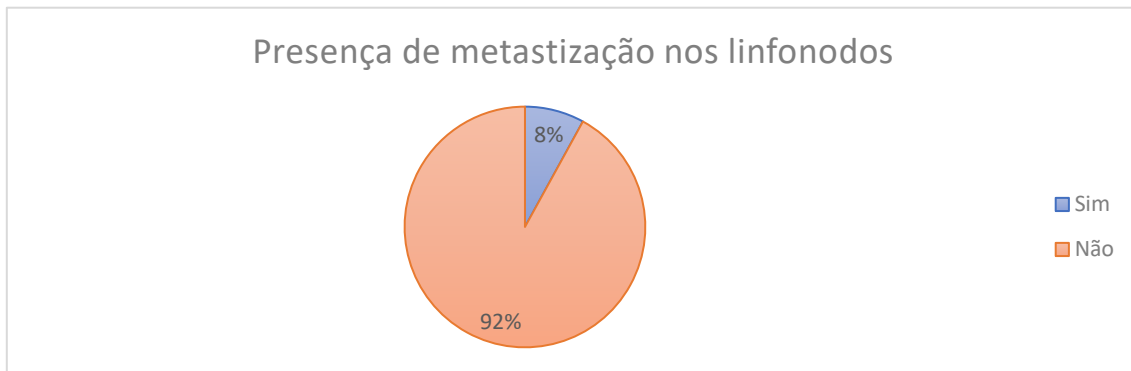


#### 2.4.2.6. Envolvimento e tumefação dos linfonodos

Aquando do estadiamento tumoral foi investigada a presença de metástases nos linfonodos axilar e inguinal superficial. Esta avaliação foi feita inicialmente por palpação (n= 36) e posteriormente foi feita análise histopatológica dos linfonodos removidos cirurgicamente (n=6) , estando os resultados representados no gráfico 15. Verificou-se

que apenas 8% dos linfonodos avaliados apresentaram sinais de envolvimento e 92% não apresentou alterações.

**Gráfico 15** - Quantificação da presença de envolvimento dos linfonodos (n=36).



#### **2.4.2.7. Metastização à distância**

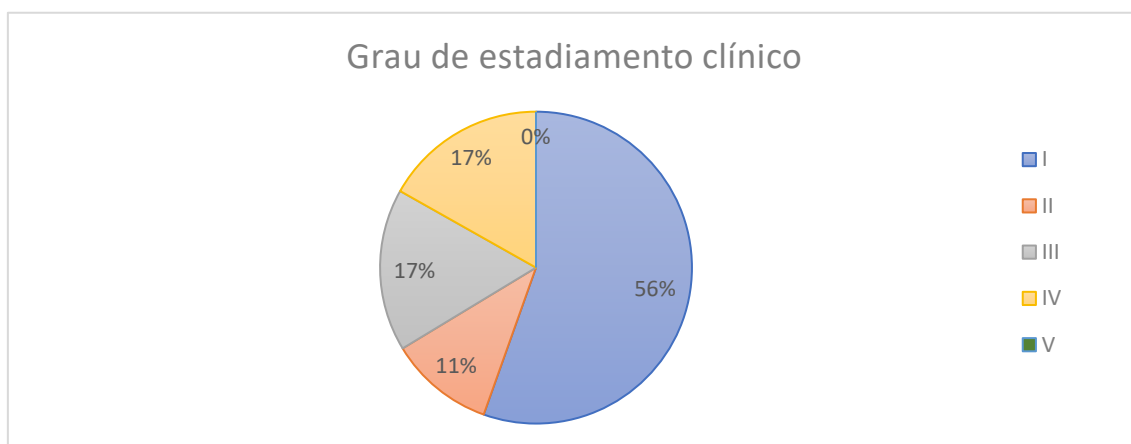
Num total de catorze cadelas que avançaram para estadiamento tumoral, não foram detetadas metástases macroscópicas noutros órgãos.

#### **2.4.2.8. Grau de estadiamento clínico**

Com base nos dados recolhidos, e anteriormente descritos, relativos ao tamanho da massa, envolvimento dos linfonodos e metastização distância, foi atribuído um grau de estadiamento clínico.

Verifica-se no gráfico 16 que, a maioria dos animais (56%), foram diagnosticados numa fase inicial da doença, estando por isso em grau I. Nenhum animal foi detetado já em grau V e em grau IV apenas 17%.

**Gráfico 16** - Grau de estadiamento clínico atribuído a cada cadela (n=14).

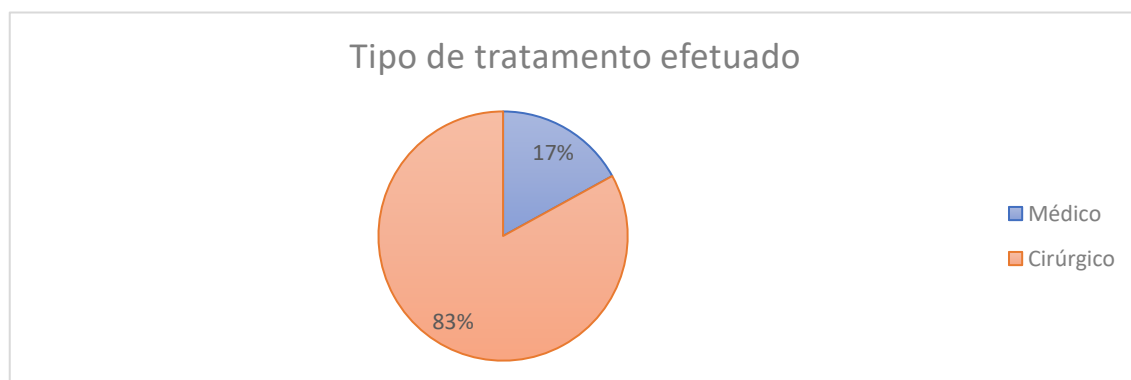


## 2.4.3. Tratamento

### 2.4.3.1. Tipo de tratamento

Para cada paciente foi proposto um plano terapêutico individual conforme o caso, sendo que, a terapêutica proposta na grande maioria dos casos foi a cirurgia. Como visível no gráfico 17, 83% foram submetidos a cirurgia e apenas 17% fizeram apenas tratamento médico com anti-inflamatórios e controlo de dor.

