



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE SÉRICA DE LEPTINA, IL-6, IGF-1 E ESTRÓGENO EM
CADELAS COM EXCESSO DE PESO E CARCINOMAS
MAMÁRIOS EM ESTADIO INICIAL**

BELO HORIZONTE

2017

STÉFANE VALGAS TEIXEIRA

**ANÁLISE SÉRICA DE LEPTINA, IL-6, IGF-1 E ESTRÓGENO EM
CADELAS COM EXCESSO DE PESO E CARCINOMAS
MAMÁRIOS EM ESTADIO INICIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre.

Área de Concentração: Patologia Investigativa

Orientador: Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

Co-orientadora: Dra. Gleidice Eunice Lavalle

Belo Horizonte

Faculdade de Medicina - UFMG

2017

T266a Teixeira, Stéfane Valgas.
Análise sérica de leptina, IL-6, IGF-1 e estrógeno em cadelas com excesso de peso e carcinomas mamários em estágio inicial [manuscrito]. / Stéfane Valgas Teixeira. -- Belo Horizonte: 2017.
74f.: il.
Orientador: Geovanni Dantas Cassali.
Coorientador: Gleidice Eunice Lavallo.
Área de concentração: Patologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Neoplasias da Mama. 2. Obesidade. 3. Estadiamento de Neoplasias. 4. Cães. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Cassali, Geovanni Dantas. II. Lavallo, Gleidice Eunice. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: QZ 200



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE LEPTINA, IL-6, IGF-1 E ESTRÓGENO EM CADELAS COM EXCESSO DE PESO E PORTADORAS DE CARCINOMAS MAMÁRIOS EM ESTADIO INICIAL

STÉFANE VALGAS TEIXEIRA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em PATOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Geovanni Dantas Cassali - Orientador
UFMG

Prof. Breno de Souza Salgado
UFES

Prof(a). Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho
UFMG

Prof(a). Liliâne Cunha Campos da Mata
Faculdade de Ciências da Vida

Belo Horizonte, 24 de fevereiro de 2017.

DEDICATÓRIA

A todos aqueles que sempre acreditaram em mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por me confiar esta missão de vida, que está apenas começando.

À minha família, por me apoiar incondicionalmente em todos os meus planos. Ao meu pai, Williams, por me ensinar que eu não preciso passar por cima de ninguém para alcançar meus objetivos. À minha mãe, Maria Helena, por acreditar em mim, quando nem eu mesma acreditava. E à minha irmã, Aleane, minha “segunda mãe”, que como tal, estava comigo nos melhores e nos piores momentos.

Ao professor Geovanni, que entrou na minha vida como um possível orientador, e hoje posso considera-lo um amigo, por todos os ensinamentos, não só acadêmicos, mas, principalmente os “de vida”. Saiba que levarei estes conselhos sempre comigo.

À Gleidice, nossa “mãe”, como gosta de chamar o pessoal do Hospital Veterinário, por confiar em mim e em meu potencial. E mais que isso, por ser nossa “mãe”, mesmo após o final do expediente.

À Fernanda e à Miriã, grandes amigas que o mestrado me deu, por estarem comigo e não me deixarem perder as esperanças nunca.

À Cecília, por me ensinar várias coisas, desde como diluir um quimioterápico a como brigar pelo “meu suco”. Alguém que me mostrou que ser sistemática tem sim suas vantagens.

À Barbara, de IC e orientanda à amiga em menos de um ano. Um exemplo de que Deus não coloca as pessoas em nossa vida à toa.

Aos amados companheiros do LPC, Conrado, Karine e Lidi, que me receberam tão bem quando cheguei ao laboratório; Breno, Michelle, Thiago, Juliane, Carla, Gabi, Anna, Maria, Larissa, Taty, Fernanda, Izabel e Aline. Estar com vocês a cada dia me proporcionou momentos de muito crescimento pessoal, e de muitas risadas também.

Ao professor Ênio, por me fazer chorar e com isso me mostrar o quanto sou forte e capaz de passar por cima das dificuldades.

Ao Diego, por toda ajuda científica, mas principalmente por todas as conversas capazes de acalmar meu espírito.

Ao Emerson e à Ivy, que em pouco tempo se tornaram excelentes amigos, responsáveis por tornar a caminhada mais light.

Em especial, à Xará, Istéfani, pois sem ela, não haveria resultados para discutir e apresentar. Mas, muito mais que isso, tornou-se indispensável na minha vida!

Aos amigos do Hospital Veterinário, Elizete, Maísa, Diogo, Dri, Francis, “Seu” Mércio, Joaquim, Alcilene, Cristina e todos os funcionários, os quais sem o hospital não seria nada.

Às queridas meninas da farmácia, especialmente Dri, Jana e Deia (e Bernardo), por suportar o peso das terças de quimioterapia com tanto carinho.

Aos residentes do Hospital Veterinário, em especial Bela, Barbara, Stella, Carol, Diogo, Tay, Grazi, Auana, Bernard e todos que me acompanharam nos dias de trabalho corrido.

À Rubia, Artur, Miriã, Fernanda, Cecília, Bia, Adônis e Carla, pelas terças insanas e quartas de cirurgia, vocês, com certeza, tornaram tudo mais divertido.

À Tayanne, uma das melhores amigas que a veterinária me deu, que mesmo com a vida de residente, teve tempo para me ouvir e estar ao meu lado.

À Barbara, que mesmo longe, sempre enxergou em mim algum potencial.

Aos animais, aqueles cujos quais eu escolhi dedicar minha vida, principalmente ao Zyos e à Stopa, que me recebiam sempre com a mais pura alegria, mesmo depois de um dia exaustivo (e fedendo a outros cachorros...).

Ao Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG, por disponibilizar seu espaço físico e o material necessário para a execução deste trabalho.

À aeronáutica, especialmente à Ten. Mariana, por gentilmente permitir que eu utilizasse as cadelas de seus canis para serem parte do grupo controle deste trabalho.

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

A responsabilidade maior recairá sempre nos desvios de nós mesmos, que não soubemos guiar os animais no caminho do Amor e do Progresso, seguindo a Verdade de Deus.

(Chico Xavier)



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia Comparada do Departamento de Patologia Geral – ICB / UFMG, com apoio financeiro do CNPq, FAPEMIG e CAPES.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE QUADROS	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE APÊNDICES	14
LISTA DE ANEXOS	15
LISTA DE ABREVIATURAS	16
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. NEOPLASIAS MAMÁRIAS	20
2.2. OBESIDADE	25
2.2.1. DIAGNÓSTICO	26
2.2.2. ESCORE CORPORAL CANINO	27
2.2.3. MEDIÇÃO MORFOMÉTRICA	28
2.2.4. ÍNDICE DE MASSA CORPORAL CANINA	29
2.3. TECIDO ADIPOSEO	29
2.3.1. ADIPOCINAS E EXCESSO DE PESO	29
3. JUSTIFICATIVA	32
4. HIPÓTESE	32
5. OBJETIVOS	32
5.1. OBJETIVO GERAL	32
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
6. MATERIAL E MÉTODOS	33
6.1. ASPECTOS ÉTICOS	33
6.2. POPULAÇÃO	33
6.3. ESTADIAMENTO CLÍNICO	33
6.4. ECC	34
6.5. IMCC	36
6.6. PORCENTAGEM DE GORDURA CORPORAL	36
6.7. DOSAGEM SÉRICA DE ADIPOCINAS	36
6.8. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	37
6.9. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	37
6.10. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	38
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

8.	CONCLUSÕES FINAIS.....	55
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
10.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	57
11.	REFERÊNCIAS.....	57
12.	APÊNDICES.....	68
13.	ANEXOS.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 01.: Escala de classificação do escore de condição corporal (ECC)p 28

Figura 02. Medição morfométricas em cães - adaptado de Burkholder et al. (2000).
CP: circunferência pélvica. CR: distância entre a patela e a tuberosidade do calcâneo.....p.36

Artigo – Figura 01. Escore Corporal Canino, Índice de Massa Corporal Canina e % de Gordura Corporal de cadelas controle s/Ca mama, com excesso de peso s/Ca mama, com excesso de peso e carcinoma mamário e em peso ideal com carcinoma mamário. (s/Ca: sem carcinoma mamário; c/Ca: com carcinoma mamário).....p.44

Artigo – Figura 02. Correlações fortes e positivas entre ECC, IMCC, %GC.....p.45

LISTA DE QUADROS

Quadro 01. Sistema de estadiamento clínico, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, para tumores mamários em cadelas.....p. 34

Quadro 02. Critérios estabelecidos para a classificação do escore de condição corporal (ECC) de acordo com Laflamme (1997)p. 35

Quadro 03. Kits utilizados e seus respectivos fabricantes.....p.37

LISTA DE TABELAS

Artigo - Tabela. 01. Valores de média, desvio padrão e “p” das concentrações de leptina, IL-6, IGF-1 e estrógeno em cada um dos grupos.....p. 45

Artigo – Tabela 02. Correlação fracas e positivas entre as concentrações séricas de Leptina, IL-6, IGF-1 e Estrógeno (E2)p. 45

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A. Produção científica relacionada à dissertação no período de março de 2015 a março de 2017.....p. 68

APÊNDICE B. Produção científica não relacionada à dissertação no período de março de 2015 a março de 2017.....p. 68

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO A.** Comprovante de submissão à revista *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, do artigo intitulado Serum Evaluation of Leptin, IL-6, IGF and Estrogen in obese bitches with initial stages mammary carcinoma.....p. 70
- ANEXO B** Certificado do Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA.....p. 71
- ANEXO C.** Carta de autorização do Centro de Instrução e Adaptação da Aeronáutica, para a utilização das cadelas do canil militar como grupo controle.....p. 72
- ANEXO D.** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos proprietários.....p. 73

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

Cox-2 – Ciclooxigenase-2 / Cyclooxygenase-2

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ECC – Escore Corporal Canino

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ER – Estrogen Receptor

E2 – Estrógeno

%GC – Percentual de Gordura Corporal

HE – Hematoxilina-Eosina / Hematoxylin and Eosin

Her-2 - Receptor de Fator de Crescimento Epidermal tipo 2 / Human Epidermal Growth Factor Receptor type 2

HV- Hospital Veterinário

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

IMCC – Índice de Massa Corporal Canina

LPC – Laboratório de Patologia Comparada

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

IGF-1 – Fator de Crescimento Semelhante a Insulina

IL-6 – Interleucina 6

OMS – Organização Mundial da Saúde

PR – Progesterone Receptor

RE – Receptor de Estrógeno

RP – Receptor de Progesterona

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais / Federal University of Minas Gerais

WHO – World Health Organization

RESUMO

As neoplasias de glândulas mamárias são as mais frequentes em cadelas, onde aproximadamente 84% são classificadas como malignas, sendo 98% caracterizados como carcinomas. A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial com uma incidência entre 22% a 40% na espécie canina, estando associada a diversas outras enfermidades, entre elas o câncer de mama. Este estudo tem por objetivo relacionar a concentração sérica de IL-6, IGF-1, leptina e estrógeno em cadelas não castradas com ou sem excesso de peso e carcinomas mamários em estágio inicial. Foram utilizadas 43 cadelas divididas em quatro grupos, sendo dois grupos de cadelas sem carcinomas mamários, com excesso de peso (10/43) e sem (10/43), e dois grupos de cadelas com carcinomas mamários com (13/43) e sem excesso de peso (10/43). Cadelas com excesso de peso, com ou sem carcinomas mamários, eram estatisticamente diferentes de cadelas em peso ideal, em relação as avaliações corporais de ECC, IMCC e percentual de gordura corpórea ($p < 0,0001$). Foi observada uma correlação positiva entre o ECC e o IMCC ($r = 0,8686$; $p < 0,0001$), o ECC e o %GC ($r = 0,8808$; $p < 0,0001$), e o IMCC e o %GC ($r = 0,7449$; $p < 0,0001$). As análises de estrógeno, leptina, IL-6 e IGF-1 não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos estudados. Demonstrou-se correlação positiva entre as concentrações séricas de leptina e IL-6 ($r = 0,3072$; $p = 0,0451$) e entre leptina e IGF-1 ($r = 0,2998$; $p = 0,05$). Ao analisar os métodos de avaliação corporal e as concentrações séricas encontrou-se correlação positiva entre ECC e leptina ($r = 0,4493$; $p = 0,0053$) e negativa entre ECC e IL-6 ($r = -0,3591$, $p = 0,0435$). Entre o percentual de gordura e a concentração de leptina encontrou-se correlação positiva ($r = 0,4996$; $p = 0,0016$), assim como encontrado entre IMCC e leptina ($r = 0,3785$; $p = 0,0209$). O presente estudo demonstrou uma relação direta entre o excesso de peso e o aumento do percentual de gordura com a leptinemia. No entanto, não foram observadas diferenças nos níveis de IL-6, IGF-1 e estrógeno em relação ao excesso de peso e aos carcinomas mamários. Na amostragem estudada, não foi observada associação entre o excesso de peso e a presença de carcinomas mamários em estágio inicial.

ABSTRACT

Mammary gland neoplasms are the most frequent in bitches, where approximately 84% are classified as malignant, and 98% are characterized as carcinomas. Obesity is considered a chronic and multifactorial disease with an incidence between 22% and 40% in the canine species, being associated with several other diseases, among them breast cancer. The aim of this study was to relate the serum concentration IL-6, IGF-1, leptin and estrogen in non-castrated bitches with or without overweight and early stage mammary carcinomas. Forty-three bitches were divided into four groups, two groups without mammary carcinomas with overweight (10/43) and without (10/43) and two groups of bitches with mammary carcinomas with (13/43) and without overweight (10/43). Overweight bitches, with or without breast carcinomas, were statistically different from bitches by ideal weight, in relation to ECC, IMCC and body fat percentages ($p < 0.0001$). There was a positive correlation between ECC and IMCC ($r = 0.8686$, $p < 0.0001$), ECC and % GC ($r = 0.8808$, $p < 0.0001$), and IMCC and % GC ($r = 0.7449$, $p < 0.0001$). Analyzes of estrogen, leptin, IL-6 and IGF-1 did not show statistically significant differences between the groups studied. A positive correlation was found between serum leptin and IL-6 ($r = 0.3072$, $p = 0.0451$) and leptin and IGF-1 ($r = 0.2998$, $p = 0.05$). A positive correlation ($r = 0.4493$; $p = 0.0053$) between ECC and leptin was found in the analysis of body evaluation methods and serum concentrations, and a negative correlation between ECC and IL-6 ($R = -0.3591$, $p = 0.0435$). Among the fat percentage and the leptin concentration, there was a positive correlation ($r = 0.4996$; $p = 0.0016$), as found between the IMCC and leptin ($r = 0.3785$; $p = 0.0209$). The present study demonstrated a direct relationship between overweight and an increase in fat percentage with leptinemia. However, no differences were observed in IL-6, IGF-1 and estrogen levels in relation to overweight and mammary carcinomas. In the sample studied, no association was observed between overweight and the presence of early stage mammary carcinomas.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da incidência de neoplasias em animais de companhia representa um problema de grande impacto na medicina veterinária e é devido principalmente à maior longevidade dos pacientes, decorrente de melhorias na nutrição, vacinações e prevenções a doenças infectocontagiosas, e ao desenvolvimento de protocolos terapêuticos mais eficazes (NUNES, 2014).

As neoplasias de pele e tecido subcutâneo são as mais frequentes na espécie canina, seguido das neoplasias mamárias (SAMUEL et al., 1999), que são as principais em cadelas inteiras/não castradas, com incidências de aproximadamente 70% (MERLO, 2008). Além dos fatores hormonais (BOCARD, 2008), o excesso de peso é, atualmente, considerado um fator de risco independente para o aparecimento de neoplasias mamárias (PÉREZ ALENZA et al., 1998). A obesidade é capaz de influenciar em tumores mamários, principalmente no início da vida do animal, coincidindo com a fase na qual os hormônios ovarianos exercem maiores efeitos prejudiciais no tecido mamário (SORENMO et al., 2011).

A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial englobando aspectos genéticos, bioquímicos e alimentares (GERMAN, 2009). A incidência de obesidade tem aumentado, na espécie humana assim como na espécie canina, esta última com incidência variando de 22% a 40% (McGREEVY et al. 2005; LUND et al., 2006). Estudos prévios descrevem a correlação entre obesidade em seres humanos e o desenvolvimento de tumores no cólon, tireoide, sistema urinário, endométrio, esôfago e glândula mamária (CALLE, 2004; PERGOLA, 2013; HOWE et al, 2013). No entanto, poucos estudos correlacionam a obesidade e o desenvolvimento de neoplasias em animais de companhia (CLEARY, 2010).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. NEOPLASIAS MAMÁRIAS

A alta frequência de neoplasias de glândulas mamárias em cadelas representa um desafio para a medicina veterinária (MERLO, 2008; CASSALI, 2014).

