

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
ESCOLA DE VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**LINFONODO SENTINELA AXILAR E SUA CORRELAÇÃO COM FATORES
PROGNÓSTICOS EM CÃES COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS**

Belo Horizonte
2018

ALINE GOMES DE CASTRO

**LINFONODO SENTINELA AXILAR E SUA CORRELAÇÃO COM FATORES
PROGNÓSTICOS EM CÃES COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica e Cirurgia Veterinárias

Orientadora: Prof^a Christina Malm

Coorientadora: Dr^a. Gleidice Eunice Lavalle

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2018**

C3551 Castro, Aline Gomes de, 1985-
Linfonodo sentinela axilar e sua correlação com fatores prognósticos em cães com neoplasias mamárias / Aline Gomes de Castro. – 2018.
58 p. : il.

Orientadora: Christina Malm

Coorientadora: Gleidice Eunice Lavalle

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Cão – Doenças – Teses. 2. Tumores em animais – Teses. 3. Mamas – Tumores – Teses. 4. Linfonodos – Teses. 5. Tumor – Prognóstico – Teses. I. Malm, Christina. II. Lavalle, Gleidice Eunice. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

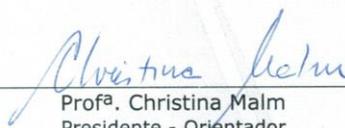
CDD – 636.708 96

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALINE GOMES DE CASTRO

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS.

Aprovada em 26 de Março de 2018, pela banca constituída pelos membros:



Prof^a. Christina Malm
Presidente - Orientador



Prof. Geovanni Dantas Cassali
Instituto de Ciências Biológicas - ICB UFMG



Prof. Rodrigo dos Santos Horta
Universidade Vila Velha - UVV



Dr^a. Gleidice Eunice Lavalle
Escola de Veterinária - UFMG

DEDICATÓRIA

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial, aos animais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Criador de todas as coisas simples, que ainda nos parecem complicadas, agradeço a experiência da vida.

A minha família, por acreditar em mim e me apoiar incondicionalmente em todas as etapas da minha vida. Em especial aos meus pais, por me ensinarem como correr atrás dos meus sonhos e alcançar meus objetivos sem perder a humildade. Sem eles nada seria possível.

Ao Glauber, agradeço por seu amor, companheirismo e compreensão. Por acreditar sempre em mim, em momentos que nem mesmo eu acreditava.

A professora Christina Malm agradeço pelo papel de educadora em toda minha vida, na graduação, residência e pós-graduação. Por estar presente como orientadora e amiga em vários momentos, me incentivando sempre. Obrigada pelas alegrias nos momentos de distração e cobrança nos momentos de necessidade. Tenho eterna gratidão por tudo que você contribuiu para meu crescimento pessoal e profissional. Espero que essa amizade continue.

A Gleidice Lavalle, co-orientadora e muito mais que isso. Obrigada pela sugestão desse trabalho e por confiar em mim para ajudar na busca de respostas para seus questionamentos. Obrigada por todos os ensinamentos, principalmente por me fazer entender que cada paciente é único e necessita de tratamento diferenciado. Obrigada pelos conselhos, cuidados e por me incluir na família oncologia. Você é um exemplo de profissional por quem tenho grande admiração.

A Mari Figueiredo, que com seu jeitinho meigo se tornou uma grande amiga, não só no trabalho. Obrigada pelo incentivo sempre e por tornar meus dias mais alegres e fáceis, com tantas risadas e diversão, mesmo nos dias de caos. Não sei mais trabalhar sem você.

A Fernanda Santos, grande amiga, obrigada por me mostrar que não há barreiras para a amizade verdadeira. Meu porto seguro, sei que posso contar sempre com você.

A Marcela Chaves, que mesmo distante, sempre acreditou em mim e me incentivou a iniciar essa jornada que está chegando ao fim

Ao Professor Dr. Geovanni D. Cassali, agradeço pela parceria no LPC, pelo aprendizado e pelo constante exemplo de disciplina e perseverança.

A professora Cleuza, por confiar em mim e me apoiar quando necessário. Seus ensinamentos e disciplina estarão para sempre em minha memória.

Aos funcionários do Hospital Veterinário, em especial Elizete, Maísa, Diogo, Dri, Francis, Joaquim, Alcilene, Jana, Daniel, Ailton, Cristina, Inácio, Flávio, Creide, Lourdes e todos os demais, sem os quais o hospital não funcionaria.

Aos residentes e veterinários que me acompanharam nos dias corridos e tanto me ensinaram, especialmente os anestesistas e cirurgiões, que fazem do bloco cirúrgico um lugar melhor.

A toda a equipe que permanece e que já contribuiu para o setor de oncologia, em especial, Antônio, Luiz, Artur, Stéfane, Rubia, Adônis, Bia, Fernanda, Cecília e Carla. Vocês contribuíram muito para o meu aprendizado e tornaram os dias de quimioterapia e atendimento mais agradáveis.

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

Aos animais, em especial aos pacientes da oncologia, que possibilitaram esse estudo e me ensinaram muito sobre amor e perseverança.

Aos meus queridinhos Bebê, Sushi, Gaia Maria e Kali, por todo amor incondicional e por melhorarem minha qualidade de vida diariamente.

A todos os demais amigos e familiares pela torcida e compreensão nos momentos de ausência, o meu muito obrigada.

“A menos que modifiquemos nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”

Albert Einstein

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”

Madre Teresa de Calcutá

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivos gerais	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1. Tumores mamários em cães	18
3.1.1. Aspectos epidemiológicos	18
3.1.2. Revisão anatômica e drenagem linfática	18
3.1.3. Fatores de risco e etiologia	20
3.1.4. Aspectos clínicos e diagnóstico	21
3.1.5. Tratamento	22
3.1.6. Classificação histopatológica	25
3.1.7. Estadiamento clínico e prognóstico	26
3.2. Linfonodo sentinela	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Aspectos éticos	32
4.2. População	32
4.3. Critérios de exclusão	32
4.4. Realização de exames pré-cirúrgicos	32
4.5. Procedimento cirúrgico (mastectomia)	33
4.6. Análise histopatológica	34
4.7. Análise estatística	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÕES	48
7. REFERÊNCIAS	49
8. ANEXOS	55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Classificação histológica de lesões mamárias não neoplásicas e neoplasias benignas de acordo com o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors proposto por Cassali *et al.* (2014) p. 25
- Tabela 2.** Classificação histológica de neoplasias malignas de acordo com o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors proposto por Cassali *et al.* (2014) p. 26
- Tabela 3.** Distribuição de raças da população do estudo, atendidas no período de abril de 2015 a julho de 2017 no HV-UFGM p. 36
- Tabela 4.** Tipos histológicos e suas respectivas frequências absoluta e relativa dos 50 animais avaliados no estudo p. 38
- Tabela 5.** Tipos histológicos dos animais cujo LA foi avaliado de acordo com o estadiamento clínico e presença (+) ou ausência (-) de metástase em linfonodo p. 45

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ilustração da região ventral de uma cadela em decúbito dorsal demonstrando os cinco pares de mamas, a drenagem linfática e os linfonodos correspondentes (Fonte: Queiroga *et al.*, 2011) p. 19
- Figura 2.** Sistema de estadiamento clínico para tumores mamários caninos de acordo com o sistema TNM estabelecido pela OMS (modificado) p. 27
- Figura 3.** Curva de sobrevida de Kaplan-Meier mostrando de cadelas com carcinomas mamários de acordo com o tamanho tumoral (Nunes, 2015) p. 28
- Figura 4.** Curva de Kaplan-Meier mostrando sobrevida global (%), de acordo com a presença ou ausência de metástases em linfonodos de cadelas com carcinomas mamários. (Modificado de Araujo *et al.*, 2016) p. 28
- Figura 5.** Curva de sobrevida derivada de Kaplan-Meier de cadelas com carcinomas em tumores mistos de glândula mamária de acordo com o estadiamento clínico. Observa-se o tempo de sobrevida significativamente menor em cadelas com estadiamento avançado quando comparado com cadelas com estadiamento inicial (Nunes, 2015) p. 29
- Figura 6.** Distribuição e frequência das glândulas mamárias acometidas por lesões neoplásicas na população do estudo p. 37
- Figura 7.** Probabilidade de encontrar o linfonodo axilar corado pelo azul patente em relação ao tamanho tumoral (3 a 5 cm; > 5 cm) p. 39
- Figura 8.** Probabilidade de encontrar o linfonodo axilar corado pelo azul patente em relação ao peso dos animais (peso < 10 kg; entre 10 e 20 kg; peso > 20 kg) p. 40
- Figura 9.** Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação ao tamanho tumoral; 3 e 5 cm (estadiamento II); > 5 cm (estadiamento III) p. 41
- Figura 10.** Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação à localização do tumor (M1: mama torácica cranial; M2: mama torácica caudal; M3: mama abdominal cranial) p. 42
- Figura 11.** Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários ulcerados p. 42
- Figura 12.** Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários com necrose p. 43
- Figura 13.** Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários com aderência à musculatura p. 43

Figura 14. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação aos diferentes tipos histológicos de tumores mamários. (AmMa: Adenoepitelioma maligno; CaPa: Carcinoma Papilar; Cas: Carcinossarcoma; CaSo: Carcinoma sólido; CaTM: Carcinoma em tumor misto; OMa: Outros tumores malignos; Ben: Tumores benignos) p. 46