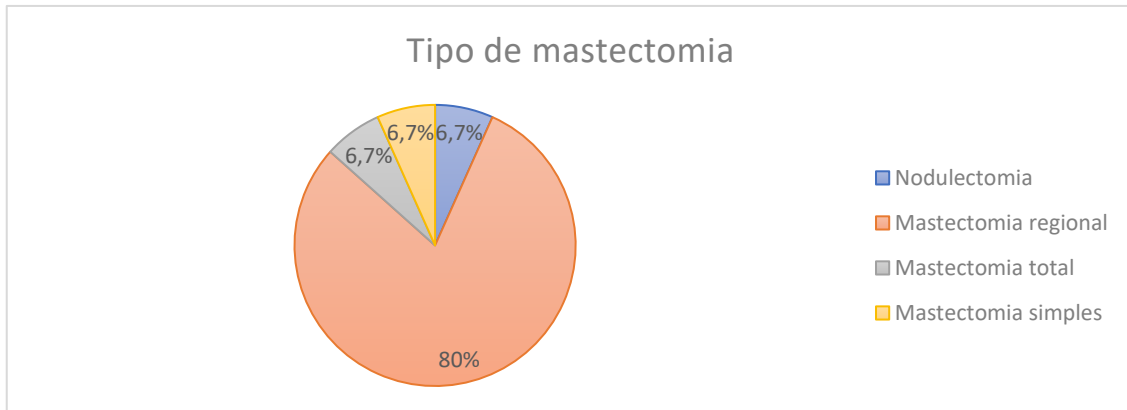
**Gráfico 17** - Tipo de tratamento efetuado (n=18).



### 2.4.3.2. Tipo de mastectomia

Dos quinze animais submetidos a cirurgia, 80% realizaram mastectomia regional e apenas 6,7% realizaram nodulectomia, mastectomia total ou mastectomia simples, tal como apresentado no gráfico 18.

**Gráfico 18-** Tipo de mastectomia realizada (n=15).



### 2.4.3.3. Realização de OVH no momento da cirurgia

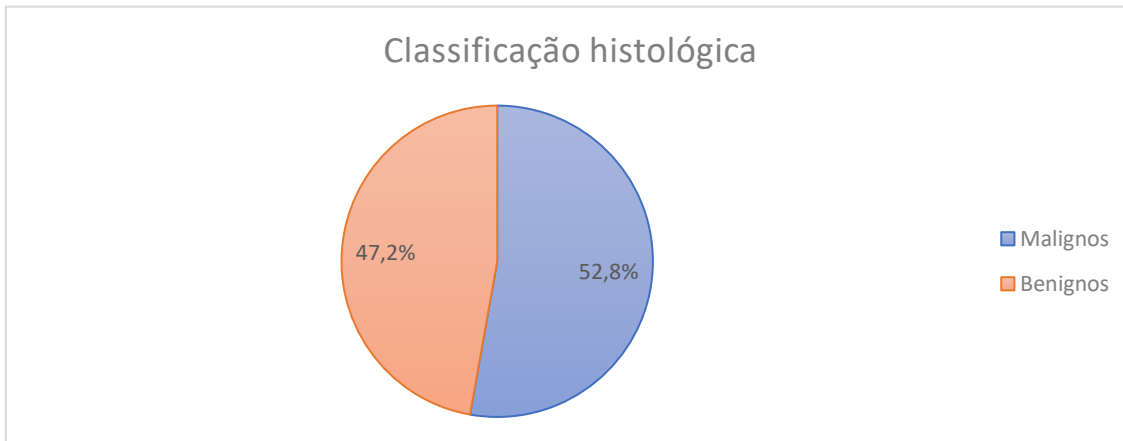
Num total de quinze cadelas inteiras submetidas a cirurgia, 100% foram submetidas à ovariectomia no momento da ressecção tumoral.



### 2.4.4. Classificação histológica

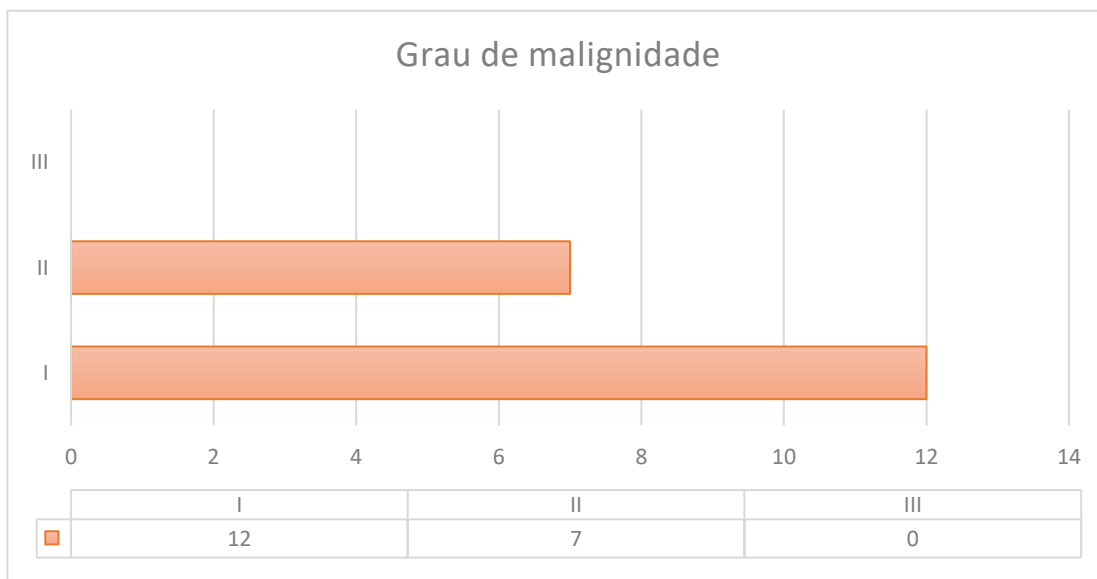
Num total de 36 massas analisadas em histopatologia verificou-se que cerca de 47,2% (n=17) dos tumores eram benignos e 52,8% (n=19) eram malignos (gráfico 19).

**Gráfico 19** - Classificação histológica (n =36).



Dentro dos tumores malignos detetados ( um total de 19), a maioria eram de grau I e não existiam tumores de grau III, tal como demonstrado no gráfico 20.

**Gráfico 20**- Avaliação quanto ao grau de malignidade (n=19).



Os resultados da análise histopatológica estão apresentados na tabela 9. Verifica-se que, os tumores mais frequentes foram os epiteliais, sendo que, os tumores malignos mais comuns foram os carcinomas, nomeadamente o carcinoma complexo e os tumores benignos mais comuns foram os adenomas, nomeadamente o adenoma tubular.