Aproximadamente 84% são classificadas com neoplasias malignas, sendo 98% caracterizados como carcinomas (NUNES, 2014). Os tumores das glândulas mamárias atingem cadelas de meia idade a idosas, entre 6 a 12 anos de idade, sendo rara a ocorrência em animais jovens. Cadelas inteiras ou castradas após o terceiro cio são mais predisponentes, contudo não há predisposição racial (SORENMO et al., 2013).

Fatores hormonais são bem definidos na etiologia das neoplasias mamárias caninas, uma vez que o risco de desenvolvimento do câncer de mama é essencialmente determinado pela intensidade e duração da exposição do epitélio mamário à ação conjunta de hormônios como prolactina e o estrógeno (KOJIMA et al., 1996). A prolactina facilita a ação mitótica do estrógeno, aumentando o número de seus receptores (MULDOON, 1981). O estrógeno promove o crescimento celular estimulando a liberação do fator de crescimento tumoral e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1). Estes fatores estimulam o crescimento das células tumorais, e inibem o fator de transformação do crescimento β (TGF- β), que regula a atividade proliferativa (NORMAN & LITWACK, 1997).

A ovariectomia precoce parece ser o único método de prevenção das variações hormonais que influenciam no desenvolvimento das neoplasias mamárias caninas. Quando realizada antes do primeiro cio, a incidência de neoplasias mamárias malignas ou benignas, é reduzida. O risco de ocorrência de tumores mamários em cadelas castradas antes do primeiro cio é de 0,5%, 8%, em cadelas castradas antes do segundo cio e aumenta para 26% se as cadelas forem castradas após o segundo ciclo estral (SCHNEIDER et al., 1969). A realização de ovariectomia no momento da ressecção cirúrgica do tumor de mama em cadelas parece não apresentar efeito protetor sobre o aparecimento de novos tumores, metástases ou sobre o prolongamento da sobrevivência global (YAMAGAMI et al., 1996; CASSALI et al., 2014).

A maioria das cadelas apresentando lesões mamárias é considerada clinicamente saudável no momento do diagnóstico e os tumores podem ser identificados pelo proprietário ou pelo veterinário durante exame físico de rotina (SORENMO, 2003). O diagnóstico pode ser realizado através da anamnese associado ao exame clínico completo do animal, incluindo palpação minuciosa das glândulas mamárias

(SORENMO, 2011). Informações como histórico de doenças, ciclo reprodutivo, tempo de aparecimento de lesões e lesões anteriores são importantes para uma análise mais precisa (CASSALI et al, 2014).

Neoplasias mamárias caninas se apresentam, comumente, como nódulos circunscritos, de tamanhos, consistência e mobilidade variáveis. Podem estar associados à úlceras de pele ou reação inflamatória local. Tumores múltiplos são, frequentemente, encontrados em uma única glândula ou envolvendo múltiplas glândulas mamárias, podendo ou não ter o mesmo diagnóstico histológico (KURZMAN, 1986; MISDORP, 1999). As glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais são frequentemente mais acometidas (MISDORP, 2002; CASSALI, 2009; SORENMO et al., 2011).

O comportamento biológico das neoplasias mamárias é bastante variável. A determinação do prognóstico de neoplasias mamárias torna-se importante para a escolha adequada da conduta terapêutica para cada paciente (QUEIROGA; LOPES, 2002). Fatores como idade, estadiamento clínico, tamanho, índice mitótico, tipo e grau histológico, metástases regionais e/ou à distância, densidade de micro vasos e marcadores moleculares (como Cox-2 e Ki-67) influenciam no prognóstico (SORENMO, 2003; CASSALI et al., 2014;). A avaliação do tamanho tumoral é importante, uma vez que, lesões maiores que 5 cm, comumente estão associadas a áreas de ulceração, aderência e apresentam piores prognósticos, além de estarem associados à malignidade, menor expressão de receptores hormonais, maior índice de proliferação celular e menor sobrevida (FERREIRA et al., 2009). A perda da diferenciação celular, diagnósticos de carcinoma sólido, micropapilar, anaplásico, inflamatório, sarcomas, metástases regionais ou à distância, invasões vasculares ou linfáticas, perda da expressão de receptores de estrógeno e progesterona, e altos índices de proliferação celular também contribuem para um pior prognóstico (VON EULER, 2011). A avaliação dos linfonodos regionais é fundamental e deve ser realizada durante o exame clínico de cadelas com tumores mamários. A punção aspirativa com agulha fina (PAAF) é um método seguro para a identificação de metástases (CASSALI et al., 2014). Linfonodos apresentando alterações de forma, volume, tamanho e consistência devem ser puncionados e submetidos à análise citológica. Resultados positivos ou suspeitos para metástases devem ser submetidos à excisão cirúrgica e análise histopatológica (SORENMO, 2003).

O pulmão é o sítio mais comum de metástases à distância em cadelas com neoplasias mamárias malignas (SORENMO, 2003). A radiografia é o método padrão para a detecção de metástases pulmonares com diâmetro superior a 6mm, contudo, o exame de tomografia computadorizada pode apresentar maior precisão na detecção de metástases com diâmetros inferiores (OTONI et al., 2010; CASSALI et al., 2014). A ultrassonografia abdominal é recomendada para investigação de metástases em outros sítios anatômicos (CASSALI et al., 2014). Ossos, sistema nervoso central e pleura também já foram descritos como sítios de metástases de neoplasias mamárias, apesar de incomuns (VON EULER, 2011). Metástases à distância estão associadas à redução da sobrevida global do paciente (QUEIROGA; LOPES, 2002; YAMAGAMI et al., 1996), com taxa de sobrevida de 13,6% um ano após a mastectomia (YAMAGAMI et al., 1996). Cadelas apresentando metástases à distância no momento do diagnóstico apresentaram uma mediana de sobrevida global de 5 meses, sendo significativamente menor quando comparados aos 28 meses nas cadelas sem evidências de metástases à distância (PHILIBERT et al., 2003).

O estadiamento clínico permite determinar a extensão da doença, seu prognóstico, e, conseqüentemente, auxilia no planejamento adequado da conduta terapêutica (CASSALI et al., 2014). Neoplasias mamárias caninas são estadiadas baseadas no sistema TNM, estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (OWEN, 1980), pela avaliação do tamanho do tumor primário (T₁: 0-3 cm; T₂: 3-5 cm; T₃: >5 cm), envolvimento de linfonodos regionais (N₀: não metastático; N₁: metastático) e metástases em órgãos distantes (M₀: não metastático; M₁: metastático). Os animais são categorizados em cinco estágios: I (T₁N₀M₀), II (T₂N₀M₀), III (T₃N₀M₀), IV (T₁₋₃N₁M₀), e V (T₁₋₃N₀₋₁M₁) (SORENMO et al., 2013). Pacientes com estadiamento avançado, ou seja, em estádios IV ou V, apresentam piores prognósticos e menores taxas de sobrevida global (NUNES, 2014).

A identificação de receptores celulares e moleculares neoplásicos na medicina veterinária tem sido permitida por meio da técnica de imuno-histoquímica, resultando na definição de importantes fatores prognósticos e preditivos que fornecem informações referentes ao comportamento biológico da doença e à resposta aos tratamentos (HORTA et al., 2013; CASSALI et al., 2014). Entre os

marcadores descritos como mais importantes nas neoplasias mamárias caninas estão os receptores hormonais - receptor de estrógeno (RE) e receptor de progesterona (RP), marcadores de proliferação celular (Ki-67) e Ciclooxigenase-2 (Cox-2) (CASSALI et al, 2014).

A expressão de RE e RP está relacionada ao melhor prognóstico em cadelas com carcinomas mamários (GRAHAM et al., 1999; SORENMO, 2003). O índice de proliferação celular, avaliado através da expressão de Ki-67, representa um bom marcador prognóstico (DUTRA et al., 2008), uma vez que valores aumentados de Ki-67 têm correlação positiva com metástase, menor tempo livre de doença e menor sobrevida global (PEÑA et al., 1998), e preditivo, considerando que neoplasias com altos índices de proliferação apresentam melhores respostas ao tratamento quimioterápico (SORENMO, 2003). A superexpressão de Cox-2 é descrita em tumores de comportamento biológico mais agressivo e de pior prognóstico e está correlacionada com uma menor sobrevida global (LAVALLE et al., 2009). Além de fator prognóstico, a Cox-2 é considerada um fator preditivo, indicando possível benefício clínico do tratamento de inibidores específicos, como o firocoxib, em neoplasias mamárias caninas apresentando altos escores de Cox-2 (LAVALLE et al., 2012).

A cirurgia é considerada, o tratamento de escolha para as neoplasias mamárias caninas, por ser a modalidade de terapia local mais eficiente no controle das lesões (NOVOSAD, 2003; SORENMO, 2003; VON EULER, 2011). A escolha da técnica cirúrgica depende da extensão da doença, drenagem linfática, tamanho e localização da lesão (SORENMO, 2003; CASSALI et al., 2014). Contudo, não há uma padronização para a extensão da incisão cirúrgica (SORENMO, 2013). Respeitando os princípios de cirurgia oncológica e os fatores prognósticos, lesões menores do que 2,0 cm podem ser removidas através de nodulectomia. As demais podem ser retiradas através de mastectomia simples, em bloco ou radical, sendo que a escolha dependente do tamanho e localização do tumor (HORTA et al., 2013; CASSALI et al., 2014). Não há influência entre a escolha do procedimento cirúrgico no intervalo livre de doença e desenvolvimento de novas lesões mamárias, no entanto, esta escolha deve se basear no conhecimento sobre a drenagem linfática, na quantidade e localização das lesões e nos fatores prognósticos estabelecidos (HORTA et al., 2013). Uma excisão ampla faz-se necessária a fim de retirar

completamente um tumor localizado em uma única glândula mamária, e, em casos de múltiplas lesões, ressecções maiores podem ser necessárias (SORENMO, 2013).

A quimioterapia é indicada para o tratamento de pacientes com neoplasias mamárias de prognóstico desfavorável e estadiamento clínico avançado (CASSALI et al., 2014), entretanto, não há uma padronização nos protocolos utilizados (SORENMO, 2013). Cadelas tratadas com quimioterapia com carboplatina com ou sem associação a inibidores de COX-2 tiveram uma sobrevida global maior que cadelas tratadas apenas com cirurgia (KARAYANNOPOULOU et al., 2001; LAVALLE et al., 2012). A literatura descreve também outros protocolos de tratamento como o uso da doxorrubicina associada à ciclofosfamida, doxorrubicina associada à carboplatina, carboplatina associada à gencitabina e paclitaxel como droga única (SORENMO, 2003; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013; CASSALI et al., 2014).

2.2. OBESIDADE

A obesidade é uma epidemia global, conseqüente ao sedentarismo e a melhora das condições socioeconômicas da população humana (DI CESARE et al., 2016). De acordo com a OMS, em 2014, 39% de pessoas adultas do mundo estavam em sobrepeso e 13% eram obesas. A maioria da população mundial vive em países onde o sobrepeso e a obesidade levam mais pessoas ao óbito do que o baixo peso e a desnutrição (DI CESARE et al., 2016). Esta condição clínica é reconhecida como um problema de saúde mundial, uma vez que é frequentemente associada a uma série de doenças crônicas, tais como a resistência à insulina, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e câncer (ROMACHO, 2014).

O aumento da incidência de obesidade na população humana reflete na população canina, sendo que a frequência desta desordem multifatorial vem aumentando. Isso pode ser justificado pela crescente humanização dos animais de companhia (OLIVEIRA, 2006). A obesidade está associada à fatores sociais e ambientais, sendo considerada uma doença multifatorial (JERICÓ et al., 2009).

A obesidade é definida como armazenamento excessivo de gordura corporal capaz comprometer a homeostase do organismo (GERMAN, 2009). O acúmulo de gordura pode ser devido ao aumento no número das células adiposas ou aumento

no tamanho dos adipócitos. Animais saudáveis possuem aproximadamente de 15 a 25% de gordura corporal. Caso esta porcentagem ultrapasse os 30%, o animal é considerado obeso (BURKHOLDER et al., 2000). Considera-se excesso de peso em cães quando o peso em idade adulta excede em 5% o peso ideal. Se o peso exceder de 15 a 20% é indicativo de obesidade (GERMAN, 2006).

A obesidade é considerada um problema comum em cães, estando associado à uma gama de doenças e mudanças fisiológicas, semelhante ao que é visto no homem (ZORAN, 2010). As principais implicações médicas da obesidade canina são aparecimento de problemas articulares e locomotores (discopatias e ruptura de ligamentos cruzados), alterações endócrinas, intolerância à glicose e consequentemente risco aumentado e agravamento de diabetes *mellitus*, anormalidades no perfil lipídico, dificuldades respiratórias, problemas dermatológicos, desordens reprodutivas, risco aumentado de neoplasias e pancreatite. Além de alteração na cinética de drogas, especialmente anestésicos, aumento do risco cirúrgico, recuperação prolongada, hérnia inguinal, diminuição da resistência física, presença de constipação e flatulência, prejuízos na resposta imune e interferência em procedimentos diagnósticos (GERMAN, 2006; GUIMARÃES & TUDURY, 2006).

2.2.1. DIAGNÓSTICO

O propósito de identificar o grau da obesidade em cães é evitar o comprometimento da função fisiológica normal e dos problemas metabólicos decorrentes pelo excesso de peso (MULLER et al., 2008). O excesso de peso é uma das condições patológicas mais subjetivas de se diagnosticar, e é realizada principalmente através da inspeção do animal. A subjetividade inerente à avaliação por meio da inspeção dificulta a sua utilidade clínica. A correta análise da composição corporal, utilizando medições objetivas, permite identificar níveis de risco, quantificar o excesso de peso corporal e definir um peso ótimo (BURKHOLDER et al, 2000; ELLIOTT, 2006; MULLER et al, 2008).

A avaliação da composição corporal permite identificar os níveis de gordura corporal total e pode ser realizada por diversas técnicas com custos e exatidão variados (HEYWARD, 2001). Atualmente, os métodos mais práticos utilizados para diagnóstico de excesso de peso em cães são: classificação por escore de

condição corporal (ECC) (LAFLAMME, 1997); análise morfométrica, com determinação da porcentagem de gordura corporal (BURKHOLDER et al., 2000); e índice de massa corporal canina (IMCC) (MULLER et al., 2008).

2.2.2. ESCORE CORPORAL CANINO

O escore de condição corporal (ECC) é baseado na inspeção e palpação do paciente, empregando escalas numéricas, podendo variar de 01 a 05 ou de 01 a 09 (LAFLAMME, 1997). O ECC é considerado um método bastante útil devido sua simplicidade. Entretanto, o método foi desenvolvido para avaliar os depósitos de massa adiposa, não sendo capaz de detectar perdas de massa muscular, tornando-o subjetivo (BRUNETTO, 2009).

Sugere-se que o cão está no porte ideal quando as costelas forem facilmente palpáveis e, quando visto de cima, o animal apresentar forma de ampulheta. Por sua vez, abdômen aumentado a partir da última costela, depósitos de gorduras evidentes bilateralmente à inserção da cauda, bacia, região inguinal e gradil costal de difícil palpação são indicativos de excesso de peso (NELSON, 2015). Através destas observações é possível determinar o ECC. Cada ponto, da escala numérica de 1 a 9, equivale aproximadamente ao aumento de 10 a 15% do peso corporal, ou seja, um cão com ECC 7 encontra-se de 20% a 30% acima do peso em relação ao seu peso ideal (LAFLAMME, 2006) (Figura 01).