LISTA DE ABREVIATURAS

AFIP – Armed Forces Institute of Pathology
AINE – Anti-inflamatório não esteróide
ALT – Alanina aminotransferase
AST – Aspartato aminotransferase
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
COX-2 – Cicloxigenase 2
DCCV – Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias
FA – Fosfatase alcalina
GGT – Gama GT
HE – Hematoxilina e eosina
HV – Hospital Veterinário
IC – Intervalo de confiança
ICB – Instituto de Ciências Biológicas
IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina
INCA – Instituto Nacional do Câncer
LA – Linfonodo axilar
LPC – Laboratório de Patologia Comparada
LS – Linfonodo sentinela
M1 – Mama torácica cranial
M2 – Mama torácica caudal
M3 – Mama abdominal cranial
OMS – Organização Mundial da Saúde
p – Nível de significância
PAF – Punção por agulha fina
QDMT – Quimioterapia em dose máxima tolerada
RE – Receptor de estrógeno
RP – Receptor de progesterona
SRD – Sem raça definida
TGF- β – fator de transformação de crescimento β
TNF- α – Fator de necrose tumoral- α
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

RESUMO

Os tumores de mama têm grande importância na clínica de animais de companhia e são as neoplasias mais frequentes nas cadelas. O linfonodo sentinela é definido como o primeiro linfonodo de uma cadeia linfática regional a drenar a linfa do sítio neoplásico. A possibilidade de identificação do linfonodo axilar sentinela com o corante azul patente tem auxiliado na determinação de metástase regional, definindo prognóstico, sobrevida e terapias adjuvantes necessárias. O objetivo desse estudo foi avaliar o linfonodo axilar de cães com neoplasia mamária submetidas à mastectomia, avaliar o método de identificação pela técnica do azul patente e correlacionar a presença de metástase em linfonodo com alguns fatores prognósticos e tipos histológicos das neoplasias. Foram avaliados 50 cães (49 fêmeas e um macho) provenientes da rotina clínico-cirúrgica do Hospital Veterinário da UFMG de abril/2015 a maio/2017 com tumores mamários em mamas de localização de drenagem linfática axilar, estadiamento clínico II ou III e linfonodo axilar não palpável. Todos os animais foram submetidos à mastectomia e aplicação de azul patente 2,5% para identificação do linfonodo axilar. Em 38 animais (76%) foi possível a identificação do linfonodo corado, nos demais casos o linfonodo não foi identificado. A probabilidade de encontrar o linfonodo axilar não diferiu quando correlacionada ao tamanho do tumor e peso do animal e nenhum animal apresentou reação ao corante. Dos 38 animais com linfonodo axilar avaliados histologicamente, 14 (36,84%) possuíam metástase. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre a probabilidade de encontrar metástase e a localização do tumor, a presença de aderência e o tipo histológico da neoplasia. No entanto, a probabilidade de encontrar metástase foi significativa ($p<0,05$) para as variáveis tamanho do tumor/estadiamento clínico, presença de ulceração e necrose. Conclui-se que a utilização do azul patente 2,5% foi segura em cães e contribuiu para identificação do linfonodo axilar em 76% dos casos estudados. Os animais com tumores maiores (estadiamento clínico III) e/ou com tumores ulcerados e/ou com necrose tiveram maior ocorrência de metástase em linfonodo axilar sugerindo que pacientes com essas características devam ser submetidas à mastectomia com exérese do linfonodo axilar para o correto estadiamento.

PALAVRAS CHAVE:

Neoplasia mamária, metástase, estadiamento clínico, linfonodo sentinela, azul patente

ABSTRACT

Mammary tumors have major importance in pet clinic and are the most common neoplasms in bitches. Sentinel lymph node is defined as the first lymph node of a regional lymphatic chain to drain lymph from the neoplastic site. The possibility of identification of sentinel axillary lymph node with patent blue dye has aided in the determination of regional metastasis, defining prognosis, survival and adjuvant therapies necessary. The objective of this study was to evaluate the axillary lymph node of dogs with breast neoplasm submitted to mastectomy, to evaluate the method of identification by the patent blue technique and to correlate the presence of lymph node metastasis with some prognostic factors of malignancy and histological types of neoplasms. Fifty dogs (49 females and one male) from the clinical-surgical routine of the UFMG Veterinary Hospital from April/2015 to May/2017 were evaluated with mammary tumors located on the axillary lymph drainage site, clinical stage II or III, and non-palpable axillary lymph node (LA). All animals were submitted to mastectomy and 2.5% patent blue application for LA identification. In 38 animals (76%) it was possible to identify the stained sentinel lymph node, in other cases the lymph node was not identified. The probability of finding LA did not differ when correlated to tumor size and animal weight and no animal showed a reaction to the dye. Of the 38 animals with LA histologically assessed only 14 (36.84%) had metastasis. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the likelihood of finding metastasis and the location of the tumor, the presence of adhesion and the histological type of the neoplasm. However, the probability of finding metastasis was significant ($p < 0.05$) for the variables tumor size / clinical staging, presence of ulceration and necrosis. It was concluded that the use of 2.5% blue patent was safe in dogs and contributed to the identification of LA in 76% of the cases studied. Animals with larger tumors (clinical stage III) and / or with ulcerated and / or necrotic tumors had a higher occurrence of metastasis in LA suggesting that patients with these characteristics should undergo mastectomy with LA excision for correct staging.

KEY WORDS:

Mammary tumors, metastasis, clinical staging, sentinel lymph node, blue patent

1. INTRODUÇÃO

A doença oncológica atingiu grande dimensão nas últimas décadas, convertendo-se em evidente problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou a ocorrência global de 27 milhões de novos casos de câncer em humanos para o ano de 2030 e cerca de 17 milhões de mortes relacionadas à doença (Instituto Nacional do Câncer - INCA, 2018). Esse problema mundial é ainda mais grave nos países de baixa e média renda, onde o diagnóstico da doença ocorre em estadios mais avançados, comprometendo a qualidade de vida, aumentando a morbidade relacionada ao tratamento e reduzindo a taxa de sobrevivência e expectativa de vida dos pacientes (INCA, 2018).

O câncer de mama é o segundo mais comum entre as mulheres, precedido apenas pelo câncer de pele não melanoma (carcinomas). No Brasil, há uma estimativa de 59.700 casos novos de câncer de mama em mulheres para cada ano do biênio 2018-2019, com um risco estimado de 56,33 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2018).

Estudos mostram que as neoplasias mamárias em mulheres são similares às observadas em cadelas, em relação aos aspectos clínicos e patológicos (Cassali *et al.*, 2007; Rivera e Von Euler, 2011), o que torna a espécie canina ótimo modelo para estudos comparativos (Cassali *et al.*, 2007).

De maneira similar à população humana, a ocorrência do câncer nos animais de companhia é muito frequente (Nunes *et al.*, 2017). Embora alguns centros de estudos tenham feito levantamentos epidemiológicos abordando a casuística de tumores em atendimentos veterinários, ainda faltam dados epidemiológicos confiáveis sobre a ocorrência mundial das neoplasias em cães e não há previsão sobre a incidência anual da doença no Brasil. No entanto, tem-se observado uma maior ocorrência das neoplasias nos últimos anos. Acredita-se que fatores como nutrição adequada, profilaxia na prevenção de doenças infectocontagiosas e avanços no tratamento de doenças têm contribuído para maior longevidade dos animais e, conseqüentemente, maior prevalência de patologias peculiares da faixa etária mais avançada, dentre elas, as neoplasias (De Nardi *et al.*, 2002; Withrow, 2007; Daleck *et al.*, 2008). Adicionalmente, o aumento da população canina e a maior disponibilidade e avanço nos métodos de diagnóstico clínico também contribuíram para maior proporção de casos diagnosticados (Nunes *et al.*, 2017).

Segundo Vail (2008), a doença oncológica é a maior causa de morte em cães, sendo que cerca de 50% deles serão acometidos por processo neoplásico durante sua vida. Withrow (2007) observou que 45% dos cães com 10 anos de idade ou mais morrem devido a complicações neoplásicas. Dentre os diferentes tipos de tumores, as neoplasias mamárias são os mais frequentes nas fêmeas caninas, representando grande desafio na oncologia veterinária, principalmente em países onde a castração precoce não é usual (Cassali *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2017).

Na Medicina um dos objetivos atuais da oncologia é identificar fatores prognósticos e preditivos que possam estabelecer protocolos terapêuticos que propiciem melhores resultados de sobrevivência dos pacientes (Beserra *et al.*, 2016). Assim, o elevado número de tumores mamários em cadelas e a sua correspondência como modelo experimental em relação aos humanos, aumentou o interesse científico nessa espécie, melhorando consideravelmente o desempenho dos ensaios clínicos (Queiroga *et al.*, 2011; Valadares, 2015).

Como exemplo disso temos o estudo da via linfática de metástase mamária pela técnica de biópsia do linfonodo sentinela (LS), que é o primeiro linfonodo dentro de uma rede linfática que recebe

a drenagem de um tumor primário (Quadros e Gebrim, 2007; Tuohy *et al.*, 2009). Sua identificação e análise histopatológica têm sido extremamente importantes no estadiamento e predição de sobrevida de pacientes com câncer, pois a presença de metástase é o fator isolado mais importante para definição do prognóstico do câncer de mama e representa a base dos planos terapêuticos (Paz *et al.*, 2001; Tuohy *et al.*, 2009).