**Tabela 9** - Classificação histológica.

	<i>Tipo tumoral</i>	<i>Frequência absoluta</i>	<i>Frequência relativa</i>	<i>%</i>
Tumores malignos	Carcinoma complexo de grau I	4	4/36	11%
	Carcinoma complexo de grau II	1	1/36	2,8%
	Carcinoma misto de grau II	1	1/36	2,8%
	Carcinoma papilar ductal grau I	2	2/36	5,6%
	Carcinoma papilar ductal grau II	1	1/36	2,8%
	Carcinoma e mioepitelioma maligno de grau II	1	1/36	2,8%
	Carcinoma e mioepitelioma maligno de grau II	1	1/36	2,8%

Tumores benignos

Carcinoma em adenoma complexo grau I	1	1/36	2,8%
Carcinoma em adenoma complexo grau II	1	1/36	2,8%
Carcinoma em tumor misto benigno	4	4/36	11%
Carcinoma intraductal de grau I	1	1/36	2,8%
Mastocitoma de grau II	1	1/36	2,8%
Adenoma tubular	4	4/36	11%
Adenoma ductal	2	2/36	5,6%
Adenoma complexo	1	1/36	2,8%
Adenoma papilar intraductal	1	1/36	2,8%
Hiperplasia ductal	4	4/36	11%
Hiperplasia lobular secretora	2	2/36	5,6%
Hiperplasia lobular benigna	3	3/36	8,3%

## 2.5. Discussão

Os resultados obtidos neste estudo corroboram a maioria das informações bibliográficas publicadas anteriormente sobre o tema, salvo algumas exceções, relacionadas com as características da população afetada.

A população estudada encontrava-se entre os cinco e os doze anos de idade, sendo que a idade média era oito anos e meio. Este valor encontra-se dentro do intervalo de idades referido na literatura como o mais frequente para o aparecimento deste tipo de neoplasias, que é entre os oito e os onze anos (Sleeckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Gray et al., 2020).

Quanto à raça, comprova-se uma tendência para que as raças puras sejam mais afetadas, nomeadamente o Pastor Alemão, o Yorkshire Terrier, Labrador, Beagle e Cocker Spaniel (Sleeckx., 2011; Sorenmo et al. 2011; Vail et al., 2019). Já relativamente ao porte do animal os resultados obtidos contrariam a bibliografia, sendo que, a maioria dos animais são de porte médio e não de porte pequeno como está descrito (Sleeckx., 2011; Sorenmo et al. 2011). Esta diferença pode ser justificada pelo baixo número de casos analisados ou também pelas raças mais comuns na região.

No que toca ao estado reprodutivo, 94% das cadelas eram inteiras no momento do diagnóstico, o que vai de encontro à premissa de que a esterilização desempenha um papel preventivo fundamental ao impedir a ação das hormonas sexuais sobre as glândulas mamárias ao longo dos anos, estando de acordo com os dados anteriormente publicados por Beauvais et al., 2012, Kristiansen et al., 2016 e Vail et al., 2019.

Os fatores predisponentes abordados neste trabalho foram maioritariamente de base hormonal, pois, apesar de não ter sido feita imunomarcção, pode-se especular com base em estudos anteriores que estas neoplasias são hormonodependentes (Sorenmo et al., 2011; Mol et al., 2015; Spoerrri et al., 2015).

O número elevado de casos de tumores mamários que acontecem atualmente em cadelas pode estar em grande parte relacionado com os menores índices de esterilização que existiam no passado. Com o aumento do conhecimento por parte dos tutores relativamente aos benefícios da esterilização, espera-se uma diminuição deste número num futuro próximo.

A maioria das cadelas em estudo não desenvolveu nenhuma gestação ao longo da sua vida, pelo que não foi possível comprovar que um número elevado de gestações aumenta o risco de aparecimento de massas mamárias, como descrito na literatura anteriormente (Alenza et al., 2000; Concannon, 2011).

Por outro lado, 44% dos tutores confirmaram que as suas cadelas já haviam desenvolvido sintomas de pseudogestações uma ou mais vezes. Estes dados estão de acordo com a relação descrita na bibliografia entre o aparecimento de pseudogestações e o aumento da predisposição para o aparecimento de massas, devido ao aumento da ação hormonal que se verifica nestes casos (Concannon, 2011; Root et al., 2018).

Por último, foi avaliado como fator de risco o uso de medicação contraceptiva. Contrariamente ao expectável pela descrição bibliográfica em estudos anteriores (Mol et al., 2015; Spoerri et al., 2015), 89% dos tutores afirmaram nunca ter administrado fármacos contraceptivos às pacientes estudadas. Isto pode ser justificado pelo facto de que a maioria das cadelas que integraram o estudo terem um estilo de vida *indoor*, não tendo contacto não vigiado com outros animais, o que diminuiu a necessidade de utilização destes fármacos.

As glândulas mamárias mais afetadas foram as abdominais e a inguinal, com cerca de 78% das neoplasias identificadas, estando por isso de acordo com a bibliografia publicada. Esta predominância poderá estar relacionada com o maior desenvolvimento de tecido mamário que está associado a um maior índice mitótico e, conseqüentemente, a uma maior probabilidade de ocorrência de transformações neoplásicas (Sleeckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; De Araújo et al., 2015; Cassali et al., 2020).

Quando questionados sobre o tempo de desenvolvimento da neoplasia, a maioria dos tutores afirmou tê-la detetado há menos de seis meses. Estes valores parecem indicar uma maior sensibilização e preocupação dos tutores para estes problemas, permitindo a sua deteção numa fase inicial e melhorando as perspetivas de tratamento e prognóstico.

Relativamente ao número de neoplasias, verificou-se que 83% das cadelas apresentavam múltiplos nódulos numa ou nas duas cadeias mamárias. Isto pode ser justificado pela existência de comunicação entre os capilares linfáticos de glândulas mamárias adjacentes

ou até entre os capilares linfáticos das duas cadeias (Pereira et al., 2003; Stan et al., 2009; Patsikas et al., 2016).

Relativamente às dimensões dos nódulos, verificou-se que a maioria tinha menos de três centímetros, o que, poderá ser justificado pelo tempo de desenvolvimento, uma vez que, a maioria das massas tinham sido detetadas há menos de meio ano. Tendencialmente, massas de grandes dimensões e com crescimento rápido, têm uma maior probabilidade de serem malignas do que massas de pequenas dimensões e com crescimento lento (Ferreira et al., 2009; Whitrow et al., 2019; Gedon et al., 2020).