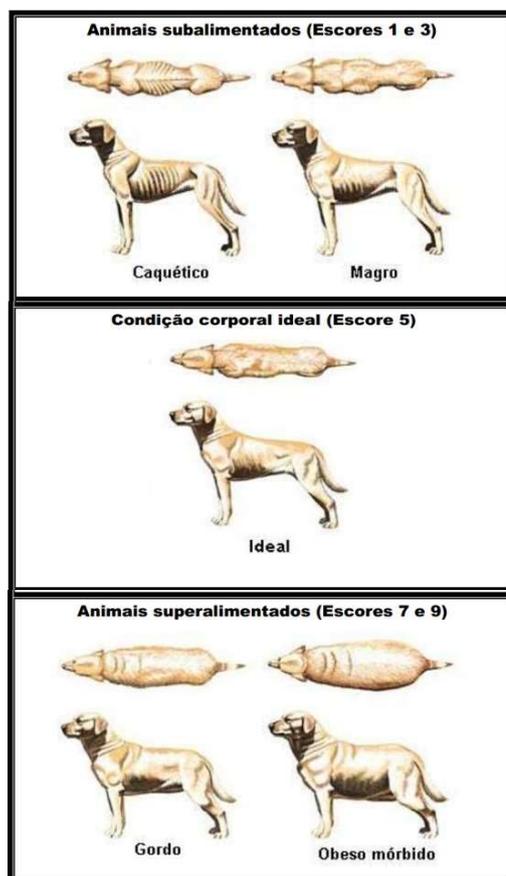


Figura 01: Escala de classificação do escore de condição corporal (ECC)

2.2.3. MEDIÇÃO MORFOMÉTRICA

A medição morfométrica, proposta por Burkholder (2000), mensura a porcentagem de gordura corporal (%GC). Neste método, a medição é realizada com fita métrica sem a utilização de pressão excessiva com os cães em estação, formando um ângulo reto. Os valores da medição são inseridos em uma equação:

$$\%GC \text{ em cadelas} = - 1,7(CRcm) + 0,93(CPcm) + 5$$

Onde CR significa a longitude do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar e CP significa circunferência pélvica. Valores de referência < 5, 5 a 15, 16 a 25, 26 a 35 e > 35 representam, respectivamente, animais caquéticos, magros, com peso ideal, acima do peso e obesos mórbidos (BURKHOLDER et al., 2000).

2.2.4 ÍNDICE DE MASSA CORPORAL CANINA

O índice de massa corporal (IMC) é um indicador muito usado por médicos e pesquisadores para avaliar a “normalidade” do peso corporal de um ser humano e é obtido a partir da divisão da massa corporal (peso) pelo quadrado da estatura (ANJOS, 1992; MCARDLE et al., 2003). Em um estudo, realizado por Muller (2008), onde 246 cães de médio porte foram avaliados, a utilização do IMC foi adaptada para cães utilizando a altura e o peso corporal do animal. Como referência, “altura” refere-se à distância entre a articulação atlanto-occipital até o solo imediatamente atrás dos membros posteriores. A fita métrica, no momento da mensuração, deve passar apoiada sobre a base da cauda (última vértebra sacral), em posição medial às tuberosidades ilíacas, sobre o dorso do animal. Após obtenção dos valores, utiliza-se a fórmula: $IMCC = \text{peso corporal (kg)} / (\text{estatura em m})^2$. Devido à grande variação de tamanho nos cães, Muller (2008) propôs fatores de correção. Em cães de raças grandes ou gigantes, 20% do valor encontrado deve ser subtraído, e em raças miniaturas, ou seja, menores que 10 quilos, 10% do valor deve ser acrescentado. Através desses fatores de correção os animais são divididos em quatro categorias: abaixo de 11,7, abaixo do peso; entre 11,8 e 15, peso ideal; entre 15,1 e 18,6, sobrepeso; e acima, obesos (MULLER, 2008).

2.3. TECIDO ADIPOSEO

O tecido adiposo é, majoritariamente, composto por adipócitos, além de fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (SIKARIS, 2004), pericitos, células dendríticas, mastócitos, granulócitos e linfócitos (HAUGEN, 2007; SETHI, 2007; TRAYHURN, 2007), e desempenha um papel importante no sistema endócrino, caracterizado pela secreção de uma ampla gama de proteínas conhecidas como adipocinas (MASODI et al., 2015). As adipocinas são responsáveis por diversas ações em processos fisiológicos e metabólicos (LIMA

A, 2008; ALANIZ et al., 2006). Assim, o tecido adiposo possui função de reserva energética e endócrina, controlando o consumo alimentar (LIMA, 2008).

2.3.1. ADIPOCINAS E EXCESSO DE PESO

Zoran et al. (2010) relataram os crescentes estudos sobre obesidade que apresentam o tecido adiposo e suas funções relacionadas à produção de substâncias endócrinas

que atuam em processos fisiológicos e patológicos do organismo. Estas substâncias ocasionam um estado de inflamação generalizada discreta (GAYET et al., 2004; CRANFORD et al., 2015; CABIA et al., 2016), podendo estar relacionada à sensibilidade insulínica, alterações lipídicas, metabólicas e respiratórias, além de cardiopatias (GAYET et al., 2004; GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009). O estado inflamatório de baixo grau associado à obesidade está relacionado ao desenvolvimento de doenças crônicas como cardiopatias, *diabetes mellitus* e osteoartrites (LAFLAMME, 2012). Além disso, adipocinas podem afetar a homeostase energética, angiogênese, proteção vascular e coagulação sanguínea (HAVEL, 2004).

O excesso de peso é responsável por alterar a liberação de várias substâncias produzidas pelos adipócitos, tais como leptina, adiponectina, quimiocinas, proteínas de fase aguda (proteína C reativa), fatores hemostáticos e hemodinâmicos, além de neurotrofinas (GERMAN et al., 2010). Várias adipocinas clássicas elevadas na obesidade exercem um papel importante na resposta inflamatória, incluindo a leptina, TNF- α , IL-6 e resistina (CRANFORD et al., 2015; CABIA et al., 2016). Dentre outras adipocinas e substâncias endócrinas produzidas pelo tecido adiposo, encontram-se: proteína estimulante de acilação (ASP), proteína quimiotática de monócitos (MCP), fator inibidor de macrófagos (MIF), fator de crescimento neural (NGF), prostaglandinas, fator de crescimento tumoral (TGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), soro amiloide A (SAA), inibidor do ativador de plaquetas (PAI), receptor de serina (rS), Interleucinas (IL-1, IL-10, IL-18), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) (ZORAN, 2010).

A leptina é um hormônio proteico pró-inflamatório (GAYET et al., 2004; ISHIOKA et al., 2006) e é considerado, inicialmente, anti-obesidade devido aos seus efeitos sobre a fome e saciedade. Alguns trabalhos têm demonstrado que níveis séricos mais elevados de leptina estão relacionados à quantidade maiores de tecido adiposo em cães (GAYET et al., 2004; KIL et al., 2010). Maior expressão do receptor de leptina foi detectado em tumores mamários benignos e carcinomas complexos, quando comparados a tecidos mamários normais e hiperplásicos (RESSEL et al., 2012). Este hormônio pode, também, aumentar a proliferação celular, através da estimulação de IGF-1, e estimular a angiogênese (RENEHAN et al., 2006).

A IL-6 é produzida por diversos tecidos do corpo sofre aumento de 35% em seus níveis circulatórios quando há um excesso de gordura corporal (WEISBERG et al., 2003). Altos níveis de IL-6 estão relacionados com aumento de peso, levando à associação obesidade-inflamação (KIM et al., 2009). Níveis elevados de IL-6, independente do excesso de peso, também foram encontrados em pacientes humanos com diferentes tipos de câncer, incluindo de mama e trato gastrointestinal (LI et al., 2009), sendo associados a efeitos pró-carcinogênicos relacionados à proliferação celular, angiogênese, inflamação e metástase (HAMIDULLAH, 2012; DRYGIN, 2011). Além disso, a IL-6 é um dos sinais ativadores para a via de sinalização NF- κ B, promovendo a indiferenciação celular e, posteriormente, metástases (GERMANO, 2008), reforçando a relação entre obesidade, inflamação e câncer (LORUSSO, 2008; RAMOS-NINO, 2013).

Tendo em vista que a maior produção de citocinas pró-inflamatórias dá-se pelos adipócitos, a relação entre maior secreção e os níveis altos de citocinas em pessoas com obesidade é confirmada. Tal relação pode ser vista também nos animais domésticos (VOLP, 2008).

O IGF-1 é sintetizado no fígado, sob a influência do hormônio do crescimento (GH) (HOLLY, PERKS, 2006), sendo responsável, juntamente com outros fatores, pela regulação do crescimento e do metabolismo (LE ROITH et al., 2001). Fatores como idade e obesidade podem influenciar na concentração sérica de IGF-1. Em geral, a elevação destes níveis está associada ao aumento de peso (GREER, 2011). O eixo GH/IGF-1 apresenta importância na carcinogênese mamária (QUEIROGA et al., 2010), visto que a expressão de receptores de GH é demonstrada em células epiteliais da glândula mamária normais e neoplásicas, em humanos e cães (MOL et al., 1995; VAN GARDEREN et al., 1999). Em células epiteliais da glândula mamária *in vitro*, o IGF-1 foi relacionado ao aumento da atividade mitótica destas células (OOSTERLAKEN-DIJKSTERHUIS et al., 1999).

Os hormônios sexuais, incluindo estrógeno e progesterona desempenham papéis significativos no crescimento e desenvolvimento de câncer de mama humano e canino, através da ativação dos receptores hormonais (LIM et al., 2015). Mulheres obesas apresentam elevadas concentrações de estrógeno proveniente da transformação, no tecido adiposo, da androstenediona em estrógeno, através da

aromatase (YOO et al., 2001). Associado aos fatores hormonais, o excesso de peso é considerado um fator de risco independente para o aparecimento de tumor mamário. Cadelas jovens e obesas têm maior predisposição à neoplasia mamária (PÉREZ ALENZA et al., 1998). Com isso o efeito da obesidade sobre o risco de desenvolvimento de tumor mamário é maior no início da vida do animal, fase também onde os efeitos hormonais no tecido mamário são mais prejudiciais (SORENMO et al., 2011).

3. JUSTIFICATIVA

Baseado na elevada incidência de neoplasias mamárias e uma maior evidência de obesidade em cadelas, torna-se necessário o estudo da relação entre esta desordem multifatorial, inflamação e neoplasias mamárias, considerando que tais associações são frequentemente observadas no câncer de mama da mulher.

4. HIPÓTESE

O excesso de peso, associado a fatores hormonais, é um fator de risco para o aparecimento de neoplasias mamárias.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre excesso de peso, adipocinas pró-inflamatórias e níveis estrogênicos em carcinomas mamários caninos em estágio inicial em cadelas não castradas.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar escore corporal, IMCC e porcentagem de gordura corporal em cadelas sem excesso de peso com e sem carcinomas mamários;
- Avaliar escore corporal, IMCC e porcentagem de gordura corporal em cadelas com excesso de peso com e sem carcinomas mamários;
- Correlacionar escore corporal, IMCC e porcentagem de gordura corporal em cadelas com e sem excesso de peso com e sem carcinomas mamários;

- Mensurar níveis séricos de leptina, interleucina 6, IGF-1 e estrógeno em cadelas saudáveis, cadelas em excesso de peso, com e sem carcinomas mamários;
- Correlacionar níveis séricos de leptina, interleucina 6, IGF-1 e estrógeno com o excesso de peso em cadelas com e sem carcinomas mamários.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. ASPECTOS ÉTICOS

O uso de animais e procedimentos para este estudo prospectivo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo 110/2015).

Os proprietários permitiram a participação de seus animais assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, em anexo.

6.2. POPULAÇÃO

A população deste estudo foram cadelas não castradas, com ou sem excesso de peso apresentando ou não carcinomas mamários em estágio clínico inicial. As cadelas foram atendidas no Hospital Veterinário da UFMG e o grupo controle foi composto por cadelas do canil do Centro de Instrução e Adaptação da Aeronáutica (CIAAR).

Os animais foram divididos em quatro grupos:

G1: Cadelas não castradas, sem excesso de peso, sem carcinomas mamários (10 cadelas) - controle;

G2: Cadelas não castradas, com excesso de peso, sem carcinomas mamários (10 cadelas);

G3: Cadelas não castradas, com excesso de peso e carcinomas mamários em estádios iniciais (13 cadelas);

G4: Cadelas não castradas, sem excesso de peso, com carcinomas mamários em estádios iniciais (10 cadelas).

6.3. ESTADIAMENTO CLÍNICO

O estadiamento foi realizado de acordo com uma versão modificada do sistema TNM original estabelecido pela OMS. O qual levou em consideração o tamanho do tumor primário (T1: 0-3 cm, T2: 3-5 cm, T3:> 5 cm), envolvimento de linfonodos

regionais (N0: não metastático, N1: metastático) e presença de metástases distantes (M0: ausência, M1: presença). Através deste sistema foi possível categorizar os animais em cinco estágios, conforme ilustra a tabela 1 (OWEN, 1980, SORENMO et al., 2013). Em seguida, os animais foram classificados em estadiamento clínico inicial (I-III) e avançado (IV-V).

Quadro 01: Sistema de estadiamento clínico, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, adaptados para animais domésticos, para tumores mamários em cadelas.

Estadiamento clínico	Tamanho do tumor (T)	Linfonodos Regionais (N)	Metástases distantes (M)
I	T ₁	N ₀	M ₀
II	T ₂	N ₀	M ₀
III	T ₃	N ₀	M ₀
IV	T ₁₂₃	N ₁	M ₀
V	T ₁₂₃	N ₀₁	M ₁

6.4. ECC

O Sistema de Índice de Condição Corporal, estabelecido por Laflamme (1997) foi utilizado para avaliação do escore corporal, sendo medido durante o exame clínico, através da inspeção e palpação (Quadro. 02).

Quadro 02: Critérios estabelecidos para a classificação do escore de condição corporal (ECC) adaptado de Laflamme (1997).

Condição	Escore	Características
Subalimentado	1	Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis à distância. Não há gordura corporal discernível. Perda evidente de massa muscular
	2	Costelas, vértebras lombares e ossos pélvicos facilmente visíveis. Não há gordura palpável. Algumas saliências ósseas podem estar visíveis. Perda mínima de massa muscular
	3	Costelas facilmente palpáveis podem estar visíveis sem gordura palpável. Visível o topo das vértebras lombares. Os ossos pélvicos começam a ficar visíveis. Cintura e reentrância abdominal evidente.
Ideal	4	Costelas facilmente palpáveis como mínima cobertura de gordura. Vista de cima, a cintura é facilmente observada. Reentrância abdominal evidente.
	5	Costelas palpáveis sem excessiva cobertura de gordura. Abdômen retraído quando visto de lado.
	6	Costelas palpáveis com leve excesso de cobertura de gordura. A cintura é visível quando vista de cima, mas não acentuada. Reentrância abdominal evidente.
Sobrealimentado	7	Costelas palpáveis com dificuldade; grande cobertura de gordura. Depósitos de gordura evidentes sobre a área lombar e base da cauda. Ausência de cintura ou apenas visível. A reentrância abdominal pode estar presente.
	8	Impossível palpar as costelas situadas sob cobertura de gordura muito densa ou palpáveis somente com pressão acentuada. Grandes depósitos de gordura sobre a área lombar e base da cauda. Cintura inexistente. Não há reentrância abdominal. Poderá existir distensão abdominal evidente.
	9	Maciços depósitos de gordura sobre o tórax, espinha e base da cauda. Depósitos de gordura no pescoço e membros. Distensão abdominal evidente.

6.5. IMCC

O índice de massa corporal canino foi calculado a partir da fórmula:

$$\text{Peso corporal (kg)} / (\text{estatura em metros})^2,$$

Sendo a altura medida a partir da articulação atlanto-occipital até o solo, imediatamente atrás dos membros posteriores.

6.6. PORCENTAGEM DE GORDURA CORPORAL

A determinação da porcentagem de gordura corporal foi obtida pela relação da medição morfométrica da circunferência pélvica e da porção longitudinal do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar (CP e CR, respectivamente) (Figura 01). O cálculo foi realizado a partir da fórmula:

$$\% \text{ GC em cadelas} = - 1,7 (\text{Crcm}) + 0,93 (\text{CPcm}) + 5$$

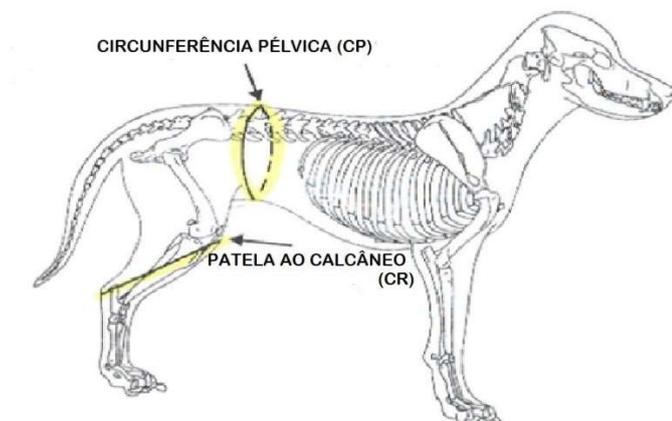


Figura 02. Medição morfométricas em cães - adaptado de Burkholder et al. (2000). CP: circunferencia pélvica. CR: distancia entre a patela e a tuberosidade do calcaneo.