Foi a partir de ensaios experimentais em cães, visando o aprimoramento da técnica de identificação e biópsia do LS em mulheres, que o método passou a ser empregado em cadelas (Pinheiro *et al.*, 2003). Esses estudos servem como base não só para a medicina humana, mas também podem auxiliar na evolução dos métodos diagnósticos e terapêuticos na medicina veterinária (Casali *et al.*, 2007; Queiroga *et al.*, 2011).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Identificar e avaliar a presença de metástase em linfonodo axilar (LA) de cães com neoplasia em mamas de drenagem linfática axilar em estadiamento clínico II ou III submetidas à mastectomia radical unilateral ou mastectomia regional cranial e correlacionar com o estadiamento clínico e fatores de pior prognóstico (tipo histológico, presença de ulceração, aderência e necrose).

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a aplicabilidade da técnica de administração do corante azul patente 2,5% por via subcutânea na identificação de linfonodo(s) sentinela(s) axilar(es) de cães com tumores em mamas de drenagem axilar e estadiamento clínico II ou III .
- Avaliar o percentual de metástase em LA não palpável de pacientes com tumor mamário em estadiamento clínico II ou III submetidos à mastectomia. Correlacionar a presença de metástase em LA com a mama acometida, tamanho tumoral, ulceração, necrose e aderência.
- Correlacionar o tipo histológico da neoplasia com a presença de metástase em linfonodo(s) axilar(es) e com o estadiamento clínico do paciente.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Tumores mamários em cães

3.1.1. Aspectos epidemiológicos

Tumores mamários são as neoplasias mais comuns em cadelas inteiras ou castradas tardiamente, representando de 50 a 70% do total de neoplasias que acometem as fêmeas caninas (Merlo *et al.*, 2008; Sorenmo *et al.*, 2013). As taxas de incidência anual variam significativamente de acordo com a localização geográfica e é menor em áreas como os Estados Unidos e Europa Ocidental onde a prática de castração precoce é bem estabelecida (Sleeckx *et al.*, 2011).

A frequência de tumores diagnosticados nos estudos europeus assemelha-se aos encontrados no Brasil (Nunes *et al.*, 2017). Um estudo retrospectivo¹ realizado por De Nardi *et al.* (2002) estimou uma incidência de 45% de tumores mamários em relação às outras afecções oncológicas, sendo 68,4% destes tumores, considerados malignos.

Estudos patológicos de neoplasias mamárias submetidas ao diagnóstico histológico revelam que cerca de 41 a 53% desses tumores são considerados malignos, ocorrendo metástase em 25 a 50% destes casos. (Queiroga e Lopes, 2002). No entanto, Filho *et al.* (2010), em um estudo retrospectivo² observaram ocorrência maior. Das 1.465 lesões neoplásicas avaliadas, 73,4% eram malignas, mostrando relação benigno:maligno de 1:2,75. Um outro estudo retrospectivo³ realizado por Nunes (2015) encontrou uma ocorrência ainda maior, 84% de neoplasias mamárias estudadas foram classificadas como malignas.

O risco do desenvolvimento dos tumores mamários aumenta com a expectativa de vida. A doença acomete principalmente cadelas de meia idade (entre nove e 11 anos), sendo considerada rara em animais jovens, com menos de quatro anos de idade (Lana *et al.*, 2007; Sorenmo *et al.*, 2013). Nos cães machos o risco de ocorrência é muito baixo, com uma incidência que varia de 0 a 2,7% (Merlo *et al.*, 2008) e, geralmente, estão associados às anormalidades hormonais como tumores funcionais de células de Sertoli, que podem induzir ginecomastia (Lana *et al.*, 2007; Filho *et al.*, 2010).

3.1.2. Revisão anatômica e drenagem linfática

A mama é caracterizada como uma glândula sudorípara apócrina modificada encontrada apenas em mamíferos (Murphy, 2008; Sorenmo *et al.*, 2011). Os cães possuem cinco pares de mamas (Fig. 1) dispostas em duas fileiras separadas, estendendo-se da região torácica à inguinal (Hedlund, 2008; Sorenmo *et al.*, 2011), podendo eventualmente, apresentar apenas quatro pares (Murphy, 2008). Essas mamas são denominadas torácicas craniais (1), torácicas caudais (2), abdominais craniais (3), abdominais caudais (4) e inguiniais (5) (Murphy, 2008; Queiroga *et al.*, 2011, Sorenmo *et al.*, 2011).

¹ Estudo retrospectivo realizado na Universidade Federal do Paraná no período de 1998 a 2002.

² Estudo retrospectivo realizado no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria no período de 1990 a 2008.

³ Estudo retrospectivo realizado no Laboratório de Patologia Comparada (LPC) e Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) no período de 2001 a 2013.

A vascularização das glândulas mamárias é complexa. As mamas abdominais caudais e inguinais são irrigadas pelas artérias e veias epigástricas superficiais, que se originam da artéria pudenda externa. A mama abdominal cranial recebe vascularização dos vasos epigástricos superficiais craniais que irrigam, juntamente com os vasos cutâneos laterais, e ventrais (sexto e sétimo par), a mama torácica caudal. A mama torácica cranial é irrigada pelos vasos torácicos laterais e quarto e sexto pares de vasos cutâneos laterais e ventrais (Hedlund, 2008).

A circulação linfática é um importante meio de disseminação tumoral (Lana *et al.*, 2007) e seu conhecimento é necessário para avaliar a disseminação de células neoplásicas (Hedlund, 2008). Foi descrita pela primeira vez na espécie canina por Baum (1918), que corou vasos linfáticos com nanquim, aplicando-o ao redor da papila mamária (Maués, 2013).

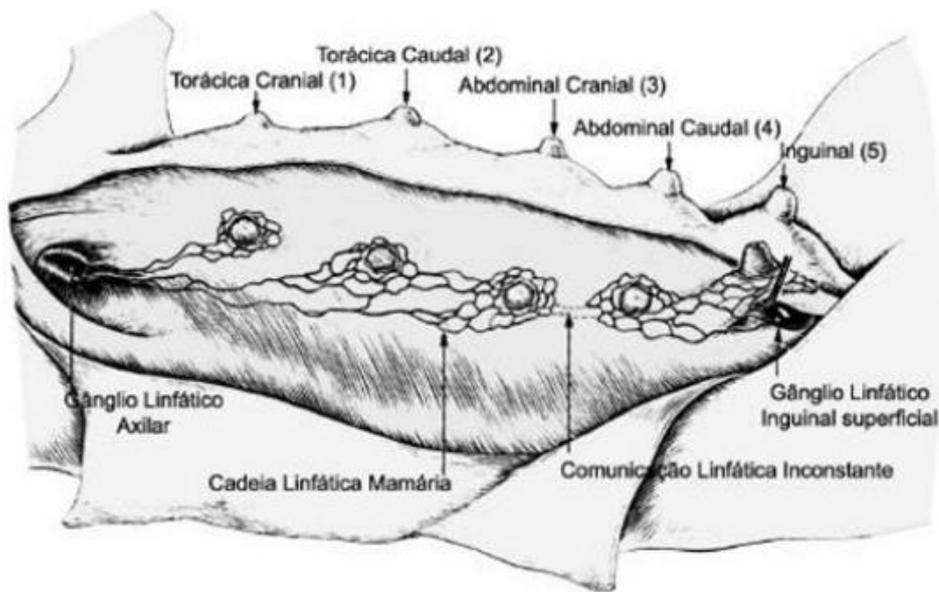


Figura 1. Ilustração da região ventral de uma cadela em decúbito dorsal demonstrando os cinco pares de mamas, a drenagem linfática e os linfonodos correspondentes (Fonte: Queiroga *et al.*, 2011).

Duas cadeias linfáticas principais realizam a drenagem das glândulas mamárias na cadela, compostas pelos linfonodos axilares e inguinais superficiais. Em animais saudáveis a circulação linfática promove a drenagem de glândulas ipsilaterais, não havendo contato direto entre as cadeias direita e esquerda (Murphy, 2008; Sorenmo *et al.*, 2011). Conforme demonstrado na figura 1, as mamas torácicas são drenadas para os linfonodos axilares e as mamas abdominal caudal e inguinal para os linfonodos inguinais superficiais. Já a mama abdominal cranial, realiza sua drenagem principalmente para o(s) linfonodo(s) axilar(es) (aproximadamente 70%) ocorrendo também drenagem para o(s) linfonodo(s) inguinal(is) (aproximadamente 30%) (Hedlund, 2008; Sorenmo *et al.*, 2011; Queiroga *et al.*, 2011).

Em cadelas com neoplasias mamárias, conexões linfáticas anormais podem ocorrer e a drenagem para linfonodos regionais pode sofrer variação devido à produção de fatores pró-lymangiogênicos (Pereira *et al.*, 2003; Lana *et al.*, 2007; Nogueira e Castro, 2017). No entanto, essas conexões anormais descritas foram observadas em um baixo percentual (Pereira *et al.*, 2003).

Os linfonodos axilares estão localizados no tecido adiposo da face medial da porção distal do músculo redondo maior, na região da primeira e segunda costelas. Estão situados ventralmente à artéria e veia toracodorsal e seus tamanhos podem variar de 0,5 a 5 cm, sendo que um segundo linfonodo acessório pode estar presente em cada axila (Pinheiro *et al.*, 2003; Nogueira e Castro, 2017).