Para o estadiamento tumoral foram propostos a cada tutor dois métodos diferentes, ambos disponíveis no hospital: ecografia abdominal com raio-x de tórax, em três projeções, ou TC torácico e abdominal. A maioria dos tutores optou pela primeira opção, apesar de ser a menos completa, maioritariamente por questões financeiras que, infelizmente, ainda são um fator importante durante o tratamento de um paciente. O estadiamento de linfonodo não foi completo, tendo sido apenas feito por palpação na primeira consulta de avaliação e, quando removidos cirurgicamente, por análise histopatológica.

O grau de estadiamento tumoral varia entre I e V, tendo como critérios de classificação o tamanho do maior tumor presente e a presença de metastização nos linfonodos e à distância (WHO, 1980; Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). Por forma a ficar mais completa e permitir uma melhor avaliação prognóstica, os critérios para determinação do grau de estadiamento tumoral deveriam ter em conta quais os linfonodos afetados (ipsilaterais ou contralaterais) bem como o tamanho das metástases presentes (De Araújo, 2015). Para além disto, deveriam ainda ser utilizados biomarcadores tumorais, como os recetores de estrogénios e progesterona, o ki-67 ou a COX-2 para ser possível obter mais dados sobre o comportamento tumoral e opções de tratamento (Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). O facto de não ter sido usado a TC em todos os pacientes foi uma limitação pois só assim seria possível detetar micrometástases, com dimensões na ordem de 1 mm, e fazer uma classificação correta.

A maioria dos animais foi classificado com grau I, o que, é justificado maioritariamente pelo pouco tempo de desenvolvimento das massas que, não seria suficiente para haver disseminação de células neoplásicas e formação de metástases. O facto de não terem existido tumores de grau IV poderá ser justificado pelo facto de que os tutores das cadelas

com tumores de maiores dimensões e em fase mais avançada foram aqueles que optaram por tratamentos paliativos.

O tratamento ideal descrito para este tipo de patologias é a cirurgia (Novosad, 2003; Sleenckx et al., 2011; Cassali et al., 2020). Neste estudo, 83% das cadelas foram submetidas a cirurgia para remoção dos tumores e apenas 17% fizeram apenas tratamento médico. Destas 17%, duas pacientes eram portadoras de tumores inoperáveis, e a outra fez apenas tratamento paliativo por decisão dos tutores, tendo critérios e indicação cirúrgica.

O tipo de cirurgia realizada foi escolhido de acordo com as características da massa a remover: tamanho, localização e presença de características de malignidade (Horta et al., 2014; Cassali et al., 2019; Vail et al., 2019). Por serem maioritariamente tumores de pequena dimensão e sem metastização noutros órgãos, a cirurgia mais realizada foi a mastectomia regional. Porém, a extensão da cirurgia, para além de determinada pelas características da massa, também foi influenciada pela preferência do cirurgião e pela sua opinião quanto à capacidade preventiva da remoção de mais tecido mamário no reaparecimento de massas (Horta et al., 2014; Cassali et al., 2019; Vail et al., 2019).

A maioria destas cadelas eram inteiras no momento de diagnóstico pelo que, a esterilização no momento da cirurgia é recomendada por vários autores para diminuir a influência hormonal (Sorenmo et al., 2003; Kristiansen et al., 2016). Assim, todas as cadelas foram esterilizadas no momento da cirurgia, porém, como não foi feito um acompanhamento prolongado no tempo, não foi possível concluir se isto trouxe efeitos benéficos, reduzindo o risco de reaparecimento de neofomações.

O método de eleição para a classificação de tumores mamários é a histopatologia, pelo que, todos os tumores removidos cirurgicamente foram enviados para laboratório de referência onde foi realizado o processamento das amostras excisadas (Sorenmo et al., 2003; Goldschmidt, 2011; Canadas et al., 2019).

Visto que a maioria dos animais apresentava múltiplas neofomações, todas elas foram para análise e em todos os animais foram detetados mais do que um tipo de tumor, reafirmando a bibliografia já descrita (Sleenckx et al., 2011; Fossum, 2013; Vail et al., 2019).

A probabilidade de o tumor ser benigno ou maligno é descrita como sendo aproximadamente 50%- 50% (Sorenmo et al., 2003; Chang et al., 2005). Estes valores foram confirmados pelo presente estudo, onde 52,8% dos tumores eram malignos e 47,2% eram benignos.

Dentro dos tumores malignos, os mais comuns foram os carcinomas e dos benignos foram os adenomas, estando assim de acordo com a bibliografia existente, que descreve os tumores epiteliais como os mais frequentes (Sorenmo et al., 2003; Milanta 2005; Peña et al., 2013; Canadas et al., 2019; Gedon et al, 2020).

Ao longo da elaboração do presente estudo foram encontradas várias limitações, sendo que, uma das principais foi o baixo número de pacientes. Perante a grande variedade de raças e características individuais que encontramos nos animais de companhia, torna-se necessário um número elevado de casos para se poderem tirar conclusões representativas da população.

Não foram realizadas provas de diagnóstico conclusivas para detetar envolvimento dos linfonodos, sendo que a avaliação realizada não nos permite afirmar com certeza se estes apresentavam ou não invasão por células neoplásicas. Para uma avaliação completa todos os linfonodos sentinela deveriam ter sido marcados antes da cirurgia e posteriormente removidos e analisados, mas infelizmente não existiram meios para essa análise. No presente estudo a avaliação foi feita sobretudo por palpação e, apenas em alguns casos foi feita remoção cirúrgica com posterior análise histopatológica, o que não define por completo a invasão de metástases em linfonodos.

Relativamente à pesquisa de metástases noutros órgãos, pode considerar-se completa apenas nas pacientes que realizaram TC, pois esta permite identificar micrometástases. Nas restantes pacientes não podemos ter certeza pois o estadiamento realizado apenas permite detetar macrometástases.

A análise histológica das neoplasias removidas foi realizada em vários laboratórios, o que cria alguma variabilidade nos resultados, sendo que, todas as amostras deveriam ter sido analisadas no mesmo laboratório e preferencialmente pela mesma pessoa.

Devido à curta duração do estudo não foi possível fazer o seguimento das pacientes, para perceber qual o tempo de vida livre de doença e qual a percentagem de recidivas.



Apesar das limitações encontradas, as conclusões tiradas estão maioritariamente de acordo com a bibliografia publicada sobre o tema. Foi possível perceber a presença de determinados fatores individuais e hormonais predisponentes ao aparecimento destas neoplasias e perceber quais as localizações mais frequentes na cadeia mamária, bem como os tipos histológicos mais identificados.

No futuro o objetivo seria o desenvolvimento de um estudo mais duradouro, que permita o seguimento das pacientes por períodos prolongados e onde sejam minimizados/eliminados os pontos limitantes identificados no presente estudo.