6.7. DOSAGEM SÉRICA DE ADIPOCINAS

Para realização dos testes séricos, amostras de 3ml de sangue de cada animal foram colhidas, por punção venosa, em tubos sem anticoagulante (VacuTainer®) para obtenção de soro. As amostras foram centrifugadas por cinco minutos em 3000rpm para separação do soro e do concentrado de células. Uma vez centrifugado, o soro foi aliquoteado e armazenado em criotubos em ultra freezer -80°C.

A técnica de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) foi utilizada para avaliação sérica de estrógeno, leptina, IGF-1 e IL-6, sendo os dois primeiros por ELISA competitivo, e os últimos por ELISA sanduiche. Foram utilizados kits específicos para a espécie canina, conforme descritos no Quadro 03. As amostras foram processadas em duplicata, em cada corrida adicionou-se um soro controle positivo, controle negativo e um soro branco.

Quadro 03. Kits utilizados e seus respectivos fabricantes

KIT	FABRICANTE
Leptina	MYBIOSOURCE
IGF-1	MYBIOSOURCE
IL-6	R&D SYSTEM
Estrógeno	NEO BIOLAB

6.8. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

As neoplasias de glândulas mamárias foram obtidas através de exérese cirúrgica realizada no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O diagnóstico histopatológico foi realizado pelo Laboratório de Patologia Comparada do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. As neoplasias foram fixadas em formol neutro e tamponado com fosfato a 10%, processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina. Secções histológicas de 4µm foram obtidas e coradas com Hematoxilina-Eosina. A determinação do tipo histológico do tumor foi realizada de acordo com a classificação proposta por Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2014.

6.9. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Pacientes apresentando comorbidades infecciosas, como Leishmaniose, Babesiose e Erliquiose, ou endócrinas, como diabetes e hiperadrenocorticism, detectadas por exames físicos e complementares foram excluídas do trabalho devido à possível influência nas concentrações séricas analisadas por ELISA.

Animais diagnosticados com edema e ascite também foram excluídos por dificultar as análises de condição corporal. Cadelas submetidas à ovariosalpingohisterectomia previamente ao estudo foram excluídas do presente trabalho, a fim de permitir uma melhor avaliação da influência do estrógeno sérico.

Cadelas em estadiamento clínico avançado (IV e V) não foram utilizadas no presente trabalho devido às alterações séricas e em citocinas inflamatórias causadas pelas metástases (Sorenmo et al., 2013).

6.10. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados utilizando o Teste t de Student, e Two way ANOVA seguido pelo post-test de Dums, conforme apropriado. As correlações foram avaliadas através do Teste de Spearman ou Pearson. O coeficiente de correlação foi classificado como positivo ou negativo, e como fraco quando $r < 0,36$, moderado quando $0,36 \leq r \leq 0,67$ e forte quando $r \geq 0,68$ (TAYLOR, 1990). Os valores serão considerados fortemente significativos quando $p < 0,01$ e significativos quando $p < 0,05$.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa GraphPad Prism (Graph Pad Software, San Diego, CA) versão 5.0. Valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão serão apresentados na forma de artigo científico.

Artigo 1 - Submetido para o periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* e formatado segundo as normas da revista.

AVALIAÇÃO SÉRICA DE LEPTINA, IL-6, IGF-1 E ESTRÓGENO EM CADELAS COM EXCESSO DE PESO E PORTADORAS DE CARCINOMAS MAMÁRIOS EM ESTADIO INICIAL

Autores: Stéfane Valgas Teixeira¹, Istéfani Luciene Dayse da Silva¹, Fernanda Camargo Nunes¹, Miriã Rodrigues de Oliveira¹, Cecília Bonolo de Campos¹, Gleidice Eunice Lavallo², Geovanni Dantas Cassali¹

¹. Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

². Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Resumo: As neoplasias de glândulas mamárias são as mais frequentes em cadelas, onde aproximadamente 84% são classificadas como malignas, sendo 98% caracterizados como carcinomas. A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial com uma incidência entre 22% a 40% na espécie canina, estando associada a diversas outras enfermidades, entre elas o câncer de mama. Este estudo tem por objetivo relacionar a concentração sérica de IL-6, IGF-1, leptina e estrógeno em cadelas não castradas com ou sem excesso de peso e carcinomas mamários em estágio inicial. Foram utilizadas 43 cadelas divididas em quatro grupos, sendo dois grupos de cadelas sem carcinomas mamários, com excesso de peso (10/43) e sem (10/43), e dois grupos de cadelas com carcinomas mamários com (13/43) e sem excesso de peso (10/43). Cadelas com excesso de peso, com ou sem carcinomas mamários, foram estatisticamente diferentes de cadelas em peso ideal, em relação as avaliações corporais de ECC, IMCC e percentual de gordura corpórea ($p < 0,0001$). Foi observada uma correlação positiva entre o ECC e o IMCC ($r = 0,8686$; $p < 0,0001$), o ECC e o %GC ($r = 0,8808$; $p < 0,0001$), e o IMCC e o %GC ($r = 0,7449$; $p < 0,0001$). As análises de estrógeno, leptina, IL-6 e IGF-1 não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos estudados. Demonstrou-se correlação positiva entre as concentrações séricas de leptina e IL-6 ($r = 0,3072$; $p = 0,0451$) e entre leptina e IGF-1 ($r = 0,2998$; $p = 0,05$). Ao analisar os métodos de avaliação corporal e as concentrações séricas encontrou-se correlação positiva entre ECC e leptina ($r = 0,4493$; $p = 0,0053$) e negativa entre ECC e IL-6 ($r =$

0,3591, $p=0,0435$). Entre o percentual de gordura e a concentração de leptina encontrou-se correlação positiva ($r=0,4996$; $p=0,0016$), assim como encontrado entre IMCC e leptina ($r=0,3785$; $p=0,0209$). O presente estudo demonstrou uma relação direta entre o excesso de peso e o aumento do percentual de gordura com a leptinemia. No entanto, não foram observadas diferenças nos níveis de IL-6, IGF-1 e estrógeno em relação ao excesso de peso e aos carcinomas mamários. Na amostragem estudada, não foi observada associação entre o excesso de peso e a presença de carcinomas mamários em estadios iniciais.

Palavras-chave: obesidade, sobrepeso, cadelas, carcinomas mamários, estadiamento.

Abstract: Mammary gland neoplasms are the most frequent in bitches, where approximately 84% are classified as malignant, and 98% are characterized as carcinomas. Obesity is considered a chronic and multifactorial disease with an incidence between 22% and 40% in the canine species, being associated with several other diseases, among them breast cancer. The aim of this study was to relate the serum concentration IL-6, IGF-1, leptin and estrogen in non-castrated bitches with or without overweight and early stage mammary carcinomas. Forty-three bitches were divided into four groups, two groups without mammary carcinomas with overweight (10/43) and without (10/43) and two groups of bitches with mammary carcinomas with (13/43) and without overweight (10/43). Overweight bitches, with or without breast carcinomas, were statistically different from bitches by ideal weight, in relation to ECC, IMCC and body fat percentages ($p<0,0001$). There was a positive correlation between ECC and IMCC ($r = 0.8686$, $p <0.0001$), ECC and % GC ($r = 0.8808$, $p <0.0001$), and IMCC and % GC ($r = 0.7449$, $p <0.0001$). Analyses of estrogen, leptin, IL-6 and IGF-1 did not show statistically significant differences between the groups studied. A positive correlation was found between serum leptin and IL-6 ($r = 0.3072$, $p = 0.0451$) and leptin and IGF-1 ($r = 0.2998$, $p = 0.05$). A positive correlation ($r = 0.4493$; $p = 0.0053$) between ECC and leptin was found in the analysis of body evaluation methods and serum concentrations, and a negative correlation between ECC and IL-6 ($R = -0.3591$, $p = 0.0435$). Among the fat percentage and the leptin concentration, there was a positive correlation ($r = 0.4996$; $p = 0.0016$), as found between the IMCC and leptin ($r = 0.3785$; $p = 0, 0209$). The present study demonstrated a direct relationship

between overweight and an increase in fat percentage with leptinemia. However, no differences were observed in IL-6, IGF-1 and estrogen levels in relation to overweight and mammary carcinomas. In the sample studied, no association was observed between overweight and the presence of early stage mammary carcinomas.

Keywords: obesity, overweight, bitches, mammary carcinomas, stage

Os tumores mamários são as neoplasias mais frequentes nas cadelas (MERLO, 2008; CASSALI, 2014). Aproximadamente 84% são diagnosticados como malignos, compostos principalmente por carcinomas (em torno de 90%) (NUNES, 2014). Ocorrem principalmente em cadelas de meia idade a idosas, não castradas ou castradas tardiamente e não há predisposição racial (SORENMO, 2013).

A obesidade é caracterizada como o armazenamento excessivo da gordura corporal capaz de comprometer a homeostase do organismo (BURKHOLDER et al, 2000). É considerada uma doença crônica e multifatorial englobando aspectos genéticos, bioquímicos e alimentares (GERMAN, 2009). Tem sido observado o aumento da sua incidência, tanto na espécie humana quanto na canina, esta última variando entre 22% e 40% (McGREEVY et al. 2005; LUND et al., 2006).

Além da sua função de reserva energética, o tecido adiposo também é um órgão endócrino que controla o consumo alimentar (LIMA, 2008). O excesso de peso é responsável por alterar a liberação de várias substâncias produzidas pelos adipócitos, tais como leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral, interleucina-6, quimiocinas, fatores hemostáticos e hemodinâmicos, além de neurotrofinas (GERMAN et al., 2010).

O excesso de peso é considerado um fator de risco independente para o aparecimento de tumor mamário em cadelas (PÉREZ ALENZA et al., 1998). Estudos prévios correlacionaram obesidade com o desenvolvimento de tumores no cólon, tireoide, sistema urinário, endométrio, esôfago e glândula mamária na espécie humana (CALLE, 2004; PERGOLA, 2013; HOWE et al, 2013). Cleary et al. (2010) descreveram a relação entre obesidade e câncer de mama em humanos e modelos murinos. No entanto, há carência de mais estudos associando o excesso de peso e o desenvolvimento de tumores mamários em animais. Diante disso, este

trabalho tem por objetivo avaliar a relação entre o excesso de peso, citocinas pró-inflamatórias e níveis séricos de estrogênio em carcinomas mamários caninos em estadio inicial.

Material e Métodos

O presente trabalho avaliou cadelas atendidas no Hospital Veterinário da UFMG e oriundas do canil do Centro de Instrução e Adaptação da Aeronáutica (CIAAR) para composição do grupo controle. No total, foram estudadas 43 cadelas, divididas em quatro grupos sendo: dez cadelas em peso ideal (controle), dez com excesso de peso (ambas sem neoplasias mamárias), treze cadelas com excesso de peso e dez cadelas em peso ideal ambas com neoplasia mamária maligna.

Cadelas diagnosticadas com comorbidades infecciosas ou endócrinas, ou edema e ascite foram excluídas do estudo devido à possível influência nas concentrações séricas analisadas e nas avaliações corporais, respectivamente. Apenas cadelas não castradas foram utilizadas para permitir melhor avaliação de estrógeno sérico.

O estadiamento foi realizado de acordo com uma versão modificada do sistema TNM original estabelecido pela OMS. O qual levou em consideração o tamanho do tumor primário (T1: 0-3 cm, T2: 3-5 cm, T3:> 5 cm), envolvimento de linfonodos regionais (N0: não metastático, N1: metastático) e presença de metástases distantes (M0: ausência, M1: presença). Através deste sistema foi possível categorizar os animais em cinco estágios, conforme ilustra a tabela 1 (OWEN, 1980, SORENMO et al., 2013). Em seguida, os animais foram classificados em estadiamento clínico inicial (I-III) e avançado (IV-V). Todos os animais do presente estudo foram classificados em estágio inicial.

Três diferentes avaliações de condição corporal foram realizadas. O escore corporal foi obtido pelo Sistema de Índice de Condição Corporal, variando de 1 a 9, sendo escore 01, animal caquético, e escore 09, animal obeso mórbido (LAFLAMME, 1997). O índice de massa corporal canina, uma adaptação do cálculo de índice de massa corporal humano, foi calculado a partir do peso corporal (kg)/(estatura em metros)², sendo a altura medida a partir da articulação atlanto-occipital até o solo, imediatamente atrás dos membros posteriores. Devido à grande variação de tamanho nos cães, foi proposto dois fatores de correção: em cães de raças grandes

ou gigantes diminuí-se 20% do valor encontrado, e em raças miniaturas, ou seja, menores que 10 quilos, acrescentam-se 10% do valor. Os animais foram divididos em: abaixo do peso ($>11,7$), peso ideal (11,8 e 15) entre 15,1 e 18,6 para animais em sobrepeso, e acima de 18,7 para animais obesos (MULLER, 2008). O percentual de gordura corporal (%GC) foi calculado a partir da relação entre a circunferência pélvica e longitude do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar (CP e CR, respectivamente), utilizando a fórmula: $\%GC = -1,7(Crcm) + 0,93(CPcm) + 5$. As cadelas foram classificadas em: caquéticas (<5), magras (5 a 15), peso ideal (16 a 25), sobrepeso (26 a 35), e obesos mórbidos (>35) (Burkholder ET al., 2000).

A exérese cirúrgica das neoplasias da glândula mamária das cadelas do presente estudo foi realizada no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As neoplasias foram coletadas e enviadas para o Laboratório de Patologia Comparada, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG para diagnóstico histopatológico. As neoplasias foram fixadas em formol neutro e tamponado com fosfato a 10%, processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina. Secções histológicas de $4\mu\text{m}$ foram obtidas e coradas com Hematoxilina-Eosina. A determinação do tipo histológico do tumor foi realizada de acordo com a classificação proposta pelo Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2014 (Cassali et al, 2014).

Para realização dos testes séricos, amostras de 3ml de sangue de cada animal foram colhidas, por punção venosa, em tubos sem anticoagulante (VacuTainer®) para obtenção de soro. As amostras foram centrifugadas por cinco minutos em 3000rpm para separação do soro e do concentrado de células. Uma vez centrifugado, o soro foi alíquotado e armazenado em criotubos em freezer -80°C .

A técnica de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) foi utilizada para avaliação sérica de estrógeno, leptina, IGF-1 e IL-6, sendo os dois primeiros por ELISA competitivo, e os últimos por ELISA sanduíche. As amostras foram processadas em duplicata, em cada corrida adicionou-se um soro controle positivo, controle negativo e um soro branco.

Os dados foram analisados utilizando o Teste t de Student, e two way ANOVA seguido pelo post-test de Dums, conforme apropriado. As correlações foram avaliadas através do Teste de Spearman ou Pearson. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa GraphPad Prism (Graph Pad Software, San Diego, CA) versão 5.0. Valores foram consideradas significativos quando $p < 0,05$.

Resultados

Quarenta e três cadelas foram avaliadas, onde 17/43 (38,64%) sem raça definida e 26/43 (61,36%) de raças puras, sendo, Labrador 4/26 (10%) e Poodle 4/26 (10%) as raças mais comuns. Destas, 17/43 (40,92%) eram de grande porte, 10/43 (22,72%) de médio porte e 16/43 (36,36%) de pequeno porte. As cadelas em excesso de peso e em peso ideal apresentaram média de idade de $7,47 \pm 2,83$ e $7,7 \pm 3,09$, respectivamente. O diagnóstico histopatológico mais frequente das neoplasias da glândula mamária foi o carcinoma em tumor misto 16/23 (70%), seguido pelo carcinoma papilar 3/23 (13,04%). Os demais histotipos foram: adenomioepitelioma maligno 1/23 (4,34%), carcinoma tubular 1/23 (4,34%), carcinoma apócrino 1/23 (3,34%) e adenoma com áreas carcinomatosas *in situ* de padrão sólido 1/23 (4,34%).

As avaliações do ECC, IMCC e percentual de gordura corpórea demonstraram diferenças entre os grupos estudados ($p < 0,0001$), onde cadelas com excesso de peso, com ou sem carcinomas mamários, apresentaram diferenças estatisticamente significantes de cadelas em peso ideal. (Figura 01).