Os linfonodos inguinais superficiais estão localizados aproximadamente três a quatro centímetros cranialmente ao osso púbico, na face dorsolateral das glândulas mamárias. Geralmente há dois linfonodos presentes, embora três ou quatro possam ser localizados, variando de 0,5 a dois cm de comprimento (Pinheiro *et al.*, 2003), também envoltos por tecido adiposo. Os linfonodos inguinais são removidos junto com a mama inguinal, quando essa é excisada, devido à sua proximidade anatômica com a mesma, diferentemente do LA, que nem sempre é avaliado e abordado na rotina cirúrgica. Isso ocorre devido à dificuldade de detecção do LA e potencial morbidade no pós-operatório dos animais, uma vez que ele é localizado junto a importantes estruturas axilares (artérias, veias e nervos) (Tuohy *et al.*, 2009; Maués, 2013).

Os linfonodos regionais (axilares e inguinais) podem estar aumentados devido à metástase de tumores mamários (Bella, 1998) e seu envolvimento resulta em prognóstico desfavorável (Bella, 1998; Nunes, 2015). Sabe-se que a presença de metástases em linfonodos provoca queda importante no tempo de sobrevivência dos pacientes, tornando importante essa ampliação do conhecimento sobre a via de drenagem linfática dos tumores mamários (Nunes, 2015; Valadares, 2015).

3.1.3. Fatores de risco e etiologia

O estudo dos fatores de risco é importante para o entendimento da patogênese das neoplasias e avaliação de prevenção da doença. O desenvolvimento de tumores mamários em cães tem relação direta com os hormônios sexuais estrógeno e progesterona, que têm um papel fundamental no desenvolvimento da glândula mamária normal (Sorenmo, 2003). 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).

Alguns autores relatam que receptores de estrógeno e progesterona são encontrados em 50% dos tumores mamários malignos e em 70% dos benignos (Gorbello e Corrata, 2001; Hedlund, 2008). Las Mulas (2005) descreveu uma dependência hormonal em 96% dos tumores mamários benignos e em 55% das lesões malignas a partir da imuno-histoquímica para receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP).

Um estudo realizado por Schneider *et al.* (1969) demonstrou que a ocorrência de tumores mamários em cadelas castradas antes do primeiro cio é de 0,5%, após o primeiro cio é de 8%, e aumenta para 26% se a cadela for castrada após o segundo cio. A ovariectomia tardia (após dois anos e meio de idade) não reduz o risco de tumores malignos, pois nesse período já ocorreu o pleno desenvolvimento das glândulas mamárias na cadela. No entanto, o risco de neoplasias benignas parece ser reduzido (Schneider *et al.*, 1969; Misdorp *et al.*, 1999).

Além da influência dos hormônios ovarianos, o uso de hormônios exógenos injetáveis para inibição de ciclo estral ou gestação pode aumentar a ocorrência das neoplasias, pois, a longo prazo, promovem a formação de nódulos hiperplásicos que podem sofrer transformação maligna (Misdorp *et al.*, 1999; Zatloukal *et al.*, 2005). Outros fatores de risco descritos além da idade e exposição hormonal, são a dieta, obesidade e raça (Sorenmo *et al.*, 2013).

Estudos epidemiológicos em seres humanos e experimentos em roedores têm demonstrado que a obesidade e uma dieta rica em gordura aumentam o risco da ocorrência de câncer (Maués *et al.*, 2016). É possível que a obesidade aumente o risco de neoplasias mamárias em cães e alguns estudos mostram que esse efeito é maior quando o ganho de peso ocorre no início da vida do animal. O aumento de peso corporal próximo ao período de diagnóstico da doença parece não ser significativo (Sorenmo *et al.*, 2011).

O mecanismo exato pelo qual a obesidade influencia o desenvolvimento e prognóstico do câncer de mama permanece desconhecido, no entanto, várias substâncias secretadas pelos adipócitos foram descritas como importantes, principalmente no processo de resposta inflamatória (Cranford *et al.*, 2015). Dentre essas substâncias podemos destacar aromatase, leptina, adiponectina, quimiocinas, proteínas de fase aguda (proteína C reativa), fatores hemostáticos e hemodinâmicos, neurotrofinas, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucinas, resistina, dentre outras (German *et al.*, 2010; Cranford *et al.*, 2015).

Alguns trabalhos têm demonstrado que cães com maior quantidade de tecido adiposo têm níveis séricos mais elevados de leptina e a 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 predisposição racial não é bem estabelecida na literatura, uma vez que a diferença pode estar relacionada ao perfil da população canina atendida nos centros veterinários. No entanto, alguns autores apontam maior ocorrência em raças puras quando comparadas com raças mistas e Zatloukal *et al.* (2005) e Hedlund (2008) apontaram maior risco relativo para o desenvolvimento de tumores mamários em cães das raças Poodle, Cocker Spaniel, Dachshund e alguns Terriers.

3.1.4. Aspectos clínicos e diagnóstico

A maioria dos cães com tumores mamários é clinicamente saudável no momento do diagnóstico e os tumores podem ser identificados pelos proprietários ou pelo veterinário durante o exame clínico de rotina (Sorenmo *et al.*, 2013). As formações neoplásicas comumente apresentam-se como nódulos circunscritos, de consistência firme, podendo ser únicos, múltiplos, aderidos (à pele e/ou musculatura), móveis, císticos, ulcerados, inflamados e de tamanhos variáveis (Misdorp, 2002; Hedlund, 2008; Sorenmo *et al.*, 2013). Podem acometer uma ou ambas as cadeias mamárias e as glândulas abdominais caudais e inguinais são, geralmente, as mais acometidas, provavelmente devido à maior quantidade de parênquima mamário (Cassali *et al.*, 2011; Sorenmo *et al.*, 2011).

O diagnóstico da doença é clínico e deve iniciar pela anamnese e identificação do paciente quanto ao sexo, idade e status reprodutivo. Os animais devem ser inicialmente submetidos a exame físico completo com avaliação da condição clínica geral e coleta de informações referente ao histórico

clínico, reprodutivo (ciclo estral, partos, castração, tratamento hormonal, abortos e pseudociese) e da lesão da glândula mamária (tempo de evolução e histórico de lesões anteriores) (Ferreira *et al.*, 2003; Campos e Lavalle, 2017).

O exame físico específico deve incluir a inspeção e palpação minuciosa de todas as glândulas mamárias, assim como dos linfonodos regionais, visto que o sistema linfático é a principal rota de metástases para as patologias malignas de mama em cães. Todas as informações devem ser registradas em um prontuário ou ficha oncológica (Sorenmo, 2003; Campos e Lavalle, 2017).

A punção por agulha fina (PAF), aspirativa ou não, é um método seguro, de alta sensibilidade e especificidade para a identificação de neoplasias e metástases em geral (Sorenmo, 2003). No entanto, o diagnóstico citológico na mama, principalmente ao que se refere aos carcinomas mamários, é marcado por graus variados de incerteza diagnóstica. É preciso ressaltar que células mesenquimais e mioepiteliais neoplásicas benignas também exibem variados graus de atipia citológica não relacionada à malignidade, podendo ser erroneamente interpretadas como malignas. Além disso, não existem critérios citomorfológicos que permitam distinção entre as contrapartidas benigna e maligna nessas populações celulares (Grandi, 2017). No entanto, a citologia é muito empregada na pesquisa de metástase em linfonodos regionais palpáveis, principalmente quando estes apresentarem alterações na forma, tamanho e/ou consistência. Em caso de resultados positivos ou suspeitos para metástases, a exérese do(s) linfonodo(s) afetado(s) deve ser realizada (Sorenmo, 2003; Cassali *et al.*, 2007).

Os pulmões são os sítios mais comuns de metástase à distância em cães com neoplasias mamárias malignas, entretanto, outros órgãos também podem ser acometidos como fígado, rins, baço e, em menor frequência, sistema nervoso central e ossos (Nunes, 2015; Campos e Lavalle, 2017).

Exames auxiliares de imagem devem ser realizados como radiografias torácicas em três projeções (ventro-dorsal e látero-lateral direita e esquerda) e ultrassonografia abdominal (Sorenmo *et al.*, 2011). O exame de tomografia computadorizada é o que apresenta maior acurácia na detecção de metástases pulmonares e de outros órgãos, principalmente aquelas com diâmetros pequenos. No entanto, devido ao custo elevado e necessidade de anestesia geral para sua realização em cães, a radiografia é o método padrão mais utilizado para a detecção de metástases pulmonares, podendo detectar lesões pulmonares com diâmetro superior a 6 mm (Cassali *et al.*, 2014; Campos e Lavalle, 2017). A tomografia e ressonância magnética são também indicadas para avaliação de outros órgãos para pesquisa de sítios metastáticos, inclusive do encéfalo, quando há suspeita de lesão em sistema nervoso central (Campos e Lavalle, 2017).

3.1.5. Tratamento

Apesar do esforço significativo para o desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas, a exérese cirúrgica é o método mais antigo e, ainda hoje, de maior sucesso no tratamento das neoplasias em animais e humanos (Withrow, 1998), sendo a conduta de escolha para cadelas com tumores mamários, exceto aquelas com carcinomas inflamatórios (Sorenmo *et al.*, 2013; Lavalle *et al.*, 2017). A excisão cirúrgica tem como objetivo proporcionar o controle locoregional da doença proporcionando melhor qualidade de vida e sobrevida do paciente. Além disso, permite a avaliação histopatológica da lesão, conferindo informações importantes sobre a classificação tumoral, prognóstico e necessidade de terapias adjuvantes (Sorenmo *et al.* 2013, Lavalle *et al.*, 2017).