## 2.6. Conclusão

As conclusões retiradas desta pesquisa vão ao encontro da bibliografia publicada sobre o tema relativamente à presença de fatores predisponentes, estadiamento, tratamento e classificação histológica.

Os fatores hormonais, em particular o estado sexual, desempenham um papel crucial no aparecimento destes tumores, pois estes são hormonodependentes (Mol et al., 2005; Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011). Tendo as hormonas sexuais um efeito cumulativo a esterilização no início da vida sexual do animal surge como principal método preventivo (Sorenmo et al., 2000; Beauvais et al., 2012; Smith et al., 2014; Kristiansen et al., 2016). A sensibilização dos tutores para esta realidade é cada vez maior e mais precoce, pois os animais de companhia são cada vez mais vistos como parte da família.

O estadiamento clínico é indispensável, pois é um método de prognóstico essencial, principalmente quando é possível o recurso a tomografia axial computadorizada para pesquisa de micrometástases (Sorenmo et al., 2011; Vail et al., 2019; Cassali et al., 2020). Este ainda é um método de alto custo que não é acessível para a maioria dos tutores devido a fatores financeiros, dificultando por isso uma boa avaliação e prognóstico. Para além do TC, outros métodos, como os biomarcadores tumorais, proteínas específicas produzidas pelas células neoplásicas, são pouco aplicados, não só pelo custo, mas também pela deficiência e logística de laboratórios a executar este tipo de análise.

O tratamento recomendado na maioria dos casos é a cirurgia e, foi este o tratamento mais utilizado neste estudo. (Novosad, 2003; Sleenckx et al., 2011; Cassali et al., 2020). A remoção cirúrgica pode ser curativa em casos de tumores benignos ou malignos de pequenas dimensões e numa fase inicial de desenvolvimento. Para além disto, a remoção cirúrgica possibilita a análise histopatológica, essencial para a classificação tumoral.

A histopatologia é o *gold-standard* para a classificação histológica de cada tumor, permitindo avaliar se estes são benignos ou malignos e qual o grau de malignidade associado (Sorenmo et al., 2003; Goldschmidt, 2011; Canadas et al., 2019). Através deste resultado é possível delinear se é necessário ou não um tratamento complementar à cirurgia e perceber qual o prognóstico para o animal.

Neste estudo foi possível comprovar que os tumores mais frequentes são os epiteliais, sendo que, os tumores malignos mais comuns foram os carcinomas e os benignos mais comuns foram os adenomas (Sorenmo et al., 2003; Milanta 2005; Peña et al., 2013; Canadas et al., 2019; Gedon et al, 2020). A frequência de aparecimento de tumores malignos ou benignos em cadelas é aproximadamente 50%-50%, o que, também se verificou neste estudo (Sorenmo et al. 2003; Chang et al., 2005).

Em conclusão, apesar de os resultados obtidos corroborarem a bibliografia publicada sobre o tema, são necessários estudos com um maior número de pacientes, devido à grande variabilidade de raças e portes de animais de companhia, e por um período de tempo mais prolongado. São também necessários mais estudos relativamente a novas opções terapêuticas passíveis de serem utilizadas em cadelas.

### 3. Bibliografia

Alenza, M. P., Pena, L., Castillo, N. D., & Nieto, A. I. (2000). Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*, 41:287-291

Beauvais, W., Cardwell, J. M., & Brodbelt, D. C. (2012). The effect of neutering on the risk of mammary tumours in dogs—a systematic review. *Journal of Small Animal Practice*, 53: 314-322.

Beveridge, W. I., & Sobin, L. H. (1974). International histological classification of tumours of domestic animals. Introduction. *Bulletin of the World Health Organization*, 50: 1.

Canadas, A., França, M., Pereira, C., Vilaça, R., Vilhena, H., Tinoco, F., ... & Santos, M. (2019). Canine mammary tumors: comparison of classification and grading methods in a survival study. *Veterinary pathology*, 56: 208-219.

Canadas-Sousa, A., Santos, M., Leal, B., Medeiros, R., & Dias-Pereira, P. (2019). Estrogen receptors genotypes and canine mammary neoplasia. *BMC veterinary research*, 15: 1-10.

Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., Raposo, T. P., Gregório, H., Lobo, L., & Queiroga, F. L. (2016). High COX-2 expression is associated with increased angiogenesis, proliferation and tumoural inflammatory infiltrate in canine malignant mammary tumours: a multivariate survival study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 619–631.

Cassali, G. D., Jark, P. C., Gamba, C., Damasceno, K. A., Estrela-Lima, A., De Nardi, A. B., Fernandes, C. G., Cogliati, B., Sobral, R., Amorim da Costa, F. V., Ferreira, E., Salgado, B. S., Campos, C. B., D´Assis, M. J. M. H., Silva, L. P., Machado, M. C. S., Firmo, B. F., Nunes, F. C., & Nakagaki<sup>10</sup>, K. Y. (2020). Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors-2019. *Braz J Vet Pathol*, 13: 555-574

Chang, S. C., Chang, C. C., Chang, T. J., & Wong, M. L. (2005). Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227: 1625-1629.

Chang, C.-C., Tsai, M.-H., Liao, J.-W., Chan, J. P.-W., Wong, M.-L., & Chang, S.-C. (2009). Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235: 391–396.

Chon, E., McCartan, L., Kubicek, L. N., & Vail, D. M. (2012). Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10: 184-193.

Clemente, M., Pérez-Alenza, M. D., & Peña, L. (2010). Metastasis of Canine Inflammatory versus Non-Inflammatory Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 143: 157–163.

Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124: 200–210.

Credie, L. de F. G., Luna, S. P. L., Futema, F., da Silva, L. C. B. A., Gomes, G., Garcia, J. N. N., & de Carvalho, L. (2013). Perioperative evaluation of tumescent anaesthesia technique in bitches submitted to unilateral mastectomy. *BMC Veterinary Research*, 9: 178.

De Araújo, M. R., Campos, L. C., Ferreira, E., & Cassali, G. D. (2015). Quantitation of the regional lymph node metastatic burden and prognosis in malignant mammary tumors of dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 29:1360-1367.

De Campos, C. B., Lavallo, G. E., Monteiro, L. N., Pêgas, G. R. A., Fialho, S. L., Balabram, D., & Cassali, G. D. (2018). Adjuvant thalidomide and metronomic chemotherapy for the treatment of canine malignant mammary gland neoplasms. *in vivo*, 32: 1659-1666.