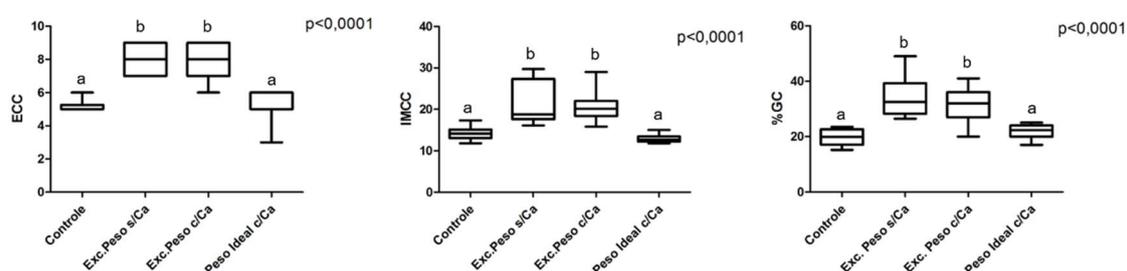


Figura 01: Escore Corporal Canino, Índice de Massa Corporal Canina e % de Gordura Corporal de cadelas controle s/Ca mama, com excesso de peso s/Ca mama, com excesso de peso e carcinoma mamário e em peso ideal com carcinoma mamário. (s/Ca: sem carcinoma mamário; c/Ca: com carcinoma mamário).

Observou-se uma correlação forte e positiva entre o ECC e o IMCC ($r=0,8686$; $p<0,0001$), o ECC e o %GC ($r=0,8808$; $p<0,0001$), e o IMCC e o %GC ($r=0,7449$; $p<0,0001$) (Figura 02).

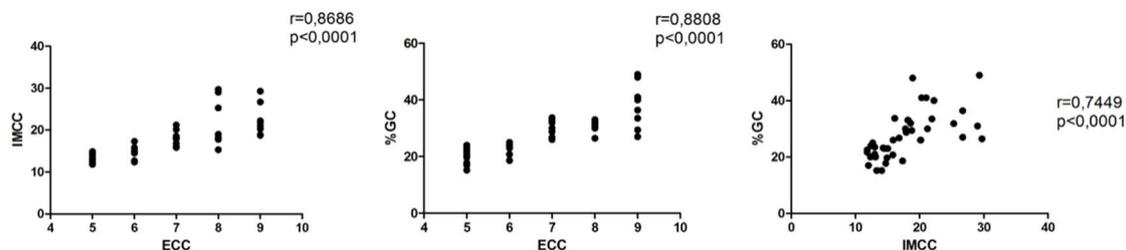


Figura 02: Correlações fortes e positivas entre ECC, IMCC, %GC.

As análises de estrógeno, leptina, IL-6 e IGF-1 não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos estudados (Tabela 01). Uma correlação positiva foi demonstrada entre as concentrações séricas de leptina e IL-6 ($r=0,3072$; $p=0,0451$) e entre leptina e IGF-1 ($r=0,2998$; $p=0,05$) (Tabela 02).

Tabela. 01: Valores de média, desvio padrão e “p” das concentrações de leptina, IL-6, IGF-1 e estrógeno em cada um dos grupos.

	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		P
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	
Leptina (ng/mL)	9,5301	7,695	8,8883	8,61	10,0861	6,312	6,48	5,15	0,73
IL-6 (pg/mL)	0,9059	0,622	1,01007	0,36	0,6001	0,485	0,648	0,48	0,242
IGF-1 (ng/mL)	274,096	127,72	203,0201	113,79	267,934	139,3	263,017	193,6	0,447
E2 (pg/mL)	832,557	246,02	644,789	254,77	604,526	203,2	683,65	313,4	0,12

Tabela. 02: Correlação fracas e positivas entre as concentrações séricas de Leptina, IL-6, IGF-1 e Estrógeno (E2).

	Leptina	IL-6	IGF-1	Estrógeno
Leptina	1	R=0,3072 p=0,0451*	R=0,2998 p=0,0508*	R=0,055 p=0,7678
IL-6	R=0,3072 p=0,0451*	1	R=-0,014 p=0,2960	R=0,3276 p=0,0888
IGF-1	R=0,2998 p=0,0508*	R=-0,014 p=0,2960	1	R=-0,1 p=0,5339
E2	R=0,055 p=0,7678	R=0,3276 p=0,0888	R=-0,1 p=0,5339	1

Ao analisar os métodos de avaliação corporal e as concentrações séricas encontrou-se uma correlação positiva ($r=0,4493$; $p=0,0053$) entre ECC e leptina, e entre ECC e IL-6 foi observada uma correlação negativa ($r=-0,3591$, $p=0,0435$). Entre o percentual de gordura e a concentração de leptina encontrou-se uma correlação positiva ($r=0,4996$; $p=0,0016$), assim como encontrado entre IMCC e leptina ($r=0,3785$; $p=0,0209$).

Discussão

A média de idade das cadelas com excesso de peso foi de $7,4 \pm 2,89$ anos, demonstrando que animais adultos têm maior predisposição ao ganho de peso, uma vez que há descenso da massa magra corporal, o que provoca uma diminuição do metabolismo basal, das necessidades energéticas diárias e também da atividade voluntária (DIEZ & NGUYEN, 2006; COURCIER et al., 2010). Contudo, existem variáveis capazes de influenciar no ganho e no maior armazenamento de gordura como dieta, a prática de exercícios e, inclusive, perfil de proprietário e habitação.

A média de idade das cadelas portadoras de carcinomas mamários foi de $9 \pm 1,95$ e $10,1 \pm 2,33$ nos grupos com excesso de peso e em peso ideal, respectivamente, confirmando a média de idade, entre 6 e 12 anos, para o aparecimento de neoplasias mamárias, principalmente malignas (CASSALI et al., 2014). Cadelas com excesso de peso apresentaram carcinomas mamários mais precocemente que as em peso ideal, demonstrando uma possível influência do excesso de peso no desenvolvimento de neoplasias mamárias. Perez Alenza et al. (1998) descreveram que cadelas com excesso de peso, desde a juventude ou até um ano antes do diagnóstico pode aumentar o risco de câncer de mama.

O excesso de peso já é a alteração nutricional mais comuns nos animais de companhia da atualidade (KIENZLE; BERGLER; MANDERNACH, 1998, McGREEVY et al., 2005). Diez & Nguyen (2006) relataram uma prevalência mínima de 20% de cães em excesso de peso em países industrializados e em grandes cidades. Assim como em humanos (ROMACHO, 2014), a obesidade é associada à uma gama de doenças e mudanças fisiológicas nos animais de companhia, em especial, os cães (ZORAN, 2010). A associação com neoplasias mamárias vem sendo estudada devida à importância de ambas enfermidades e suas possíveis associações.

A obesidade é uma das condições clínico-patológicas mais subjetivas de se diagnosticar, e é realizada principalmente através da inspeção do animal. A correta avaliação da composição corporal, utilizando medições objetivas, permite identificar níveis de risco, quantificar o excesso de peso corporal e definir um peso ótimo (BURKHOLDER *et al*, 2000; ELLIOTT, 2006; MULLER *et al*, 2008). Os resultados encontrados neste trabalho demonstram a importância de associar diferentes métodos de diagnóstico de sobrepeso e obesidade, uma vez que são capazes de diagnosticar corretamente a condição corporal do animal e se complementam. O ECC, estabelecido por Laflamme (1997) é o mais subjetivo, contudo, o mais simples e rápido, sendo possível realiza-lo durante o exame clínico geral. O IMCC e às medições morfométricas não podem ser consideradas complexas, no entanto, demandam uma maior atenção ao realizar as medições do animal e, para determinação do percentual de gordura, é necessário utilizar os valores encontrados em uma fórmula matemática (BURKHOLDER *et al*, 2000; MULLER *et al*, 2008). Associados, estes três métodos são capazes de determinar, com precisão, a condição corporal do animal.

O mecanismo exato pelo qual a obesidade influencia o desenvolvimento e prognóstico do câncer de mama permanece desconhecido, embora fatores secretados por adipócitos, incluindo aromatase, leptina (GUO *et al.*, 2012), adiponectina (JARDÉ *et al.*, 2011), IGF-1 (DOLKA *et al.*, 2011) e citocinas inflamatórias (IL-6, TNF- α), foram descritos como importantes (LORINCZ AND SUKUMAR, 2006; LIM *et al.*, 2015).

A obesidade é descrita como uma enfermidade capaz de influenciar o desenvolvimento, progressão e prognóstico do câncer de mama em mulheres pós-menopausa (KEY *et al.*, 2001; CALLE, 2004; PERGOLA, 2013; HOWE *et al*, 2013) assim como em cadelas (PEREZ-ALENZA *et al.*, 1998; DOLKA *et al.*, 2011; GENTZEL, 2013; LIM *et al.*, 2015). A ausência de diferença estatística nas concentrações séricas de leptina, IL-6, IGF-1 e estrógenos entre os grupos analisados pode ser devido à população deste estudo ser composta de cadelas diagnosticadas com carcinomas mamários em estadio inicial. A inflamação, em alguns tecidos, pode, comumente, aumentar as chances de câncer. Citocinas e quimiocinas são componentes capazes de promover angiogênese, metástases, evasão do sistema imune e das respostas aos agentes quimioterápicos (GERMANO;

ALLAVENA; MANTOVANI, 2008). Alguns autores descreveram que as citocinas influenciadas pelo excesso de peso eram responsáveis por aumentar o risco de câncer (PÉREZ ALENZA et al., 1998; GERMAN, 2010; CLEARY, 2010). Também têm demonstrado que estes fatores inflamatórios contribuem para a progressão tumoral e uma maior taxa de mortalidade decorrente do tumor (SIMPSON; BROWN, 2013). Altas concentrações de fatores inflamatórios têm sido associadas a fatores de pior prognóstico, como estadiamento avançado (MARTINS, 2016). Um exemplo seriam as altas concentrações de IL-6, devido ao estresse oxidativo causado, levando à promoção e progressão tumoral (MADEDDU, 2015).

A ausência de diferenças significativas entre as concentrações de IGF-1 contradiz os achados de Greer (2011) que observou maior concentração em cadelas com sobrepeso. De acordo com NAM et al. (1997) e GOODWIN et al. (2002) a maior concentração sérica de IGF-1 está associada ao aumento da insulina.

Queiroga et al. (2010) descreveram que animais em sobrepeso ou obesos portadores de neoplasias mamárias apresentavam maior concentração sérica de IGF-1, quando comparadas às cadelas sem neoplasias. Contudo, o mesmo não foi encontrado no presente estudo, possivelmente devido ao IGF-I estar envolvido na estimulação da angiogênese e, principalmente, progressão das neoplasias (GRIMBERG, COHEN, 2000; HOLDAWAY et al., 2003; CHONG et al., 2007). Alguns trabalhos mostraram que camundongos deficientes em IGF-1 não eram somente menores, como viviam mais e apresentavam uma considerável redução nas enfermidades relacionadas ao avanço da idade como cataratas, aterosclerose e câncer (BARTKE et al., 2003; DEEB AND WOLF, 1994; MENEZES OLIVEIRA et al., 2006; SHECHTER ET AL. 2007).

A ausência de relevância estatística nas concentrações séricas de IL-6, dentre os diferentes grupos, pode ser explicada pelo fato de que o aumento destas concentrações está mais relacionado a neoplasias mamárias de alto grau e em estadiamento avançado (MAJED, 2008; BALABAN et al., 2015; MARTINS, 2016). Tal resultado pode ser devido à concentração sérica de IL-6 ser influenciada por diversos fatores como a idade, onde animais mais velhos podem sofrer

processos inflamatórios crônicos sem sinal clínico evidente, alterando seu padrão de citocinas.

A correlação positiva entre ECC e leptina reitera a importância da leptina como marcador de adiposidade em cães (SAGAWA et al., 2002; ISHIOKA et al., 2006; KIL et al., 2010), sendo possível a sua utilização na rotina clínica para o diagnóstico de obesidade. A correlação negativa entre ECC e IL-6 é contrária à associação entre o excesso de peso e a inflamação, principalmente subaguda, descrita em trabalhos prévios (GAROFALO, 2006; LORUSSO, 2008; KIM et al., 2009; GERMAN et al., 2010; GHOSH, 2013; GILBERT, 2013; RAMOS-NINO, 2013; VANSAUN, 2013; BASTIEN, 2015; MARTINS et al., 2016). Uma hipótese é haver um limiar para o aumento desta interleucina, uma vez que a concentração de IL-6 foi discretamente maior nas cadelas em sobrepeso em relação às cadelas obesas, contudo, sem relevância estatística.

As correlações observadas entre as concentrações séricas de leptina e IL-6, assim como as entre leptina e IGF-1, sem diferença entre cadelas com e sem neoplasias mamárias demonstram a inflamação crônica de baixo grau que animais em sobrepeso ou obesos costumam desenvolver (GERMAN et al., 2010; O'NEILL et al., 2012; TVARIJONAVICIUTE et al., 2012; VAN DE VELDE et al., 2012; BASTIEN, 2015). A leptina e a IL-6 estão relacionadas às atividades carcinogênicas, envolvidas na iniciação e progressão tumoral (GAROFALO, 2006; GHOSH, 2013; GILBERT, 2013; VANSAUN, 2013; BASTIEN, 2015; MARTINS et al., 2016), sendo esperado encontrar maiores níveis dessas citocinas nas cadelas apresentando neoplasias mamárias.

O estrógeno é um hormônio sexual que tem sido associado ao acúmulo central de adipócitos. Em mulheres na menopausa, o tecido adiposo é importante fonte de estrógeno e é considerado o motor principal para o crescimento de células tumorais na mama (GRONDIN et al., 1973; HEMSELL, 1974; IL'YASOVA, 2005; BROWN, 2014). Considerando o papel, já bem estabelecido, do estrógeno na carcinogênese mamária canina (SCHNEIDER et al., 1969; SILVA; SERAKIDES; CASSALI, 2004; BOCARDO, 2008) um aumento nas concentrações séricas de estrógeno nas cadelas com excesso de peso e com neoplasias mamárias era esperada, porém, não foi demonstrada. Tal diferença, possivelmente, não foi

encontrada devido às cadelas deste estudo apresentarem fases diferentes do ciclo estral.

Conclusão

O aumento de percentual de gordura e o excesso de peso apresentaram relação direta com os níveis séricos de leptina. Não houve diferença nos níveis de IL-6, IGF-1 e estrógeno em cadelas com excesso de peso com ou sem carcinomas mamários em estadio inicial.

Referências

- BALABAN, S. et al. Obesity and cancer progression: is there a role of fatty acid metabolism? **Biomed Res Int**, v. 2015, n. Table 1, p. 274585, 2015.
- BARTKE, A.; CHANDRASHEKAR, V.; DOMINICI, F.; TURYN, D.; KINNEY, B.; STEGER, R. et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and aging: controversies and new insights. *Biogerontology* 4:1–8. 2003.
- BASTIEN, B. C.; PATIL, A.; SATYARAJ, E. Veterinary Immunology and Immunopathology The impact of weight loss on circulating cytokines in Beagle dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 163, n. 3–4, p. 174–182, 2015.
- BOCARDI, M.; DABUS, D. M. M.; TENTRIN, T. C.; LIMA, G. S.; BARIANI, M. H.; Influência hormonal na carcinogênese mamária em cadelas. *Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano VI. Número 11. Julho de 2008.
- BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesidad. In: HAND, M. S. ET al. *Nutrición clinica en pequeños animales*. 4ª edição. p. 475-508, 2000.
- CALLE, E. E.; Thun M. J. Obesity and cancer; *Oncogene*; v.23; 6365– 6378, 2004.
- CASSALI, G. D., et al.; Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors - 2013. *Braz J Vet Pathol*, 7(2), 38 – 69, 2014.
- CLEARY, M. P.; GROSSMANN, M. E.; RAY, A. Effect of obesity on breast cancer development. *Veterinary Pathology* 47(2) 202-2013, 2010.
- COURCIER, E.A. et al. An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. *Journal of Small Animal Practice*, v.51, p.362-367, 2010.
- DEEB, B.; WOLF, N. S. Studying longevity and morbidity in giant and small breeds of dogs. *Vet Med (Suppl, Geriatric Medicine)* 89:702–713, 1994.
- DIEZ, M.; NGUYEN, P. Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dog. In: PIBOT, P. et al. *Encyclopedia of canine clinical nutrition*. France: Aiwa SAS, 2006.