A ressecção dos tumores mamários é considerada rotineira na clínica de animais de companhia, e a escolha da técnica cirúrgica depende da extensão da doença, drenagem linfática, tamanho e localização da lesão (Sorenmo *et al.*, 2003; Cassali *et al.*, 2014; Horta *et al.*, 2014). Deve-se dar preferência às técnicas mais simples e menos invasivas necessárias para a remoção completa dos nódulos tumorais e tecido linfático adjacente. No entanto, é importante respeitar os princípios da cirurgia oncológica, a anatomia e os fatores prognósticos. Dessa forma, podem ser realizadas intervenções como lumpectomia (nodulectomia), mastectomia simples, mastectomia regional (cranial ou caudal) e mastectomia radical unilateral ou bilateral (Hedlund, 2008; Horta *et al.*, 2014).

As informações sobre o tamanho do tumor, localização e presença de características de malignidade como ulceração, necrose e aderência à pele ou musculatura devem ser consideradas antes da definição de conduta cirúrgica. Nódulos únicos com diâmetro inferior a 1 cm e sem características de malignidade podem ser removidos por nodulectomia. Para nódulos que variam de 1 a 3 cm a mastectomia simples ou regional pode ser indicada. No entanto, para tumores maiores que 3 cm a mastectomia regional ou radical é considerada melhor opção, dependendo das características e localização do tumor (Hedlund, 2008; Lavalle *et al.*, 2017).

Alguns pesquisadores sugerem a realização de procedimentos cirúrgicos mais extensos, em uma abordagem preventiva, diante da possibilidade de aparecimento de novas lesões na mama remanescente. A cirurgia radical profilática definitivamente previne o desenvolvimento de lesões futuras, no entanto, estudos retrospectivos e prospectivos não evidenciaram nenhuma diferença, em termos de sobrevida e taxas de recidiva, quando as técnicas conservadoras foram comparadas às mastectomias radicais. Assim, critérios clínico-cirúrgicos devem ser utilizados para determinar a melhor abordagem para cada paciente (Horta *et al.*, 2014; Lavalle *et al.*, 2017).

Apesar de ser considerada um procedimento de baixa morbidade, as mastectomias, principalmente radicais, são consideradas procedimentos invasivos, com margem significativa para o desenvolvimento de complicações pós-operatórias como hematomas, seromas, infecções e deiscência de pontos, enfisema subcutâneo e edema de membros (Hedlund, 2008; Horta *et al.*, 2015).

A quimioterapia é uma modalidade de tratamento indicada para pacientes com tumores de mama com estadiamento avançado ou com neoplasias de prognóstico desfavorável, como terapia adjuvante para prevenir recorrências locais ou metástases (Cassali *et al.*, 2011; Cassali *et al.*, 2014).

A quimioterapia causa dano e interfere na replicação do DNA de células em proliferação, resultando em efeitos antiproliferativos e citotóxicos (Hanahan *et al.*, 2000; Ehrke, 2003). Protocolos de quimioterapia em dose máxima tolerada (QDMT) tem como objetivo o máximo possível de citotoxicidade das células tumorais. É considerada não específica, causando danos e toxicidade às células neoplásicas e sadias, sendo necessário intervalo entre os ciclos para recuperação do tecido normal ((Hanahan *et al.*, 2000; Campos *et al.*, 2017). Esses protocolos frequentemente são eficazes no início e resultam em regressão ou estabilização do tumor, aumento da sobrevida e até cura. No entanto, algumas respostas positivas podem ser de curta duração e ter recorrências, resultando em neoplasias de pior comportamento biológico e resistentes à fármacos citotóxicos (Hanahan *et al.*, 2000). Os principais protocolos propostos pela literatura consistem no uso de doxorubicina associado à ciclofosfamida ou à carboplatina, cisplatina ou carboplatina como fármaco único, ciclofosfamida associada a 5-fluoracil, carboplatina associada à gencitabina

e paclitaxel. No entanto, estudos ainda são necessários para determinar protocolos mais eficientes para a neoplasia mamária canina (Sorenmo *et al.*, 2013; Lavallo *et al.*, 2017).

A quimioterapia metronômica baseia-se na administração de agentes citotóxicos de forma contínua em doses relativamente mais baixas do que a QDMT. A administração metronômica proporciona baixos e contínuos níveis circulantes dos fármacos antineoplásicos, garantindo efeitos citotóxicos, anti-angiogênicos e imunomoduladores, interferindo na progressão e metástase das neoplasias. Ainda proporciona menores efeitos adversos e de resistência aos quimioterápicos em comparação à QDMT (Hanahan *et al.*, 2000). Os protocolos geralmente são bem tolerados, prolongando a sobrevida global e aumentando a qualidade de vida do paciente. Não substitui o tratamento convencional mas pode ser uma alternativa de tratamento paliativo em pacientes com metástase, tumor inoperável ou resistência a quimioterápicos. Podendo ainda ser utilizada após a QDMT com o objetivo de aumentar o intervalo livre de doença e sobrevida global do paciente. Fármacos como lomustina, clorambucil e ciclofosfamida podem ser utilizados isoladamente ou em associações com outras classes farmacológicas como anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e inibidores de tirosina quinase (Campos *et al.*, 2017).

Neoplasias benignas e carcinomas bem diferenciados frequentemente apresentam positividade para receptores de estrógeno e progesterona, sendo considerado um fator preditivo para terapia adjuvante de hormonioterapia. Essa avaliação de RE e RP pode ser realizada por meio de imunohistoquímica no tumor primário e/ou metástase e, em caso de positividade, a ovariectomia pode ser indicada devido à eliminação do estímulo hormonal e, conseqüentemente, proliferação tumoral (Ferreira *et al.*, 2017).

A utilização de inibidores competitivos da ligação do estradiol ao RE como o Tamoxifeno tem sido estudada por sua ação anti-proliferativa tanto *in vitro*, como em alguns ensaios clínicos (Lana *et al.*, 2007). O fármaco é frequentemente utilizado em mulheres diagnosticadas com câncer de mama hormônio-dependentes, sendo relacionado a aumentos na sobrevida global, intervalo livre de doença e redução de recidivas. Entretanto, seu uso em cadelas não tem sido promissor devido aos efeitos adversos sistêmicos observados como: alterações uterinas (complexo hiperplasia endometrial cística - piometra, metaplasia e pólipos endometriais), edema vulvar, incontinência e sinais de infecções do trato urinário, alterações oftalmológicas reversíveis como retinite e aumento de plaquetas na circulação sanguínea (Tavares *et al.*, 2010).

O papel da ciclooxigenase 2 (COX-2) tem sido muito estudado na doença oncológica. Essa enzima e seus produtos podem inibir a apoptose, estimular a angiogênese, diminuir a adesão celular e destruição da membrana basal favorecendo invasão, metástase e podendo interferir na vigilância imunológica e resultar em imunossupressão e manutenção da resposta inflamatória (Heller *et al.*, 2005; Hayes, 2007). O aumento da expressão de COX-2 em neoplasias mamárias caninas tem sido relacionado a um comportamento biológico tumoral mais agressivo (Heller *et al.*, 2005). Assim, os inibidores de COX-2 representam uma alternativa farmacológica interessante no tratamento e controle de neoplasias mamárias em estadiamento avançado, sendo considerado fator preditivo importante (Lavallo *et al.*, 2012). Deve-se ressaltar que o uso desses fármacos inibidores de COX-2 como AINEs seletivos são indicados somente em situações com neoplasia submetida à análise imunohistoquímica com resultado de altos escores de expressão para COX-2 (Lavallo *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2017). AINEs como Piroxicam e Firocoxibe podem ser utilizados, lembrando que pacientes idosos e/ou aqueles submetidos a tratamentos prolongados devem ser monitorados devido ao maior risco de efeitos colaterais e desenvolvimento de lesão renal (Campos *et al.*, 2017).

Não existe um protocolo consenso para o tratamento da neoplasia mamária canina, mas o importante é sempre priorizar a qualidade e vida do paciente, não o submetendo a tratamentos agressivos desnecessários ou não tratando pacientes que seriam beneficiados com determinada terapia (Cassali *et al.*, 2014).

3.1.6. Classificação histopatológica

Exames histopatológicos devem ser realizados de todas as lesões mamárias, independentemente do tamanho, uma vez que esse exame fornece informações para o melhor plano terapêutico do paciente. Diversos métodos de classificação histopatológica foram propostos para os tumores mamários caninos. Alguns destes adaptados a partir de sistemas de classificação para tumores mamários humanos. Em 1974, a OMS publicou a primeira classificação internacional histológica de tumores dos animais domésticos, que incluiu tumores e displasias da glândula mamária. Em 1999 foi publicada uma nova classificação, uma revisão da classificação original, sendo a classificação mais empregada e preconizada pela OMS e publicada por Misdorp *et al.* (1999) pela AFIP (Armed Forces Institute of Pathology).

Cassali *et al.* (2011) propuseram uma revisão e atualização das classificações de Misdorp, incluindo novos subtipos histológicos. Atualmente, o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors proposto por Cassali *et al.* (2014), contempla uma classificação mais abrangente adotando novos subtipos não descritos anteriormente, descritos nas Tab. 1 e 2.

Essa classificação foi elaborada considerando-se o tecido de origem (epitelial, mioepitelial, mesenquimal), suas características morfológicas e seu prognóstico. As lesões mamárias podem ser divididas em lesões benignas não neoplásicas, neoplasias benignas e neoplasias malignas (Maués, 2013; Cassali *et al.*, 2014).

Tabela 1. Classificação histológica de lesões mamárias não neoplásicas e neoplasias benignas de acordo com o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors proposto por Cassali *et al.* (2014).