De las Mulas, J. M., Millán, Y., & Dios, R. (2005). A Prospective Analysis of Immunohistochemically Determined Estrogen Receptor  $\alpha$  and Progesterone Receptor Expression and Host and Tumor Factors as Predictors of Disease-free Period in Mammary Tumors of the Dog. *Veterinary Pathology*, 42: 200–212.

Dolka, I., Motyl, T., Malicka, E., Sapiernyński, R., & Fabisiak, M. (2011). Relationship between receptors for insulin-like growth factor - I, steroid hormones, and apoptosis-associated proteins in canine mammary tumors. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 14: 245-251.

Dos Santos Horta, R., Lavalle, G. E., de Castro Cunha, R. M., de Moura, L. L., de Araújo, R. B., & Cassali, G. D. (2014). Influence of surgical technique on overall survival, disease free interval and new lesion development interval in dogs with mammary tumors. *Advances in Breast Cancer Research*, 3: 38-46.

Eichstadt, L. R., Moore, G. E., & Childress, M. O. (2016). Risk factors for treatment-related adverse events in cancer-bearing dogs receiving piroxicam. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 1346-1353.

Ferreira, E., Bertagnolli, A. C., Cavalcanti, M. F., Schmitt, F. C., & Cassali, G. D. (2009). The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7: 230–235.

Fossum, T. W. (2013). *Small Animal Surgery*. 4ª Edição, Elsevier Health Sciences, ISBN 9788535269918, pp. 809-815.

Gaspar, T. B., Henriques, J., Marconato, L., & Queiroga, F. L. (2018). The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs—insight into a modern cancer field. *Veterinary and comparative oncology*, 16: 2-11.

Gedon, J., Wehrend, A., Failing, K., & Kessler, M. (2020). Canine mammary tumours: Size matters—a progression from low to highly malignant subtypes. *Veterinary and Comparative Oncology*.

Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary pathology*, 48: 117-131.

- Gogny, A., & Fiéni, F. (2016). Aglepristone: A review on its clinical use in animals. *Theriogenology*, 85: 555-566.
- Gray, M., Meehan, J., Martínez-Pérez, C., Kay, C., Turnbull, A. K., Morrison, L. R., Pang, L.Y. & Argyle, D. (2020). Naturally-occurring canine mammary tumors as a translational model for human breast cancer. *Frontiers in oncology*, 10: 617.
- Grubb, T., & Lobprise, H. (2020). Local and regional anaesthesia in dogs and cats: Overview of concepts and drugs (Part 1). *Veterinary Medicine and Science*, 6: 209-217.
- Hermo, G. A., Torres, P., Ripoll, G. V., Scursoni, A. M., Gomez, D. E., Alonso, D. F., & Gobello, C. (2008). Perioperative desmopressin prolongs survival in surgically treated bitches with mammary gland tumours: A pilot study. *The Veterinary Journal*, 178: 103–108.
- Hermo, G. A., Turic, E., Angelico, D., Scursoni, A. M., Gomez, D. E., Gobello, C., & Alonso, D. F. (2011). Effect of Adjuvant Perioperative Desmopressin in Locally Advanced Canine Mammary Carcinoma and its Relation to Histologic Grade. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47: 21–27.
- Horta, R. S., Figueiredo, M. S., Lavallo, G. E., Costa, M. P., Cunha, R. M. C., & Araújo, R. B. (2015). Surgical stress and postoperative complications related to regional and radical mastectomy in dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57:1-10.
- Jiang, L., Wang, Y. J., Zhao, J., Uehara, M., Hou, Q., Kasinath, V., ... & Abdi, R. (2020). Direct tumor killing and immunotherapy through Anti-SerpineB9 therapy. *Cell*, 183: 1219-1233.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., & Dessiris, A. (2001). Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 48: 85-96.
- Karayannopoulou, M., & Lafioniatis, S. (2016). Recent advances on canine mammary cancer chemotherapy: A review of studies from 2000 to date. *breast cancer research*, 167: 192-200.

- Kaszak, I., Ruszczak, A., Kanafa, S., Kacprzak, K., Król, M., & Jurka, P. (2018). Current biomarkers of canine mammary tumors. *Acta veterinaria scandinavica*, 60: 1-13.
- Kim, H. W., Lim, H. Y., Shin, J. I., Seung, B. J., Ju, J. H., & Sur, J. H. (2016). Breed- and age-related differences in canine mammary tumors. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 80: 146-155.
- Kristiansen, V., Pena, L., Diez Cordova, L., Illera, J. C., Skjerve, E., Breen, A. M., & Sorenmo, K. U. 2016. Effect of ovariohysterectomy at the time of tumor removal in dogs with mammary carcinomas: a randomized controlled trial. *Journal of veterinary internal medicine*, 30: 230–241.
- Lana, S.E.; Rutteman, G.R & Withrow, S. J. (2009). Tumores de la glándula mamaria. In S.J Withrow & D.M. Vails (Eds.) Withrow & MacEwen's Oncología Clínica de pequeños animales, 4: 605-662.
- Lomas, A. L., & Grauer, G. F. (2015). The Renal Effects of NSAIDs in Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 51: 197–203.
- Millanta, F., Calandrella, M., Bari, G., Niccolini, M., Vannozzi, I. & Poli, A. (2005). Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Research in veterinary science*, 79: 225-232.
- Misdorp, W. (2002). Tumours of the mammary gland. *Tumours in Domestic Animals*, 4: 575-606.
- Mol, J. A., van Garderen, E., Rutteman, G. R., & Rijnberk, A. (1996). New insights in the molecular mechanism of progestin-induced proliferation of mammary epithelium: Induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 57: 67–71.
- Mol, J. A., van Leeuwen, I. L., van Garderen, E., & Rijnberk, A. (2002). Progestin-induced Mammary Growth Hormone (GH) Production. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 480: 71–76.