- DOLKA, I. et al. Relationship between receptors for insulin-like growth factor – I , steroid hormones and apoptosis-associated proteins in canine mammary tumors. v. 14, n. 2, p. 245–251, 2011.
- GAROFALO, C.; SURMACZ, E.; Leptin and cancer. *J Cell Physiol*, 207: 12–22, 2006.
- GENTZEL, J. B. Does contemporary canine diet causes cancer? ; A review. **Veterinary World**, v. 6, p. 632–639, 2013.
- GERMAN, A. J. et al. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 27, p. 214-226, 2009.
- GERMAN, A. J.; RYAN, V. H.; GERMAN, A. C.; WOOD, I. S.; TRAYHURN, P. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. *The Veterinary Journal*, v. 185, p. 4-9, 2010.
- GERMANO, G.; ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. *Cytokine*, 43, 3, 374–379, 2008.
- GHOSH, S.; ASHCRAFT, K. An IL-6 link between obesity and cancer. *Front Biosci (Elite Ed)*, 5: 461–478, 2013.
- GILBERT, C.A.; SLINGERLAND, J.M. Cytokines, obesity, and cancer: new insights on mechanisms linking obesity to cancer risk and progression. *Annu Rev Med*, 64: 45–57, 2013.
- GOODWIN, P.J.; ENNIS, M.; PRITCHARD, K.I. et al. Fasting insulin and outcome in early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *J Clin Oncol*. 20(1):42–51, 2002.
- GREER, K. A.; HUGHES, L. M.; MASTERNAK, M. M. Connecting serum IGF-1, body size, and age in the domestic dog. p. 475–483, 2011.
- GRODIN, J.M.; SIITERI, P.K.; MACDONALD, P.C. Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinolmetab*. 36(2): 207–14,1973.
- GUO, S. et al. Oncogenic role and therapeutic target of leptin signaling in breast cancer and cancer stem cells. *Biochimica et biophysical acta*, v. 1825, n. 2, p. 207–22, 2012.
- HEMSELL, D.L.; GRODIN, J.M.; BRENNER, P.F.; SIITERI, P.K.; MACDONALD, P.C. Plasma precursors of estrogen. II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. *J Clin Endocrinolmetab*.38(3):476–9, 1974.
- HOWE, L. R.; SUBBARAMAIAH, K.; HUDIS, C. A.; DANNENBERG, A. J. Molecular pathways: Adipose inflammation as a mediator of obesity-associated cancer. *Clinical cancer research*, v.19, n.22, p. 6074-6083, 2013.
- IL'YASOVA, D.; COLBERT, L.H.; HARRIS, T.B.; NEWMAN, A.B.; BAUER, D.C.; SATTERFIELD, S.; et al. Circulating levels of inflammatory markers and

cancer risk in the health aging and body composition cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;14(10):2413–8, 2005.

ISHIOKA, K.; HOSOYA, K.; KITAGAWA, H.; SHIBATA, H.; HONJOH, T.; KIMURA, K.; SAITO, M. Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, genre and breeds. *Research Veterinary Science*. Feb; 82(1):11-5, 2006.

JARDE, T.; CALDEFIE-CHEZET, F.; DAMEZ, M.; et al. Leptin and leptin receptor involvement in cancer development: a study on human primary breast carcinoma. *Oncol Rep*. 19(4):905–911, 2008.

JARDÉ, T. et al. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European journal of cancer*, v. 47, n. 1, p. 33–43, 2011.

KEY, T.J.; VERKASALO, P.K.; BANKS, E. Epidemiology of breast cancer. *The Lancet Oncology* 2, 133–140, 2001.

KIENZLE, E., BERGLER, R. & MANDERNACH, A. A comparison of the feeding behavior and the human-animal relationship in owners of normal and obese dogs. *Journal of Nutrition*, 128: 2779S-2782S, 1998.

KIL, D.Y.; SWANSON, K.S. Endocrinology of Obesity. *Veterinary Clinical Small Animal*; 205–219; 2010.

KIM, J. H.; BACHMANN, R. A.; CHEN, J. “Interleukin-6 and insulin resistance, “*Vitamins & Hormones*, vol.80, pp.613–633, 2009.

LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract*. 22, p. 10-15. 1997.

LIM, H. Y. et al. Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. ***Veterinary journal (London, England : 1997)***, v. 1, p. 1–6, 2015.

LIMA, F.B. Tecido Adiposo: Uma Breve Perspectiva Histórica e o Momento Atual. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia*. 52/6, 2008.

LORINCZ, A.M.; SUKUMAR, S. Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 13, 279–292, 2006.

LORUSSO, G.; RUEGG, C. The tumor microenvironment and its contribution to tumor evolution toward metastasis. *Histo- chemistry and Cell Biology*, 130, 6, 1091–1103, 2008.

LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US Veterinary Practices. *International Journal of Applied Research Veterinary Medical*, v.4, p. 177-186, 2006.

MADEDDU, C.; GRAMIGNANO, G.; FLORIS, C.; MURENU, G.; SOLLAI, G.; MACCIO, A. “Role of inflammation and oxidative stress in post-menopausal estrogen-dependent breast cancer,” *Journal of Cellular andMolecularMedicine*, vol. 18, no. 12, pp. 2519–2529, 2014.

MAJED, B.; MOREAU, T.; SENOUCI, K.; SALMON, R. J.; FOURQUET, A.; ASSELAIN, B. “Is obesity an independent prognosis factor in woman breast cancer?” *Breast Cancer Research and Treatment*, vol. 111, no. 2, pp. 329–342, 2008.

MARTINS, G. R. et al. Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines Mediated by NF- κ B Factor as Prognostic Markers in Mammary Tumors. v. 2016, 2016.

McGREEVY, P. D., THOMSON, P. C., PRIDE, C., FAWCETT, A., GRASSI, T., JONES, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Research*, 695–702. 2005.

MENEZES OLIVEIRA, J. L.; MARQUES-SANTOS, C.; BARRETO-FILHO, J. A.; XIMENES FILHO, R. et al. Lack of evidence of premature atherosclerosis in untreated severe isolated growth hormone (GH) deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2093–2099, 2006.

MERLO, D. F. Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.22, n. 4, p. 976 – 984, 2008.

MULLER, D. C. M., SCHOSSLER, J. E. W. Adaptação do índice de massa corporal humano para cães de companhia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.4, p.1038-1043, jul., 2008.

NAM, S.Y.; LEE, E.J.; KIM, K.R. et al. Effect of obesity on total and free insulin-like growth factor (IGF)-1, and their relationship to IGFbinding protein (BP)-1, IGFBP-2, IGFBP-3, insulin, and growth hormone. *Int J Obes*. 21(5):355–359, 1997.

NUNES, F.C., GAMBA, C.O., DAMASCENO, K.A., CAMPOS, C.B., HORTA, R.S., ARAUJO, M.R., MONTEIRO, L.N., LAVALLE, G.E., FERREIRA, E., CASSALI, G.D. Analysis of clinic-pathological data, therapeutical conduct and overall survival of canine mammary lesions attended at veterinary hospital of the Federal Hospital of the Federal University of Minas Gerais (UFMG). Abstracts – II Encontro de Patologia Mamária Diagnóstico, Prognóstico e Tratamento das Neoplasias Mamárias da Cadela. *Braz. J. Vet. Pathol*, 7(2): 106 – 143, 2014.

O’NEILL, S., DROBATZ, K., SATYARAJ, E., HESS, R. Evaluation of cytokines and hormones in dogs before and after treatment of diabetic ketoacidosis and in uncomplicated diabetes mellitus. *Vet. Immunol. Immunopathology*. 148, 276–283, 2012.

OOSTERLAKEN-DIJKSTERHUIS, M.A., KWANT, M.M., SLOB, A., HELLMEN, E., MOL, J.A. IGF-I and retinoic acid regulate the distribution pattern of IGFBPs synthesized by the canine mammary tumour cell line CMT-U335. *Breast Cancer Research and Treatment* 54, 11–23, 1999.

OWEN, L. N. *The TNM Classification of tumors in domestic animals*. 1 ed. Geneva: World Health Organization, 1980.

PEREZ ALENZA, M. D., RUTTEMAN, G. R., PEÑA, L. et al. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.12, n.3, p.132-9, 1998.

PERGOLA, G.; SILVESTRIS, F. Review article. Obesity as a major risk factor for cancer. *Journal of obesity*, v.2013, 2013.

RAMOS-NINO, M. E. The role of chronic inflammation in obesity-associated cancers. *ISRN oncology*, v. 2013, p.11-12, 2013.

ROMACHO, T.; ELSEN, M.; ROHRBORN, D.; ECKEL, J. Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physio (Oxf)* Apr;210(4):733-53, 2014.

SAGAWA, M.M.; NAKADOMO, F.; HONJOH, T.; ISHIOKA, K.; SAITO, M. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *American Journal Veterinary Research*, Jan; 63(1):7-10, 2002.

SCHNEIDER, R.; DORN, C. R.; TAYLOR, D. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival, *J Natl Cancer Inst* 43:1249-1261, 1969.

SHECHTER, M.; GINSBERG, S.; SCHEINOWITZ, M.; FEINBERG, M. S.; LARON, Z. Obese adults with primary growth hormone resistance (Laron syndrome) have normal endothelial function. *Growth Horm IGF Res* 17:165–170, 2007.

SIMPSON, E. R.; BROWN, K. A. Minireview: Obesity and Breast Cancer: A Tale of Inflammation and Dysregulated Metabolism. *Molecular Endocrinology*. 27, 715-725, 2013.

SILVA, A. E. DA; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. *Ciência Rural*, v. 34, n. 2, p. 625–633, 2004.

SORENMO, K.U., DEANNA, R.W., GOLDSMIDT, R.H. Tumors of the mammary gland. WITHROW SJ., VAIL DM. *Withrow & MacEwen's Small animal clinical oncology*. 5° Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 553-571, 2013.

TVARIJONAVICIUTE, A., TECLES, F., MARTINEZ-SUBIELA, S., CERON, J.J. Effect of weight loss on inflammatory biomarkers in obese dogs. *Vet. J.* 193, 570–572, 2012.

VAN DE VELDE, H., JANSSENS, G.P., STUYVEN, E., COX, E., BUYSE, J., HESTA, M. Short-term increase of body weight triggers immunological variables in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathology*. 145, 431–437, 2012.

VANSAUN, M.N. Molecular pathways: adiponectin and leptin signaling in cancer. *Clin Cancer Res*, 19: 1926–1932, 2013.

WAUTERS, M.; CONSIDINE, R.V.; VAN GAAL, L.F. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol*. 143(3):293–311, 2000.

ZORAN, D. L. Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 40:221-23, 2010.

8. CONCLUSÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, nas condições metodológicas empregadas, concluimos que:

- Animais da raça Labrador possuem uma predisposição à obesidade;
- Cadelas em excesso de peso tendem a desenvolver neoplasias mamárias mais jovens;
- A associação de métodos como ECC, IMCC e medidas morfométricas são válidas para um diagnóstico preciso de obesidade;
- A IL-6 pode ter um papel de maior importância na progressão tumoral;
- A leptina é um importante marcador sérico de adiposidade, podendo ser usado na rotina clínica como um diagnóstico auxiliar de obesidade;
- A associação entre leptina e IL-6 e entre leptina e IGF-1 demonstram inflamação crônica de baixo grau que animais com excesso de peso.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim como as neoplasias mamárias, a obesidade tem se tornado frequente nos animais de companhia, principalmente na espécie canina. A literatura disponível relacionada a obesidade e sua associação à diversos tipos de câncer vem mostrando uma relação entre tal excesso de peso e o desenvolvimento e progressão de neoplasias mamárias malignas, principalmente em mulheres.

Nos últimos anos, observou-se um aumento de animais com excesso de peso atendidos na rotina do Hospital Veterinário da UFMG. Uma hipótese foi criada por nosso grupo de estudo: Estaria o aumento da incidência de cadelas com excesso de peso relacionado ao aumento dos diagnósticos de neoplasias mamárias?

No nosso trabalho, percebemos que o diagnóstico clínico de obesidade é muito subjetivo, sendo necessário a associação de alguns métodos. Recomendamos a

associação dos métodos de Laflamme, que determina o escore corporal do animal, e os cálculos de IMCC e porcentagem de gordura corporal. Podemos observar, também, que a leptina seria um importante marcador sérico, auxiliando no diagnóstico de obesidade.

Inicialmente, nosso projeto tinha como objetivo analisar em torno de oito citocinas e adipocinas liberadas e influenciadas pelo excesso de tecido adiposo e relacioná-las com neoplasias mamárias malignas de diversos tipos histológicos e estadiamentos. Entre elas, iríamos avaliar TNF-alfa, adiponectina, PCR e IL-1, além das avaliadas no trabalho final. Contudo, devido à crise que se instalou no país e a restrição de recursos para pesquisa, tivemos que selecionar as substâncias mais importantes, principalmente pela dificuldade de adquirir os kits necessários. Além disso, houve uma inesperada redução nos exames histopatológicos realizados pelo Laboratório de Patologia Comparada, muito provavelmente também devido à crise financeira que o país e a população vem passando. Logo, tivemos que diminuir o número amostral e limitar o estadiamento, para que não houvesse vieses na hora das análises dos resultados.

Já com as mudanças pré-definidas, o presente estudo desenvolveu-se de maneira adequada, contudo não foi capaz de demonstrar uma associação direta entre carcinomas mamários caninos em estágio inicial e cadelas com excesso de peso, entretanto, surgiram novos questionamentos.

Diante dos nossos resultados e da literatura consultada, pensou-se na hipótese de que existir um limiar para o aumento de IL-6, uma vez que a concentração desta interleucina foi discretamente maior nas cadelas em sobrepeso em relação às cadelas obesas. Observamos também, uma maior associação do excesso de peso com a progressão tumoral em detrimento do desenvolvimento das neoplasias, justificando assim, a ausência de diferença significativa em nossos resultados.

Certamente novos trabalhos devem ser conduzidos com animais em excesso de peso, havendo um acompanhamento e associando às lesões benignas, não neoplásicas, benignas e malignas com diferentes estádios. Uma nova linha de pesquisa deve ser desenvolvida, a partir de mais estudo sobre a importância do excesso de peso no desenvolvimento, promoção e progressão de neoplasias mamárias.

10. PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudos complementares incluindo maior número de casos são necessários para uma melhor avaliação das substâncias liberadas pelo tecido adiposo, em caso de excesso de peso, e sua relação com o desenvolvimento de carcinomas mamários caninos. Novos estudos que relacionem o excesso de peso e a progressão tumoral fazem-se necessários. Estudar, também, a influência exercida pelo excesso de peso em cadelas com carcinoma mamário em estadiamento avançado.

11. REFERÊNCIAS

- ALANIZ, M. H. F., JULIE, T., VALE, M. I. C. A., LIMA, F. B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia, vol. 50, nº 2, abril, 2006.
- ANJOS, L. A. Índice de massa corporal (massa corporal, estatura-2) como indicador do estado nutricional de adultos. Revista Saúde Pública, v.26, n.6, p.431-436, 1992.
- BALABAN, S. et al. Obesity and cancer progression: is there a role of fatty acid metabolism? **Biomed Res Int**, v. 2015, n. Table 1, p. 274585, 2015.
- BARTKE, A.; CHANDRASHEKAR, V.; DOMINICI, F.; TURYN, D.; KINNEY, B; STEGER, R. et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and aging: controversies and new insights. *Biogerontology* 4:1–8. 2003.
- BASTIEN, B. C.; PATIL, A.; SATYARAJ, E. Veterinary Immunology and Immunopathology The impact of weight loss on circulating cytokines in Beagle dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 163, n. 3–4, p. 174–182, 2015.
- BOCARDO, M.; DABUS, D. M. M.; TENTRIN, T. C.; LIMA, G. S.; BARIANI, M. H.; Influência hormonal na carcinogênese mamária em cadelas. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária. Ano VI. Número 11. Julho de 2008.
- BROWN, K. A. Impact of Obesity on Mammary Gland Inflammation and Local Estrogen Production. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2014.
- BRUNETTO, M. A. Suporte nutricional do paciente crítico. *Vets Today*. p, 1-4, 2009.
- BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesidad. In: HAND, M. S. ET al. Nutrición clínica en pequeños animales. 4ª edição. p. 475-508, 2000.
- CABIA, B. et al. A role for novel adipose tissue-secreted factors in obesity-related carcinogenesis. *Obesity Reviews*, v. 17, n. 4, p. 361–376, 2016.