LESÕES NÃO NEOPLÁSICAS	
Hiperplasia epitelial	Lesões de células colunares
Hiperplasia lobular	Alteração de células colunares
Hiperplasia ductal	Hiperplasia de células colunares
Adenose	Lesões atípicas de células colunares
NEOPLASIAS BENIGNAS	
Adenoma	Fibroadenoma
Adenomioepitelioma	Papiloma ductal
Adenoma basalóide	Tumor misto benigno

Tabela 2. Classificação histológica de neoplasias malignas de acordo com o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors proposto por Cassali *et al.* (2014).

NEOPLASIAS MALIGNAS	
Carcinomas	Carcinomas especiais
Carcinoma in situ ductal ou lobular	Carcinoma micropapilar
Carcinoma em tumor misto	Carcinoma lobular invasor
Carcinoma papilar	Carcinoma lobular pleomórfico
Carcinoma tubular	Carcinoma secretor
Carcinoma sólido	Carcinoma rico em lipídeos
	Carcinoma de células fusiformes
	Carcinoma de células escamosas
	Carcinoma anaplásico
	Carcinoma mamário com diferenciação sebácea
NEOPLASIA MIOEPITELIAL	
Adenomioepitelioma maligno	
Sarcomas	Outros sarcomas
Fibrossarcoma	Condrossarcoma
Osteossarcoma	Lipossarcoma
Carcinossarcoma	Hemangiossarcoma
Sarcoma em tumor misto	

As neoplasias benignas geralmente são lesões expansivas constituídas por células bem diferenciadas que podem ser distinguíveis das células normais correspondentes. As atípicas na arquitetura tecidual são discretas, ou seja, bem semelhantes ao tecido que lhe deu origem. De maneira geral, os tumores benignos apresentam crescimento não invasivo e são delimitados pelo tecido normal adjacente (Damasceno *et al.*, 2017), podendo progredir para lesões malignas invasoras (Sorenmo *et al.*, 2013). Os tumores malignos normalmente são pouco diferenciados ou indiferenciados, apresentam crescimento rápido e infiltrativos e, frequentemente, resultam em metástase (Lana *et al.*, 2007).

O tumor misto benigno é a neoplasia benigna mais comum (Queiroga e Lopes, 2002; Nunes *et al.*, 2014) e o carcinoma em tumor misto é a neoplasia maligna mais prevalente na glândula mamária canina (Nunes *et al.*, 2014; Nunes, 2015)

3.1.7. Estadiamento clínico e prognóstico

O estadiamento clínico do paciente é um fator importante para a definição da abordagem terapêutica dos tumores mamários, pois ajuda a entender e determinar a extensão da doença, sugere um prognóstico e, conseqüentemente, auxilia no planejamento do tratamento mais adequado a ser instituído. Os parâmetros a serem avaliados necessitam de exames físico e exames complementares para pesquisa de metástase (Sorenmo *et al.*, 2013; Cassali *et al.*, 2014).

Esse estadiamento baseia-se no sistema TNM modificado, criado pela OMS como demonstrado na Fig. 2. Esse sistema considera informações como o tamanho da lesão primária (T), presença de metástase em linfonodo regional (N) e presença de metástase à distância (M) (Cassali *et al.*, 2011; Cassali *et al.*, 2014).

As possíveis combinações entre T, N e M, originam o estadiamento clínico que possibilita classificar o animal em cinco estádios (I a V), sendo que o estadiamento mais baixo (I) possui melhor prognóstico e o estadiamento mais alto (V), pior prognóstico (Sorenmo *et al.*, 2011; Valadares, 2015).

O tamanho tumoral é considerado um fator prognóstico importante no câncer de mama de cadelas, uma vez que, lesões menores que 3,0 cm se correlacionam significativamente com melhor prognóstico que lesões maiores, como demonstrado na Fig. 3. Este parâmetro tem a vantagem de ser facilmente obtido durante a consulta e deve ser considerado na decisão de terapia do paciente (Sorenmo *et al.*, 2013).

Estadiamento	Tamanho do tumor primário	Linfonodos regionais	Metástase a distância
I	T ₁ : < 3,0 cm	N ₀ (sem metástase)	M ₀ (sem metástase)
II	T ₂ : 3,0-5,0 cm	N ₀ (sem metástase)	M ₀ (sem metástase)
III	T ₃ : > 5,0 cm	N ₀ (sem metástase)	M ₀ (sem metástase)
IV	T ₁ ou T ₂ ou T ₃	N ₁ (com metástase)	M ₀ (sem metástase)
V	T ₁ ou T ₂ ou T ₃	N ₀ ou N ₁	M ₁ (com metástase)

Figura 2. Sistema de estadiamento clínico para tumores mamários caninos de acordo com o sistema TNM estabelecido pela OMS (modificado): T = tamanho do tumor primário, onde T₁ < 3,0 cm de diâmetro; T₂ = 3,0 - 5,0 cm de diâmetro; T₃ > 5,0 cm de diâmetro. N = envolvimento de linfonodos regionais, onde N₀ = sem evidência de metástase; N₁ = linfonodo(s) regional(is) ipsilateral(is) envolvido(s); M = metástase em órgãos distantes, onde M₀ = sem evidências de metástase à distância; M₁ = presença de metástase à distância. (Adaptado de Owen, 1980; Cassali *et al.*, 2011).

A invasão de vasos linfáticos e linfonodos regionais resulta em uma queda significativa na sobrevida dos pacientes quando comparados à indivíduos com pesquisa negativa para metástase em linfonodos (Sorenmo, 2003; Sorenmo *et al.*, 2011), como pode ser ilustrado pela Fig. 4.

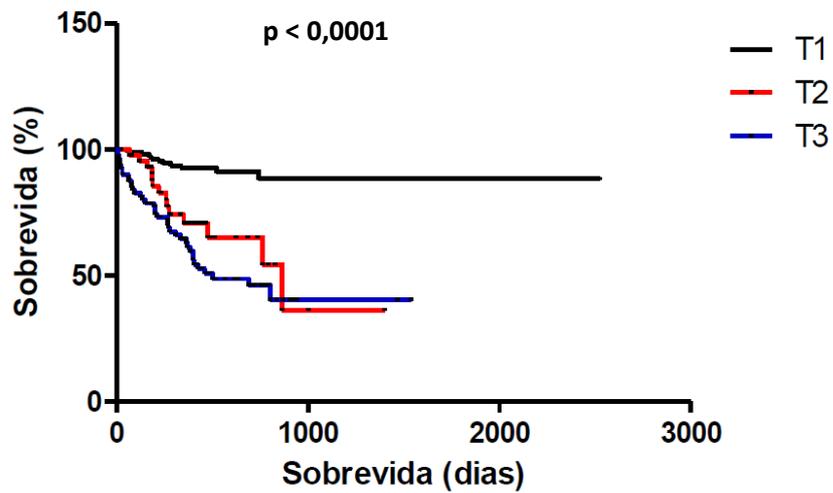


Figura 3. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier mostrando cadelas com carcinomas mamários de acordo com o tamanho tumoral. T1 – tumores menores que 3,0 cm de diâmetro, mediana não foi atingida, n = 118; T2 – tumores entre 3,0 e 5,0 cm de diâmetro, mediana atingida aos 868 dias, n = 46; T3 – tumores maiores que 5 cm de diâmetro, mediana atingindo 503 dias, n = 82 (Nunes, 2015).

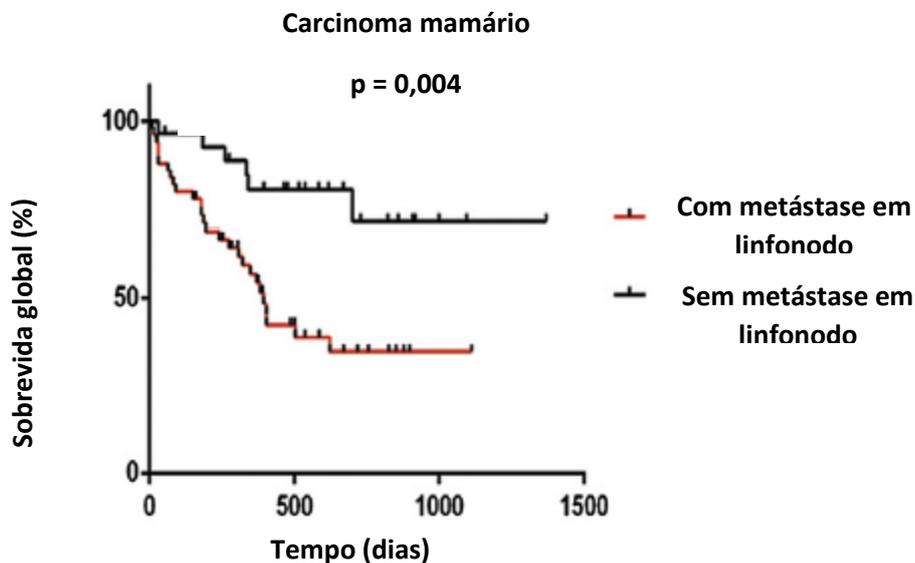


Figura 4. Curva de Kaplan-Meier mostrando sobrevida global (%), de acordo com a presença ou ausência de metástase em linfonodo de cadelas com carcinomas mamários (Modificado de Araújo *et al.*, 2016).

Dados como os de Nunes (2015) reforçam que o estadiamento clínico avançado está associado a um pior prognóstico da doença, como pode ser visto na Fig. 5.