- Monteiro-Steagall, B. P., Steagall, P. V. M., & Lascelles, B. D. X. (2013). Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27: 1011-1019.
- Maehle, B. O., Collett, K., Tretli, S., Akslen, L. A., & Grotmol, T. (2009). Estrogen receptor  $\beta$ - an independent prognostic marker in estrogen receptor  $\alpha$  and progesterone receptor-positive breast cancer? *APMIS*, 117: 644–650.
- Muto, T., Wakui, S., Takahashi, H., Maekawa, S., Masaoka, T., Ushigome, S., & Furusato, M. (2000). p53 gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumors of the dog. *Veterinary pathology*, 37: 248-253.
- Mutsaers, A. J. (2009). Metronomic chemotherapy. *Topics in companion animal medicine*, 24: 137-143.
- Nieto, A., Pérez-Alenza, M. D., Del Castillo, N., Tabanera, E., Castaño, M., & Peña, L. (2003). BRCA1 Expression in Canine Mammary Dysplasias and Tumours: Relationship with Prognostic Variables. *Journal of Comparative Pathology*, 128: 260–268.
- Novosad, C. A. (2003). Principles of treatment for mammary gland tumors. *Clinical techniques in small animal practice*, 18: 107-109.
- Oliveira, C., Cardoso, M., André, S., Orvalho, M., Sousa, J., Soares, P., Cortes, P., Sousa, J. (2009). Recomendações nacionais para o diagnóstico e tratamento do cancro da mama, 15: 461-470.
- Patsikas, M. N., & Dessiris, A. (1996). The Lymph Drainage of the Mammary Glands in the Bitch: a Lymphographic Study. Part I: The 1st, 2nd, 4th and 5th Mammary Glands. *Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C*, 25: 131–138.
- Patsikas, M. N., & Dessiris, A. (1996). The Lymph Drainage of the Mammary Glands in the Bitch: a Lymphographic Study. Part II: the 3rd Mammary Gland. *Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C*, 25: 139–143.

Patsikas, M. N., Karayannopoulou, M., Kaldrymidoy, E., Papazoglou, L. G., Papadopoulou, P. L., Tzegas, S. I., ... Dessiris, A. K. (2006). The Lymph Drainage of the Neoplastic Mammary Glands in the Bitch: A Lymphographic Study. *Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C*, 35: 228–234.

Peña, L., Gama, A., Goldschmidt, M., Abadie, J., Benazzi, M., Castagnaro, M., Diez, L., Gartener, F., Hellmen, E., Kiupel, M., Millan, Y., Miller, M., Nguyen, F., Poli, A., Sarl, G., Zappulli, V. & Martin de las Mulas, J. (2014). Immunohistochemistry of canine mammary tumours: review and consensus standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER-2 and hormone receptor assessment, 51: 127-145.

Peña, L., Andrés, P. D., Clemente, M., Cuesta, P., & Perez-Alenza, M. D. (2013). Prognostic value of histological grading in noninflammatory canine mammary carcinomas in a prospective study with two-year follow-up: relationship with clinical and histological characteristics. *Veterinary Pathology*, 50: 94-105.

Pereira, C. T., Rahal, S. C., Carvalho Balieiro, J. C., & Ribeiro, A. A. C. M. (2003). Lymphatic Drainage on Healthy and Neoplastic Mammary Glands in Female Dogs: Can it Really be Altered? *Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C*, 32: 282–290.

Polton, G. (2009). Mammary tumours in dogs. *Irish Vet J*, 62(1), 50-56.

Queiroga, F., & Lopes, C. (2002). Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97: 119-127.

Queiroga, F. L., Alves, A., Pires, I., & Lopes, C. (2007). Expression of Cox-1 and Cox-2 in Canine Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 136: 177–185.

Queiroga, F. L., Pérez-Alenza, M. D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., & Illera, J. C. (2005). Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 94: 181–187.

- Queiroga, F. L., Pérez-Alenza, M. D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C. S., & Illera, J. C. (2008). Crosstalk between GH/IGF-I axis and steroid hormones (progesterone, 17 $\beta$ -estradiol) in canine mammary tumours. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 110: 76–82.
- Queiroga, F. L., Raposo, T., Carvalho, M. I., Prada, J., & Pires, I. (2011). Canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: most recent findings. *in vivo*, 25: 455-465.
- Queiroga, F. L., Pérez-Alenza, D., González-Gil, A., Silván, G., Peña, L., & Illera, J. C. (2015). Serum and tissue steroid hormone levels in canine mammary tumours: clinical and prognostic implications. *Reproduction in Domestic Animals*, 50: 858-865.
- Ramirez, D. A., Collins, K. P., Aradi, A. E., Conger, K. A., & Gustafson, D. L. (2019). Kinetics of cyclophosphamide metabolism in humans, dogs, cats, and mice and relationship to cytotoxic activity and pharmacokinetics. *Drug Metabolism and Disposition*, 47: 257-268.
- Rasotto, R., Zappulli, V., Castagnaro, M., & Goldschmidt, M. H. (2011). A Retrospective Study of Those Histopathologic Parameters Predictive of Invasion of the Lymphatic System by Canine Mammary Carcinomas. *Veterinary Pathology*, 49: 330–340.
- Rasotto, R., Berlato, D., Goldschmidt, M. H., & Zappulli, V. (2017). Prognostic significance of canine mammary tumor histologic subtypes: an observational cohort study of 229 cases. *Veterinary pathology*, 54: 571-578.
- Rehm, S., Stanislaus, D. J., & Williams, A. M. (2007). Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 80: 233–245.
- Rivera, P., Melin, M., Biagi, T., Fall, T., Haggstrom, J., Lindblad-Toh, K., & von Euler, H. (2009). Mammary Tumor Development in Dogs Is Associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Research*, 69: 8770–8774.

- Rodrigues, H., Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., & Queiroga, F. L. (2016). Clinicopathological significance of caspase-3 and ki-67 expression in canine mammary gland tumours. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64: 78-89.
- Root, A. L., Parkin, T. D., Hutchison, P., Warnes, C., & Yam, P. S. (2018). Canine pseudopregnancy: an evaluation of prevalence and current treatment protocols in the UK. *BMC Veterinary Research*, 14:1-12.
- Russo, J., & Russo, I. H. (2006). The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 102: 89–96.
- Saba, C. F., Rogers, K. S., Newman, S. J., Mauldin, G. E., & Vail, D. M. (2007). Mammary gland tumors in male dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 21: 1056-1059.
- Sanches, M. C., Napolini, B. M., Maroneze, B. P., Salame, J. P., Guim, T. N., & Gehrcke, M. I. (2020). Tumescence anesthesia or epidural anesthesia combined with intercostal block in bitches submitted to mastectomy. *Ciência Animal Brasileira*, 21.
- Santos, M., Marcos, R., & Faustino, A. (2009). Histological Study of Canine Mammary Gland During the Oestrous Cycle. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 146-154.
- Santos, A. A., Lopes, C. C., Ribeiro, J. R., Martins, L. R., Santos, J. C., Amorim, I. F., Gartner, F. & Matos, A. J. (2013). Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumours: a multivariable survival study. *BMC Veterinary Research*, 9: 1-11.
- Santos, M., Correia-Gomes, C., Marcos, R., Santos, A., De Matos, A., Lopes, C., & Dias-Pereira, P. (2015). Value of the Nottingham histological grading parameters and Nottingham prognostic index in canine mammary carcinoma. *Anticancer research*, 35: 4219-4227.
- Saura, C., Oliveira, M., Feng, Y. H., Dai, M. S., Chen, S. W., Hurvitz, S. A., Kim, S., Moy, B., Delalogue, S., Gradishar, W., Masuda, N., Palacova, M., Trudeau, M., Mattson, J., Yoon, Y. S., Hou, M., Laurentis M.D., Yeh, Y., Chang, H., Yau, T., Wildiers, H., Haley, B., Fagnani, D., Lu, Y., Crown, J., Ln, J., Takahashi, M., Takano,

T., Yamaguchi, M., Fujii, T., Yao, B., Bebachuk, J., Keyvanjah, K., Bryce, R., Brufsky, A. & NALA Investigators. (2020). Neratinib plus capecitabine versus lapatinib plus capecitabine in HER2-positive metastatic breast cancer previously treated with  $\geq 2$  HER2-directed regimens: phase III NALA trial. *Journal of Clinical Oncology*, 38: 247-255.