- CALLE, E. E.; Thun M. J. Obesity and cancer; *Oncogene*; v.23; 6365– 6378, 2004.
- CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A.; DARISTOTLE, L. Canine and feline: A resource for companion animal professional. 2 ed. Saint Louis: Mosby, 592 p, 2000.
- CASSALI, G. D. Comparative mammary oncology: canine model. *BMC Proc.*, 7, Suppl 2, K6, 2013.
- CASSALI, G. D., et al.; Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors - 2013. *Braz J Vet Pathol*, 7(2), 38 – 69, 2014.
- CASSALI, G. D. Patologias da glândula mamária. In: NASCIMENTO, E. F. SANTOS, R. L. Patologia da Reprodução dos animais domésticos. 2 ed. v. 2, p. 119-133, 2003.
- CASSALI, G. D., BERTAGNOLLI, A. C., LAVALLE, G. E., TAVARES, W. L. F., FERREIRA, E., SILVA, A. E., CAMPOS, C. B. Perspectives for diagnosis, prognosis and treatment of mammary neoplasias in dogs. 34th World Small Animal Veterinary Congress – WSAVA, São Paulo. Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress - WSAVA, 2009.
- CLEARY, M. P.; GROSSMANN, M. E.; RAY, A. Effect of obesity on breast cancer development. *Veterinary Pathology* 47(2) 202-2013, 2010.
- COURCIER, E.A. et al. An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. *Journal of Small Animal Practice*, v.51, p.362-367, 2010.
- CRANFORD, T. L. et al. Role of MCP-1 on inflammatory processes and metabolic dysfunction following high-fat feedings in the FVB/N strain. *International Journal of Obesity*, n. October, p. 1–8, 2015.
- DAGLI, M. L. Z. The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: A promising outlook. *The Veterinary Journal*. v.177, 3-5, 2008.
- DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S. et al. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamento em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. *Arch. Vet. Sci.*, v.7, p.15-26, 2002.
- DEEB, B.; WOLF, N. S. Studying longevity and morbidity in giant and small breeds of dogs. *Vet Med (Suppl, Geriatric Medicine)* 89:702–713, 1994.
- DI CESARE, M. et al. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: A pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *The Lancet*, v. 387, n. 10026, p. 1377–1396, 2016.
- DIEZ, M.; NGUYEN, P. Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dog. In: PIBOT, P. et al. *Encyclopedia of canine clinical nutrition*. France: Aiwa SAS, 2006.
- DOLKA, I. et al. Relationship between receptors for insulin-like growth factor – I, steroid hormones and apoptosis-associated proteins in canine mammary tumors. v. 14, n. 2, p. 245–251, 2011.
- DRYGIN, D.C. B.; HO, M.; OMORI et al., Protein kinase CK2 modulates IL-6 expression in inflammatory breast cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 415, 1, 163–167, 2011.
- DUTRA, A.P.; AZEVEDO, JUNIOR G.M., SCHMITT, F.C.; CASSALI, G.D. Assessment of cell proliferation and prognostic factors in canine mammary gland tumors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60, 1403-12, 2008.

- EDNEY, A.T. & SMITH, P.M. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 118 (14): 391-396. 1986.
- ELLIOTT, D.A. Techniques to assess body composition in dogs and cats. *Focus*, 16(1), 16-20. 2006.
- FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A.C.; CAVALCANTI, M.F.; SCHMITT, F.C.; CASSALI, G.D. The relationship between tumor size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumors. *Vet. Comp. Oncol.*, 193, 1-6, 2009.
- FONSECA, C.S.; DALECK, C.R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência v.30, n.4, p.731-735, 2000.
- GAROFALO, C.; SURMACZ, E.; Leptin and cancer. *J Celg Physiol*, 207: 12–22, 2006.
- GAYET, C.; BAILHACHE, E.; DUMON, H. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNF, IGF-1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. *J Animal Nutrition*, 157–65, 2004.
- GENTZEL, J. B. Does contemporary canine diet causes cancer? ; A review. **Veterinary World**, v. 6, p. 632–639, 2013.
- GERMAN, A. J. Clinical risks associated with obesity in companion animals. *Focus*, 16, 21-26, 2006.
- GERMAN, A. J. et al. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 27, p. 214-226, 2009.
- GERMAN, A. J.; RYAN, V. H.; GERMAN, A. C.; WOOD, I. S.; TRAYHURN, P. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. *The Veterinary Journal*, v. 185, p. 4-9, 2010.
- GERMANO, G.; ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. *Cytokine*, 43, 3, 374–379, 2008.
- GHOSH, S.; ASHCRAFT, K. An IL-6 link between obesity and cancer. *Front Biosci (Elite Ed)*, 5: 461–478, 2013.
- GILBERT, C.A.; SLINGERLAND, J.M. Cytokines, obesity, and cancer: new insights on mechanisms linking obesity to cancer risk and progression. *Annu Rev Med*, 64: 45–57, 2013.
- GOMEZ, J.; M., F. J.; MARAVALL, N.; GOMEZ, M. A.; NAVARRO, R.; CASAMITJANA, J.; SOLER, The IGF-I system component concentrations that decrease with ageing are lower in obesity in relationship to body mass index and body fat. *Growth Horm. IGF Res.* 14, 91–96. 2004.

- GOODWIN, P.J.; ENNIS, M.; PRITCHARD, K.I. et al. Fasting insulin and outcome in early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *J Clin Oncol.* 20(1):42–51, 2002.
- GRAHAM, J.C.; O'KEEFE, D.A.; GELBERG, H.B. Immunohistochemical assay for detecting estrogen receptors in canine mammary tumors. *American Journal of Veterinary Research*, v. 60, n. 5, p. 627-630, 1999.
- GREER, K. A.; HUGHES, L. M.; MASTERNAK, M. M. Connecting serum IGF-1, body size, and age in the domestic dog. p. 475–483, 2011.
- GRODIN, J.M.; SIITERI, P.K.; MACDONALD, P.C. Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinolmetab.* 36(2): 207–14,1973.
- GUIMARÃES, A. L. N.; TUDURY, E. A. Etiologias, consequências e tratamentos de obesidades em cães e gatos- Revisão. *Veterinária Notícias*, Uberlândia, v. 12, n. 1, p. 29-41, 2006.
- GUO, S. et al. Oncogenic role and therapeutic target of leptin signaling in breast cancer and cancer stem cells. *Biochemical et biophysical acta*, v. 1825, n. 2, p. 207–22, 2012.
- HAMIDULLAH, B.; CHANGKIJA, KONWAR, R. Role of interleukin- 10 in breast cancer, *Breast Cancer Research and Treatment*, 133, 1, 11–21, 2012.
- HAUGEN, F.; DREVON, C.A. The interplay between nutrients and the adipose tissue. *Proceedings of the nutrition society*, 66: 171-182.2007.
- HAVEL, P. J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes*, v. 53 (Sup. 1), p. S143-151, 2004.
- HEMSELL, D.L.; GRODIN, J.M.; BRENNER, P.F.; SIITERI, P.K.; MACDONALD, P.C. Plasma precursors of estrogen. II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. *J Clin Endocrinolmetab.*38(3):476–9, 1974.
- HENDERSON, B. E.; FEIGELSON, H.S. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, v.21, n.3, p.427-433, 2000.
- HEYWARD, V. ASEP methods recommendation: body composition assessment. *Journal of Exercise Physiology*, Albuquerque, v. 4, n. 4, p. 1-12, 2001.
- HOLLY, J., and PERKS, C. The role of insulin-like growth factor binding proteins. *Neuroendocrinology* 83, 154-160. 2006.
- HONG, Y.; LI, H.; YE, J.; MIKI, Y.; YUAN, Y.; SASANO, H.; EVANS, D. B.; CHEN, S. Epitope Characterization of an Aromatase Monoclonal Antibody

Suitable for the Assessment of Intratumoral Aromatase Activity. PLoS ONE 4(11): e8050. doi: 10.1371/journal.pone.0008050. 2009.

- HORTA et al. 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, 2013.
- HOWE, L. R.; SUBBARAMAIAH, K.; HUDIS, C. A.; DANNENBERG, A. J. Molecular pathways: Adipose inflammation as a mediator of obesity-associated cancer. *Clinical cancer research*, v.19, n.22, p. 6074-6083, 2013.
- IL'YASOVA, D.; COLBERT, L.H.; HARRIS, T.B.; NEWMAN, A.B.; BAUER, D.C.; SATTERFIELD, S.; et al. Circulating levels of inflammatory markers and cancer risk in the health aging and body composition cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;14(10):2413–8, 2005.
- ISHIOKA, K.; HOSOYA, K.; KITAGAWA, H.; SHIBATA, H.; HONJOH, T.; KIMURA, K.; SAITO, M. Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, genre and breeds. *Research Veterinary Science*. Feb; 82(1):11-5, 2006.
- JARDE, T.; CALDEFIE-CHEZET, F.; DAMEZ, M.; et al. Leptin and leptin receptor involvement in cancer development: a study on human primary breast carcinoma. *Oncol Rep*. 19(4):905–911, 2008.
- JARDÉ, T. et al. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European journal of cancer*, v. 47, n. 1, p. 33–43, 2011.
- JERICÓ, M.M.; ALBINATI, J.M.; FUSCO, F.B. Estudo sobre os hábitos alimentares e as atividades físicas de cães obesos da cidade de São Paulo e seus reflexos no balanço metabólico. *Clínica Veterinária*. Ano XIV, n.81, p.54-60, 2009.
- KEY, T.J.; VERKASALO, P.K.; BANKS, E. Epidemiology of breast cancer. *The Lancet Oncology* 2, 133–140, 2001.
- KIENZLE, E., BERGLER, R. & MANDERNACH, A. A comparison of the feeding behavior and the human-animal relationship in owners of normal and obese dogs. *Journal of Nutrition*, 128: 2779S-2782S, 1998.
- KIL, D.Y.; SWANSON, K.S. Endocrinology of Obesity. *Veterinary Clinical Small Animal*; 205–219; 2010.
- KIM, J. H.; BACHMANN, R. A.; CHEN, J. “Interleukin-6 and insulin resistance, “*Vitamins & Hormones*, vol.80, pp.613–633, 2009.
- KOJIMA, H. et al. Apoptosis of pregnancy-dependent mammary tumor and transplantable pregnancy-dependent mammary tumor in mice. *Cancer Lett*, v.110, p.113-121, 1996.

- KURZMAN ID., GILBERTSON SR. Prognostic factors in canine mammary tumors. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal)*, 1, 25-32. 1986.
- LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract.* 22, p. 10-15. 1997.
- LAFLAMME, D. P. Understanding and managing obesity in dogs and cats. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 36, p. 1283-1295, 2006.
- LAFLAMME, D.P. Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? *Journal Animal Science*. May; 90(5):1653-62, 2012.
- LAU, D. C. W. B.; DHILLON, H.; YAN, P. E.; SZMITKO, and S. Verma, "Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis." *American Journal of Physiology*, vol. 288, no. 5, pp. H2031–H2041, 2005.
- LAVALLE. G.E.; BERTAGNOLLI, A.C.; TAVARES, W.L.F.; CASSALI, G.D. Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis and overall survival. *Vet. Pathol.*, 46, 1275-80, 2009.
- LAVALLE, G.; CAMPOS, C.; BERTAGNOLLI, A.; CASSALI, G. Canine mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. *In Vivo*, v. 26, p. 375-379, 2012.
- LE ROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR, S.; LIU, J. L.; BUTLER, A. The somatomedin hypothesis. *Endocr. Rev.* 22, 53–74, 2001.
- LESPAGNARD, L.; KISS, R.; DANGUY, A.; et al. In vitro studies of canine mammary tumors: influence of 17 beta estradiol and progesterone on cell kinetics parameters. *Oncology*, v.44, p.292-301, 1987.
- LI, Y. Y.; HSIEH, L. L.; TANG, R. P.; LIAO, S. K.; YEH, K. Y. "Interleukin-6 (IL-6) released by macrophages induces IL-6 secretion in the human colon cancer HT-29 cell line" *Human Immunology*, vol.70, no.3, pp.151–158, 2009.
- LIM, H. Y. et al. Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, v. 1, p. 1–6, 2015.
- LIMA, F.B. Tecido Adiposo: Uma Breve Perspectiva Histórica e o Momento Atual. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia*. 52/6, 2008.
- LORINCZ, A.M.; SUKUMAR, S. Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 13, 279–292, 2006.
- LORUSSO, G.; RUEGG, C. The tumor microenvironment and its contribution to tumor evolution toward metastasis. *Histo- chemistry and Cell Biology*, 130, 6, 1091–1103, 2008.

- LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US Veterinary Practices. *International Journal of Applied Research Veterinary Medical*, v.4, p. 177-186, 2006.
- MADEDDU, C.; GRAMIGNANO, G.; FLORIS, C.; MURENU, G.; SOLLAI, G.; MACCIO, A. "Role of inflammation and oxidative stress in post-menopausal oestrogen-dependent breast cancer," *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 18, no. 12, pp. 2519–2529, 2014.
- MAJED, B.; MOREAU, T.; SENOUCL, K.; SALMON, R. J.; FOURQUET, A.; ASSELAIN, B. "Is obesity an independent prognosis factor in woman breast cancer?" *Breast Cancer Research and Treatment*, vol. 111, no. 2, pp. 329–342, 2008.
- MANTZOROS, C., PETRIDOU, E., DESSYPRIS, N., CHAVELAS, C., DALAMAGA, M., ALEXE, D.M., PAPADIAMANTIS, Y., MARKPOULOS, C., SPANOS, E., CHROUSOS, G. Adiponectin and breast cancer risk. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89, 1102–1107. 2004.
- MARTINS, G. R. et al. Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines Mediated by NF- κ B Factor as Prognostic Markers in Mammary Tumors. v. 2016, 2016.
- MASOODI, M. et al. Lipid signaling in adipose tissue: Connecting inflammation & metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, v. 1851, n. 4, p. 503–518, 2015.
- MCARDLE, W. D. et al. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desenvolvimento humano*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- MCGREEVY, P. D., THOMSON, P. C., PRIDE, C., FAWCETT, A., GRASSI, T., JONES, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Research*, 695–702. 2005.
- MENEZES OLIVEIRA, J. L.; MARQUES-SANTOS, C.; BARRETO-FILHO, J. A.; XIMENES FILHO, R. et al. Lack of evidence of premature atherosclerosis in untreated severe isolated growth hormone (GH) deficiency due to a GH-releasing hormone receptor mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2093–2099, 2006.
- MERLO, D. F. Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.22, n. 4, p. 976 – 984, 2008.
- MISDORP W., ELSE RW., HELLMÉN E., LIPSCOMB E. Definitions and explanatory notes. WHO histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 18-27. 1999.
- MOL, J.A., VAN GARDEREN, E., SELMAN, P.J., WOLFSWINKEL, J., RIJINBERK, A., RUTTEMAN, G.R. Growth hormone mRNA in mammary

gland tumors of dogs and cats. *The Journal of Clinical Investigation* 95, 2028–2034, 1995.

- MORRISON, W. B. Canine and feline mammary tumors. In: MORRISON, W. B., 1ª Ed. *Cancer in dogs and cats: medical and surgical management*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.591-598, 1998.
- MULLER, D. C. M., SCHOSSLER, J. E. W. Adaptação do índice de massa corporal humano para cães de companhia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.4, p.1038-1043, jul., 2008.
- NAM, S.Y.; LEE, E.J.; KIM, K.R. et al. Effect of obesity on total and free insulin-like growth factor (IGF)-1, and their relationship to IGFbinding protein (BP)-1, IGFBP-2, IGFBP-3, insulin, and growth hormone. *Int J Obes*. 21(5):355–359, 1997.
- NELSON, R.; DELANEY, S. J. Desordens do Metabolismo. In: NELSON, R.; COUTO, C. G. et al. *Medicina interna de pequenos animais*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 863 – 870. 2015.
- NOVOSAD, C. A. Principles of Treatment for mammary gland tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, v. 18, n. 2, p. 107-109, 2003.
- NUNES, F.C., GAMBA, C.O., DAMASCENO, K.A., CAMPOS, C.B., HORTA, R.S., ARAUJO, M.R., MONTEIRO, L.N., LAVALLE, G.E., FERREIRA, E., CASSALI, G.D. Analisis of clinico-pathological data, therapeutical conduct and overall survival of canine mammary lesions attended at veterinary hospital of the Federal Hospital of the Federal University of Minas Gerais (UFMG). Abstracts – II Encontro de Patologia Mamária Diagnóstico, Prognóstico e Tratamento das Neoplasias Mamárias da Cadela. *Braz. J. Vet. Pathol*, 7(2): 106 – 143, 2014.
- OLIVEIRA, S.B.C. Sobre homens e cães: um estudo antropológico sobre afetividade, consumo e distinção. Dissertação de mestrado em Sociologia e Antropologia. Universidade federal do Rio de Janeiro, 2006.
- O'NEILL, S., DROBATZ, K., SATYARAJ, E., HESS, R. Evaluation of cytokines and hormones in dogs before and after treatment of diabetic ketoacidosis and in uncomplicated diabetes mellitus. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 148, 276–283, 2012.
- OOSTERLAKEN-DIJKSTERHUIS, M.A., KWANT, M.M., SLOB, A., HELLMEN, E., MOL, J.A. IGF-I and retinoic acid regulate the distribution pattern of IGFBPs synthesized by the canine mammary tumour cell line CMT-U335. *Breast Cancer Research and Treatment* 54, 11–23, 1999.
- OTONIL, C.C.; RAHALL, S.C; VULCANO, L.C. et al. Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavia*, 52:20, 2010.
- OWEN, L. N. *The TNM Classification of tumors in domestic animals*. 1 ed. Geneva: World Health Organization, 1980.