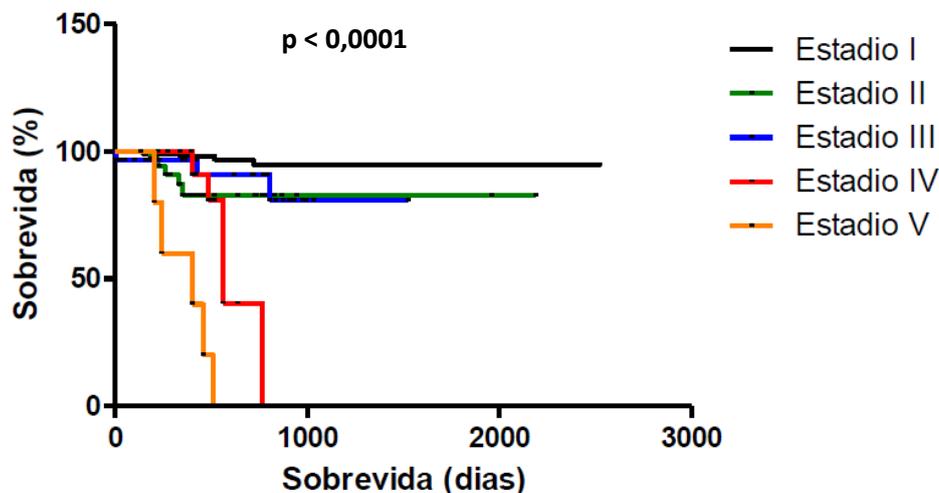


Figura 5. Curva de sobrevivência derivada de Kaplan-Meier de cadelas com carcinomas em tumores mistos de glândula mamária de acordo com o estadiamento clínico. Observa-se o tempo de sobrevivência significativamente menor em cadelas com estadiamento avançado quando comparado com cadelas com estadiamento inicial. Estádio I: mediana não atingida, n = 111; estágio II: mediana não atingida, n = 39; estágio III: mediana não atingida, n = 29; estágio IV: mediana atingida aos 563 dias, n = 16; estágio V: mediana atingida aos 404 dias, n = 6 (Nunes, 2015).

Além do estadiamento, outros fatores clínicos e patológicos podem ser úteis para a condução dos casos de câncer de mama em cadelas (Lana *et al.*, 2007). O comportamento biológico das neoplasias mamárias é extremamente variável, e encontra-se intimamente relacionado a importantes características de malignidade como o tamanho tumoral, presença de áreas de ulceração, invasão tecidual (aderências à pele ou musculatura) e necrose, além das metástases em linfonodos regionais e/ou em órgãos distantes (Lana *et al.*, 2007; Cassali *et al.*, 2011). Da mesma forma, as informações obtidas no exame histopatológico, como tipo histológico, grau de diferenciação, polimorfismo celular, índice mitótico, obtenção de margens cirúrgicas e presença de necrose apresentam valor prognóstico de extrema relevância para o clínico (Cassali *et al.*, 2014).

3.2. Linfonodo sentinela

O LS é definido como o primeiro linfonodo a receber a drenagem linfática do tumor, e corresponde ao primeiro local de metástase que se dissemina por via linfática (Paz *et al.*, 2001; Quadros e Gebrim, 2007; Tuohy *et al.*, 2009). A identificação e histopatologia do LS são fundamentais para o estadiamento dos cânceres em humanos e ajudam a determinar os planos de tratamento e prognóstico (Pereira, 2005; Tuohy *et al.*, 2009).

A primeira observação sobre o LS foi descrita em câncer de parótida humano em 1960 (Quadros e Gebrim, 2007) e, posteriormente, em 1969, foi investigado por Ramón Cabanas em carcinomas penianos humanos (Urban *et al.*, 2001; Quadros e Gebrim, 2007). Cabanas foi o primeiro a estudar

a drenagem linfática em tumores malignos e demonstrou que havia progressão escalonada das neoplasias nas cadeias linfáticas, descrevendo, portanto, o conceito de LS (Urban *et al.*, 2001).

Estudos demonstrando sua aplicabilidade em tumores de mama em mulheres foram descritos inicialmente por Krag *et al.* (1993). Desde então, a avaliação do LS tem se revelado segura e com elevada acurácia para prever a propagação linfática do tumor (Pinheiro *et al.*, 2003; Tuohy *et al.*, 2009). Na Medicina a biópsia do LS permite a preservação dos demais linfonodos axilares e, portanto, tem sido caracterizada como amostragem axilar seletiva, minimamente invasiva e altamente sensível na identificação de metástases, sendo amplamente utilizada antes da linfadenectomia axilar total indicada anteriormente. Dessa forma, a linfadenectomia axilar só é realizada em casos de metástase linfonodal confirmada (Paz *et al.*, 2001). Tal procedimento pode evitar vários efeitos adversos do esvaziamento linfático axilar como dor crônica, parestesia, limitação de movimentos do braço, seroma, linfedema e internação prolongada, havendo comprometimento da qualidade de vida das pacientes, sendo pertinente o questionamento de sua real necessidade (Urban *et al.*, 2001; Quadros e Gebrim, 2007).

Na Medicina Veterinária a utilização da técnica do LS tem auxiliado na identificação do LA com pequenas incisões e menor manipulação tecidual. Sua avaliação histopatológica tem contribuído para o estadiamento da doença neoplásica e, conseqüentemente, no estabelecimento do prognóstico e tratamento do paciente (Bianchi, 2015, Maués *et al.*, 2016).

Vários métodos foram descritos para a detecção do LS em humanos e cadelas como o uso de corantes, radiofármacos ou associação de ambos (Pinheiro *et al.*, 2003, Maués *et al.*, 2016). Diferentes corantes azuis têm sido utilizados para o procedimento de marcação do LS, sendo o Azul Patente V Sódico (2,5%) o mais utilizado no Brasil e na Europa e o Azul de Isossulfan o mais usado nos Estados Unidos (Sorenmo *et al.*, 2013; Valadares, 2015). Ambos são injetados por via intradérmica ou subcutânea alguns minutos antes do procedimento cirúrgico na região periaoreolar da mama ou peritumoral. Após a injeção, o corante é drenado pelo sistema linfático, permitindo a visualização da cadeia linfática regional durante o procedimento cirúrgico. As vantagens desse método são as boas taxas na detecção do linfonodo pela marcação de coloração azulada, simplicidade na execução da técnica e baixo custo (Pinheiro *et al.*, 2003; Bianchi, 2015; Valadares, 2015). Após a exérese do linfonodo, deve-se realizar a análise histopatológica do tecido para detecção de metástase e técnicas como a imuno-histoquímica podem ser utilizadas para auxiliar no diagnóstico (Maués, 2013; Beserra *et al.* 2016).

Pinheiro *et al.* (2003) encontraram 90,9% dos linfonodos axilares em cadelas submetidas à mastectomia após aplicação do corante azul patente por via subpapilar. Bianchi (2015) encontrou 95,9% dos linfonodos axilares com o uso do mesmo corante por via intradérmica. Já Maués *et al.* (2016), encontraram taxa de sucesso de 76,27% para identificação do LS com uso de azul de metileno 2% por via intradérmica. Entretanto, é importante ressaltar que alguns fatores podem ser determinantes na taxa de sucesso de identificação do LS como a curva de aprendizagem do cirurgião e a possível ocorrência de falso negativo devido ao bloqueio linfático pela formação de êmbolos em caso de tumores muito grandes (Quadros e Gebrim, 2007; Valadares, 2015).

Além dos corantes já citados, outros podem ser utilizados como o iopamidol, o verde de indocianina e a hemossiderina⁴ (pigmento de ferro), e o tempo de início da marcação pode variar

⁴ A hemossiderina, produto da degradação da hemoglobina, é utilizada como m corante autólogo, obtido por meio de hemólise do sangue do paciente após centrifugação (Quadros e Gebrim, 2007).

de acordo com o corante utilizado. O uso de radiofármacos, como o Tecnécio Tc99 pela linfocintilografia nos hospitais dotados de medicina nuclear, também é uma opção (Quadros e Gebrim, 2007). A vantagem do uso de radiofármacos é a maior sensibilidade da técnica em comparação ao uso dos corantes, indicando o número e a localização do LS e permitindo maior programação cirúrgica. No entanto, a técnica tem alto custo, necessita de equipe profissional especializada e equipamentos para leitura e detecção da radiação. Mesmo quando utilizada, associa-se o uso de um corante pois essa associação do radiofármaco com o corante facilita a identificação do linfonodo durante o procedimento cirúrgico (Pinheiro *et al.*, 2003, Pereira, 2005).

As complicações oriundas da aplicação dos corantes como azul patente são bastante raras em mulheres, sendo relatadas reações de hipersensibilidade em menos de 1,5% das pacientes submetidas à técnica (Urban *et al.*, 2001). Em algumas cadelas, coloração da pele em tom azulado foi observada por até 24 horas após aplicação, mas reações adversas com o azul patente e hemossiderina ainda não foram descritas (Pinheiro *et al.*, 2003), no entanto, há relato de reação alérgica local no ponto de aplicação do corante azul de metileno (Beserra *et al.*, 2013).

Trabalhos utilizando o azul patente, em cultivo de células de endotélio corneal, demonstraram ausência de citotoxicidade, sem qualquer efeito deletério para o cultivo, mesmo em altas concentrações, demonstrando sua excelente biocompatibilidade (Thaler *et al.*, 2011). A solução de azul patente é eliminada de 24 a 48 horas pela bile e através da urina, que pode tornar-se verde ou azulada (Bianchi, 2015; Valadares, 2015).