Selman, P. J., Mol, J. A., Rutteman, G. R., van Garderen, E. V., & Rijnberk, A. (1994). Progesterin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology*, 134: 287-292.

Sleeckx, N., de Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E., Van Ginneken, C., & Van Brantegem, L. (2011). Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals*, 46: 1112–1131.

Smith, A. N. (2014). The Role of Neutering in Cancer Development. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44: 965–975.

Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., & Goldschmidt, M. H. (2000). Effect of Spaying and Timing of Spaying on Survival of Dogs with Mammary Carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14: 266–270.

Sorenmo, K. (2003). Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33: 573-596.

Sorenmo, K. U., Kristiansen, V. M., Cofone, M. A., Shofer, F. S., Breen, A.-M., Langeland, M., Mongil, C. M., Goldschmidt, M. H. (2009). Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7: 162–172.

Sorenmo, K., Rasotto, R., Zappulli, V., & Goldschmidt, M. H. (2011). Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Veterinary pathology*, 48: 85–97.

Sorenmo, K. U., Durham, A. C., Radaelli, E., Kristiansen, V., Peña, L., Goldschmidt, M. H., & Stefanovski, D. (2019). The estrogen effect; clinical and histopathological evidence of dichotomous influences in dogs with spontaneous mammary carcinomas. *PloS one*, 14.

- Silva, A. E. D., Serakides, R., & Cassali, G. D. (2004). Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. *Ciência Rural*, 34: 625-633.
- Stan, F., Damian, A., Gudea, A., Chirilean, I., Socaciu, A., Crişan, M., Dezdrobitu, C. & Ayman, A. R. (2009). Study of the lymphatic mammary connections in bitch. *Bulletin UASVM*, 66: 107-113.
- Thumser-Henner, P., Nytko, K. J., & Bley, C. R. (2020). Mutations of BRCA2 in canine mammary tumors and their targeting potential in clinical therapy. *BMC veterinary research*, 16: 1-9.
- Todorova, I., Simeonova, G., Simeonov, R., & Dinev, D. (2005). Efficacy and toxicity of doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in dogs with spontaneous mammary tumours. *Trakia Journal of Sciences*, 3: 51-58.
- Üstün Alkan, F., Üstüner, O., Bakirel, T., Cinar, S., Erten, G., & Deniz, G. (2012). The effects of piroxicam and deracoxib on canine mammary tumour cell line. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Vail, D., Thamm, D. e Liptak, J. (2019). *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 6ª Edição, Elsevier Health Sciences, ISBN 9780323594967, pp. 604-625.
- Weber, F. A. G. D. C., Romão, M. A. P., Chaudon, M. D. O., & Carvalho, C. V. D. S. (2004). Avaliação de lesões gástricas induzidas por antiinflamatórios não esteróides (AINEs) através da gastroscopia em cães (*Canis familiaris*). *Arq. ciênc. vet. Zool*, 7:11-17.
- Yoshikawa, Y., Morimatsu, M., Ochiai, K., Ishiguro-Oonuma, T., Wada, S., Orino, K., & Watanabe, K. (2015). Reduced canine BRCA2 expression levels in mammary gland tumors. *BMC Veterinary Research*, 11: 1-8.
- Zaidan Dagli, M. L. (2008). The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: A promising outlook. *The Veterinary Journal*, 177: 3–5.
- Zappulli, V.; Peña, L.; Rasotto, R; Kiupel, M.; Goldschmidt, M.H.; Gama, Adelina e Scruggs, J. L. (2019) *Surgical Pathology of Tumors of Domestic Animals*. 2ª Edição, Davis Thompson Foundation.

## 4. Anexo 1

### FICHA DO PACIENTE COM NEOPLASIA MAMÁRIA

#### PACIENTE

NOME: \_\_\_\_\_

ESPÉCIE: \_\_\_\_\_

RAÇA: \_\_\_\_\_

SEXO:  M  F

IDADE: \_\_\_\_\_

ESTERILIZADO?  SIM  NÃO

SE SIM, COM QUE IDADE? \_\_\_\_\_

TOMA OU JÁ TOMOU MEDICAÇÃO CONTRACETIVA?  SIM  NÃO

SE SIM, QUAL E QUANTO TEMPO? \_\_\_\_\_

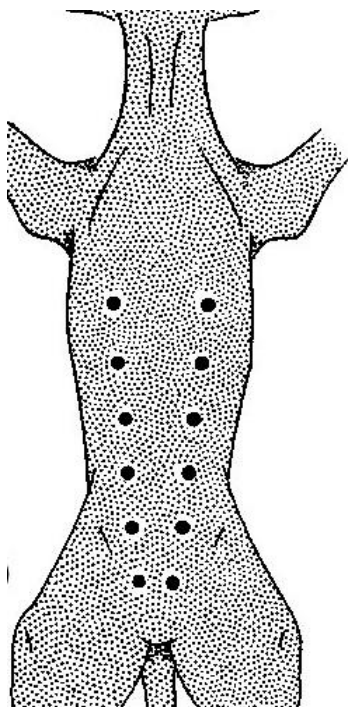
JÁ PARIU?  SIM  NÃO

SE SIM, QUANTAS VEZES? \_\_\_\_\_

ALGUMA VEZ TEVE SINTOMAS DE UMA GESTAÇÃO PSICOLÓGICA?  SIM  NÃO

#### CARATERIZAÇÃO DA MASSA

LOCALIZAÇÃO NA CADEIA MAMÁRIA:



HÁ QUANTO TEMPO TEM A MASSA?

\_\_\_\_ TAMANHO DA(S) MASSA (S):

LINFONODO (S) AUMENTADO (S):