- PEÑA, L.L.; NIETO, A.I.; PEREZ-ALENZA, D.; CUESTA, P.; CASTAÑO, M. Immunohistochemical Detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: Relationship to clinical and pathologic variables. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 10, 237-46, 1998.
- PEREZ ALENZA, M. D., RUTTEMAN, G. R., PEÑA, L. et al. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.12, n.3, p.132-9, 1998.
- PERGOLA, G.; SILVESTRIS, F. Review article. Obesity as a major risk factor for cancer. *Journal of obesity*, v.2013, 2013.
- PHILIBERT, J.; SNYDER, P.; GLICKMAN, N.; GLICKMAN, L.; KNAPP, D.; WATERS, D. Influence of Host Factors on Survival in Dogs with Malignant Mammary Gland Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 17, n. 1, p. 102-106, 2003.
- QUEIROGA, F. L. et al. Research in Veterinary Science Serum and intratumoural GH and IGF-I concentrations: Prognostic factors in the outcome of canine mammary cancer. *Research in Veterinary Science*, v. 89, n. 3, p. 396–403, 2010.
- QUEIROGA, F.; LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. Canine mammary tumours, research on new prognostic factors. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 97, n. 543, p. 119-127, 2002.
- RADIN, M.J.; SHARKEY, L.C.; HOLYCROSS, B.J. Adipokines: a review of biological and analytical principles and update in dogs, cats, and horses. *Veterinary Clinical Pathology*, v.38, p.136-156, 2009.
- RAMOS-NINO, M. E. The role of chronic inflammation in obesity-associated cancers. *ISRN oncology*, v. 2013, p.11-12, 2013.
- RENEHAN, A.G.; FRYSTYK, J.; FLYVBJERG, A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 328–336, 2006. E. The role of chronic inflammation in obesity-associated cancers. *ISRN oncology*, v. 2013, p.11-12, 2013.
- RESSEL, L.; FINETELLO, R.; INNOCENTI, V.W.; VANNOZZI, I.; POLE, A. Preliminary report on the expression of leptin and leptin receptor (ObR) in normal, hiperplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Research Veterinary Science*. Aug; 93(1):343-9, 2012.
- ROMACHO, T.; ELSEN, M.; ROHRBORN, D.; ECKEL, J. Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physio (Oxf)*. 2014 Apr;210(4):733-53
- ROSE, D. P.; VONA-DAVIS, L. Biochemical and molecular mechanisms for the association between obesity, chronic inflammation, and breast cancer. Review Article. *BioFactors*, 40(1):1–12, 2014.

- ROUZIER, R. et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clinical Cancer Research*, v.11, n.16, p.5678-5685, 2005.
- SAGAWA, M.M.; NAKADOMO, F.; HONJOH, T.; ISHIOKA, K.; SAITO, M. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *American Journal Veterinary Research*, Jan; 63(1):7-10, 2002.
- SAMUEL, S.; MILSTEIN, H.; DOBSON, J.M.; WOOD, J.L.N. An epidemiological study into the incidence of neoplasia in a population of insured dogs in the UK. *Proceedings of the British Small Animal Veterinary Association Congress*, 1999.
- SCHNEIDER, R.; DORN, C. R.; TAYLOR, D. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival, *J Natl Cancer Inst* 43:1249-1261, 1969.
- SETHI, J.K., VIDAL-PUING, A.J. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *Journal of Lipid Research*, 48:1253-1262. 2007.
- SHECHTER, M.; GINSBERG, S.; SCHEINOWITZ, M.; FEINBERG, M. S.; LARON, Z. Obese adults with primary growth hormone resistance (Laron syndrome) have normal endothelial function. *Growth Horm IGF Res* 17:165–170, 2007.
- SIKARIS, K.A. The clinical biochemistry of obesity. *Clinical Biochemistry Reviews*; 25(3):165–81, 2004.
- SIMPSON, E. R., MICHAEL, M. D., AGARWAL, V. R., HINSHELWOOD, M. M., BULUN, S. E., ZHAO, Y. Cytochromes P450 11: expression of the CYP19 (Aromatase) gene: an unusual case of alternative promoter usage. *FASEB J.*; 11(1): 29–36. 1997.
- SIMPSON, E. R.; BROWN, K. A. Minireview: Obesity and Breast Cancer: A Tale of Inflammation and Dysregulated Metabolism. *Molecular Endocrinology*. 27, 715-725, 2013.
- SILVA, A. E. DA; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 625–633, 2004.
- SORENMO, K.U., DEANNA, R.W., GOLDSMIDT, R.H. Tumors of the mammary gland. WITHROW SJ., VAIL DM. *Withrow & MacEwen`s Small animal clinical oncology*. 5° Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company. 553-571, 2013
- SORENMO K. Canine mammary gland tumors. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 33, 573-96. 2003.

- SORENMO, K. U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V. GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms, *Veterinary Pathology*, 48(1) 85-97, 2011.
- TRAYHURN, P. Adipocyte biology. *Obesity reviews*, 8 (suppl.1): 41-44. 2007.
- TVARIJONAVICIUTE, A., TECLES, F., MARTINEZ-SUBIELA, S., CERON, J.J. Effect of weight loss on inflammatory biomarkers in obese dogs. *Vet. J.* 193, 570–572, 2012.
- VAN DE VELDE, H., JANSSENS, G.P., STUYVEN, E., COX, E., BUYSE, J., HESTA, M. Short-term increase of body weight triggers immunological variables in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 145, 431–437, 2012.
- VAN GARDEREN, E., VAN DER POEL, H.J., SWENNENHUIS, J.F., WISSINK, E.H., RUTTEMAN, G.R., HELLMEN, E., MOL, J.A., SCHALKEN, J.A. Expression and molecular characterization of the growth hormone receptor in canine mammary tissue and mammary tumors. *Endocrinology* 140, 5907–5914, 1999.
- VANSANUN, M.N. Molecular pathways: adiponectin and leptin signaling in cancer. *Clin Cancer Res*, 19: 1926–1932, 2013.
- VOLP, A. P. C., ALFENAS, R. C. G., COSTA, N. M. B., et al. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. *Arq. Bras. De Endocrinol Metab*, Viçosa, 52/3, p.537-549, 2008.
- VON EULER, H. Tumors of the mammary gland. In: DOBSON, J. M.; LASCELLES, B. (Eds.). *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. 3 ed. Gloucester: British Small Animal Association, p. 237-247. 2011.
- WAUTERS, M.; CONSIDINE, R.V.; VAN GAAL, L.F. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol.* 143(3):293–311, 2000.
- WEISBERG, S. P., MCCANN, D., DESAI, M., ROSENBAUM, M., LEIBEL, R. L., FERRANTE, A. W. Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796–1808, 2003.
- WINKLER, G., KISS, S., KETSZTHELYI, L., SAPI, Z., ORY, I., SALAMON, F., et al. 28. Expression of tumor necrosis factor (TNF-alfa) protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-alfa, soluble serum TNFreceptor-2 concentrations and C-peptide level. *Eur J Endocrinol.* 149(2):129-35. 2003.
- WITHROW, S. J., VAIL, D. M. Withrow & MacEwen's. *Small Animal Clinical Oncology*. St. Louis, 4ed, Ed. Saunders Elsevier, 2013.

- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. Fact sheet N°311. Updated January 2017. 2015
- YAKAR, S.; PENNISI, P.; KIM, C.H.; ZHAO, H.; TOYOSHIMA, Y.; GAVRILOVA, O.; LEROITH, D. Studies involving the GH-IGF axis: lessons from IGF-I and IGF-I receptor gene targeting mouse models. *Journal of Endocrinological Investigation* 28, 19–22. 2005.
- YAMAGAMI, T.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, K.; SUGIYAMA, M. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.58, n. 11, p. 1079-1083, 1996.
- YDE, C. W.; EMDAL, K. B.; GUERRA, B.; LYKKESFELDT, A. E. Nfkb signaling is important for growth of antiestrogen resistant breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 135: 67–78, 2012.
- ZORAN, D. L. Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 40:221-23, 2010.

12. APÊNDICES

APÊNDICE A. PRODUÇÃO CIENTÍFICA RELACIONADA À DISSERTAÇÃO NO PERÍODO DE MARÇO DE 2015 A MARÇO DE 2017

RESUMOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

- TEIXEIRA, S. V.; NUNES, F.C.; OLIVEIRA, M. R.; Lacerda, B. C. E.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. Incidência de sobrepeso e obesidade em cadelas atendidas pelo setor de Oncologia do Hospital Veterinário da UFMG: Aspectos comparativos com a população feminina de Belo Horizonte? Resultados preliminares. In: V Encontro de Patologia da UFMG, 2016, Belo Horizonte. V Encontro de Patologia da UFMG, 2016.

APÊNDICE B. PRODUÇÃO CIENTÍFICA NÃO RELACIONADA À DISSERTAÇÃO NO PERÍODO DE MARÇO DE 2015 A MARÇO DE 2017

RESUMOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

- TEIXEIRA, S.V.; VELOSO, E. S.; CAMPOS, C. B.; CASSALI, G. D.; FERREIRA, E. EGFR superfamily expression and its relation to histological grade in ductal carcinomas in situ of the canine mammary gland. In: World Veterinary Cancer Congress, 2016, Foz do Iguaçu. World Veterinary Cancer Congress, 2016.

- TEIXEIRA, S. V.; NUNES, F.C.; OLIVEIRA, M. R.; CAMPOS, C. B.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. LEVANTAMENTO DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICO-PATOLÓGICOS E SOBREVIDA GLOBAL DE GATAS COM TUMORES MAMÁRIOS ATENDIDAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFMG. In: III Encontro de Patologia Mamária: DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS E GATAS, 2016, Salvador. III Encontro de Patologia Mamária: DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS E GATAS, 2016.

. NUNES, F.C.; CAMPOS, C. B.; TEIXEIRA, S. V.; OLIVEIRA, M. R.; MONTEIRO, L. N.; DAMASCENO, K. A.; NAKAGAKI, K. Y. R.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. LEVANTAMENTO DE DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS DE CADELAS COM TUMOR MISTO BENIGNO, CARCINOMA EM TUMOR MISTO E CARCINOSSARCOMAS DE GLÂNDULAS MAMÁRIAS ATENDIDAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFMG. In: III Encontro de Patologia Mamária: DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS E GATAS, 2016, Salvador. III Encontro de Patologia Mamária: DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS E GATAS, 2016.

. TEIXEIRA, S. V.; REIS, D. C.; CAMPOS, C. B.; OLIVEIRA, M. R.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. Carcinoma sólido de tireoide em cão: Análise clínico-patológica e terapêutica - relato de caso. In: 3º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015, Belo Horizonte. III Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015.

. NUNES, F. C.; CAMPOS, C. B.; TEIXEIRA, S. V.; OLIVEIRA, M. R.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. AVALIAÇÃO DE CARCINOMAS MAMÁRIOS CANINOS COM COMPORTAMENTO AGRESSIVO E CORRELAÇÃO COM SOBREVIDA GLOBAL. In: 3º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015, Belo Horizonte. III Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015.

. OLIVEIRA, M. R.; NUNES, F. C.; CAMPOS, C. B.; TEIXEIRA, S. V.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICO-PATOLÓGICA, TRATAMENTO E SOBREVIVÊNCIA GLOBAL DO CARCINOMA INFLAMATÓRIO CANINO. In: 3º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015, Belo Horizonte. III Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária, 2015.

ARTIGOS ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO

Your manuscript entitled "ASSESSMENT OF ELECTROCHEMOTHERAPY EFFECTS ON THE DEVELOPMENT OF EHRLICH SOLID TUMOR IN SWISS MICE USING A NOVEL ELECTROPORATOR DEVICE" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

13. ANEXOS

ANEXO A. Comprovante de submissão à revista *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, do artigo intitulado *Sérum Evaluation of Leptin, IL-6, IGF and Estrogen in obese bitches with initial stages mammary carcinoma.*

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia <onbehalfof+abmvz.a@...>

22 de ago (Há 9 dias)
☆
↶
⌵

para cassalig, geovanni.cassa., mim, istefanippg, fcamargonunes, ceciliabonolo, miriaroliveira, gleidicel, cas

🌐
inglês
>
português
Traduzir mensagem

Desativar para: inglês ✕

22-Aug-2017

Dear Dr. Cassali:

Your manuscript entitled "SERUM EVALUATION OF LEPTIN, IL-6, IGF AND ESTROGEN IN OBESE BITCHES WITH INITIAL STAGES MAMMARY CARCINOMA" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

Your manuscript ID is ABMVZ-2017-10259.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

Sincerely,
Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia Editorial Office

ANEXO B. Certificado do Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA**UFMG****UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS****CEUA****COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº. 110 / 2015, relativo ao projeto intitulado "Relação entre sobrepeso e incidência de tumor de mama em cadelas", que tem como responsável Geovanni Dantas Cassali, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 25/02/2016. Este certificado espira-se em 25/02/2021.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº. 110 / 2015, related to the Project entitled "Relationship between overweight and the incidence of breast tumor in dogs", under the supervision of Geovanni Dantas Cassali, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 25/02/2016. This certificates expires in 25/02/2021.

Cleuza Maria de Faria Rezende
Coordenador(a) da CEUA/UFMG
Belo Horizonte, 25/02/2016.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO C. Carta de autorização do Centro de Instrução e Adaptação da Aeronáutica, para a utilização das cadelas do canil militar como grupo controle.



MINISTÉRIO DA DEFESA
COMANDO DA AERONÁUTICA
CENTRO DE INSTRUÇÃO E ADAPTAÇÃO DA AERONÁUTICA

Carta nº 2/CPA/14224

Belo Horizonte, 30 de setembro de 2015.

Protocolo COMAER nº 67530.013381/2015-64

Prof. Geovanni Dantas Cassali
Laboratório de Patologia Comparada
Depto. de Patologia Geral - ICB/UFMG
Fones: 31 34092891/2883 Fax: 31 34092879

Prezado Professor,

Venho por meio desta autorizar a coleta de sangue das cadelas do canil do Centro de Instrução e Adaptação da Aeronáutica para efeito de pesquisa, conforme solicitação da aluna Stéfane Valgas Teixeira, para o projeto de mestrado intitulado "Relação entre obesidade e ocorrência de neoplasias mamária em cadelas".

Os animais farão parte do grupo controle do projeto. Serão colhidas amostras de animais com idade entre 5 a 9 anos em um único momento. O sangue colhido será utilizado para dosagens de citocinas pró-inflamatórias e estrógeno e os animais serão submetidos a medidas morfométricas para avaliação corporal. O sangue será coletado através de punção venosa, com seringa agulhada de 5 mL, e o sangue colhido será armazenado em tubo sem anti-coagulante (VacuTainer®).

Os dados coletados serão disponibilizados para a coordenação do canil da Aeronáutica e constará na metodologia da dissertação a procedência do material, bem como nos agradecimentos.

Atenciosamente,


MARIANA AMATA MUDADO LOPES 2º Ten QOCON
Chefe do Canil

Mariana A. Mudado Lopes
2º Ten. QOCON Veterinária

ANEXO D. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos proprietários.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: "Relação entre obesidade e a presença de neoplasias mamárias em cadelas"

Nome da Pesquisadora: Stéfane Valgas Teixeira

Nome do Orientador: Geovanni Dantas Cassali

Prezado (a) Senhor (a),

Você está sendo convidada (o) a autorizar a participação de seu (s) animal (is) nesta pesquisa que tem como finalidade observar a relação entre as substâncias liberadas em animais com excesso de peso e a presença de neoplasias mamárias em cadelas.

Identificação do (s) animal (is):

Envolvimento na pesquisa: *ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que seu animal seja submetido à coleta sanguínea, para análise de citocinas inflamatórias, e às medições métricas para observação de excesso de peso. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone da pesquisadora do projeto.*

Riscos e desconforto: *a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Princípios Éticos na Experimentação Animal.*

1. **Confidencialidade:** *todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores terão conhecimento dos dados.*
2. **Benefícios:** *esperamos que este estudo forneça informações importantes sobre possíveis tratamentos voltados para o câncer de mama na espécie canina, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa*

auxiliar na rotina da oncologia veterinária aumentando a sobrevida dos animais com manutenção de sua qualidade de vida.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Proprietário (CPF/RG)

Assinatura do Proprietário

Assinatura do Pesquisador

Data: _____

TELEFONES

Pesquisadora: (31)9784-4618

Orientador: (31)3409-2883