Um estudo realizado por Bianchi (2015) com 49 cadelas com tumores de mama, foi observada taxa geral de 16,3% de metástase em linfonodo axilar. No entanto, quando foi considerada neoplasia na mama torácica cranial, houve correspondência de 36,4% de metástase, sugerindo que essas mamas são mais propensas a desenvolver metástases no linfonodo axilar. Outro dado relevante deste estudo é que a maioria das cadelas que apresentaram metástase linfonodal axilar (62,5%), possuía nódulos de mama maiores que 3 cm.

No contexto da Medicina Veterinária, a pesquisa do LS não muda a conduta em relação à abordagem do LS inguinal (uma vez que esse é removido junto com a mastectomia e avaliado separadamente), mas é uma importante ferramenta para o correto estadiamento e identificação do LA, visto que nem sempre um linfonodo com metástase encontra-se aumentado de tamanho e facilmente palpável (Valadares, 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

Este estudo foi encaminhado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UFMG sob o protocolo de nº 361/2016. Foi também autorizado pelo Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias (DCCV) da UFMG e teve consentimento da direção do Hospital Veterinário (HV-UFMG) e Laboratório de Patologia Comparada (LPC) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, responsáveis pelo fornecimento de dados retroativos e realização das avaliações e procedimentos. Os tutores assinaram o Termo de Consentimento Livre e esclarecido (anexo 1).

4.2. População

Foram analisados dados de 50 cães, de diferentes raças e idades, com diagnóstico clínico de tumor em mamas com drenagem para o linfonodo axilar (mamas torácicas e/ou mamas abdominais craniais). Além disso os animais apresentavam obrigatoriamente estadiamento II ou III, classificados de acordo com a versão modificada proposta pela OMS. Para a análise de cães com mais de um diagnóstico de neoplasia mamária, utilizou-se o diagnóstico responsável pela inclusão do paciente no estadiamento II ou III.

Os animais foram provenientes da rotina clínico-cirúrgica do HV-UFMG no período de abril de 2015 a maio de 2017. Para obter-se um n amostral satisfatório o estudo envolveu uma análise retrospectiva (abril 2015 a março 2016) representada por 19 animais e uma análise prospectiva (abril 2016 a maio 2017) representada por 31 animais.

4.3. Critérios de exclusão

Não foram incluídos neste estudo as seguintes situações: (1) animais com lesões menores que 3 cm submetidos apenas à nodulectomia ou mastectomia simples; (2) animais submetidos à mastectomia apenas com lesões em mamas de drenagem inguinal, que não são objetivo de avaliação deste estudo; (3) animais com lesões em estadiamento clínico II ou III, porém, com linfonodo axilar palpável, visto que nesses casos a utilização do azul patente não é necessária para identificação do linfonodo e a PAF pode ser realizada para pesquisa de metástase antes da cirurgia.

4.4. Realização de exames pré-cirúrgicos

Os animais foram submetidos a exame clínico completo (avaliação de mucosas, tempo de preenchimento capilar, hidratação, ausculta cardiopulmonar, temperatura retal, avaliação dos nódulos mamários e linfonodos examináveis).

Informações como raça, idade, peso, uso de anticoncepcional, número deaios, pseudogestação, partos, abortamentos, castração, realização de cirurgias prévias, e caracterização dos nódulos mamários e linfonodos regionais foram registradas na ficha de atendimento padrão do setor de oncologia do HV-UFMG para o estadiamento de animais com tumores mamários (anexo 2). O estadiamento clínico foi realizado para cada paciente, considerando, em caso de nódulos múltiplos, a lesão de estadiamento mais avançado, de acordo com os critérios definidos pela OMS.

Lesões ulceradas e com necrose foram registradas. Foram considerados ulcerados os nódulos com solução de continuidade rasas, eritematosa, com fundo limpo. Os nódulos classificados com presença de necrose foram aqueles com soluções de continuidade mais profundos, com tecido enegrecido ou desvitalizado e presença de secreção.

Coleta de sangue para exames de hemograma completo e dosagem sérica de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama GT (GGT), glicose, amilase, proteínas totais, albumina e globulinas foram realizadas para avaliação pré-cirúrgica e anestésica. Os exames de sangue foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG.

Foram também realizados os seguintes exames de imagem: radiografias torácicas em três projeções (latero-lateral esquerdo, latero-lateral direito e ventro-dorsal) e ultrassonografia abdominal para pesquisa de metástases no setor de diagnóstico por imagem do HV-UFMG. Pacientes com mais de sete anos de idade ou portadores de alterações cardíacas foram submetidos ao exame de eletrocardiograma e, na presença de alteração cardíaca, à avaliação cardiológica e/ou ecodopplercardiograma. Após realização e avaliação destes exames, foram agendados os procedimentos cirúrgico/anestésico dos pacientes em condições clínico-laboratoriais satisfatórias.

4.5. Procedimento cirúrgico (mastectomia)

Nas datas agendadas, os animais foram internados e os procedimentos de preparo pré-operatório seguiram a rotina do HV-UFMG, constando de jejum hídrico e alimentar de no mínimo 2 e 8 horas, respectivamente, a fim de evitar êmese trans ou pós-operatória e pneumonia por aspiração. Foram realizadas medicações pré-anestésicas (definidas pelo anestesista responsável conforme protocolo do HV-UFMG e condição clínica do paciente), tricotomia ampla no local a ser operado (com máquina de tosa) e cateterização venosa cefálica ou safena lateral na sala pré-cirúrgica.

Na sala cirúrgica foi realizada monitorização eletrocardiográfica, pressão arterial invasiva, saturação de oxigênio, temperatura e capnografia dos pacientes. O protocolo anestésico de manutenção foi estabelecido pelo anestesista responsável de acordo com a condição clínica do paciente e rotina clínica do HV-UFMG.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal horizontal e submetidos à antissepsia do campo cirúrgico com solução de clorexidina degermante 2% e clorexidina alcoólica 0,5%, respectivamente, na pele previamente tricotomizada. Antes da colocação dos campos cirúrgicos estéreis, foi injetada solução estéril de azul patente a 2,5%, por via subcutânea na região peritumoral ou sub-papilar da mama torácica cranial. As doses utilizadas foram de 0,5 mL para animais até 10 kg e 1 mL para animais acima de 10 kg. Aguardou-se um período de aproximadamente 10 a 20 minutos para a migração do contraste pela via linfática.

As cirurgias de mastectomia foram realizadas pela mesma equipe do setor de oncologia do Hospital da UFMG conforme descrição de Lana *et al.* (2007) e Hedlund (2008) e a escolha da técnica foi de acordo com o número e localização dos tumores, respeitando a drenagem linfática e o estadiamento clínico do paciente (Lavalle *et al.*, 2017).

A mastectomia regional cranial (exérese das mamas torácicas) foi realizada para a remoção das conexões linfáticas envolvidas em mamas torácicas acometidas por lesões maiores que três

centímetros e/ou com as características de malignidade descritas anteriormente. A exérese da mama abdominal cranial foi necessária em alguns casos, para obtenção de margem cirúrgica. A mastectomia radical unilateral foi realizada quando lesões maiores que três centímetros e/ou com ulceração e/ou necrose envolverem a mama abdominal cranial ou nos casos de lesões múltiplas, com o propósito de remover todas as lesões e formar uma única ferida cirúrgica a partir da incisão e ressecção contínua das glândulas mamárias. Em caso de lesões múltiplas, o diagnóstico considerado nas análises foi aquele referente ao tumor que atendeu os critérios de seleção do estudo.

Foi realizada incisão elíptica ao redor das mamas a serem excisadas respeitando a distância de dois a três centímetros dos tumores, conferindo uma margem de segurança. As mamas com nódulos foram seccionadas pelo tecido subcutâneo até a fáscia muscular e, em seguida, foram excisadas. Os vasos sanguíneos foram previamente ligados com fio cirúrgico poliglecaprone e procedeu-se à divulsão da musculatura axilar para localização e exérese do(s) linfonodo(s) corado(s) pelo azul patente. As bordas da ferida cirúrgica foram aproximadas com sutura no tecido muscular e subcutâneo com fio poliglecaprone em dois planos de sutura com padrão de Sultan e simples contínuo, respectivamente. A dermorráfia foi realizada em padrão simples separado ou padrão Wolff com fio náilon. O calibre dos fios variou de acordo com o porte do paciente.

Após as intervenções cirúrgicas, os animais foram mantidos hospitalizados para monitoração e controle de dor até apresentarem condições clínicas para alta hospitalar, o que variou de acordo com a recuperação do paciente e extensão do procedimento cirúrgico realizado (de 24 a 72 horas). Durante a internação, os animais receberam alimentação comercial seca ou úmida para cães, e medicações de pós-operatório (antibiótico, analgésicos e anti-inflamatório não esteroideais), bem como a monitoração de parâmetros vitais e inspeção e cuidados com a ferida cirúrgica. Todos os animais utilizaram curativo local com faixa compressiva por 24 a 48 horas e roupa cirúrgica ou colar elisabetano para evitar interferência do animal sobre a ferida cirúrgica por aproximadamente 10 dias, quando foi realizado a remoção dos pontos.

Também foram observadas, avaliadas e documentadas as possíveis complicações pós-operatórias: hematoma, edema, seroma, enfisema subcutâneo, infecção e deiscência de pontos.

4.6. Análise histopatológica

O material ressecado na cirurgia foi colocado em frascos separados [glândulas mamárias com nódulo(s) e linfonodo(s) axilar(es)] contendo solução aquosa de formalina tamponada a 10%, devidamente identificados e encaminhados para análise histopatológica no LPC-ICB.

Após fixação em formalina o material foi processado conforme rotina do laboratório, pela técnica de inclusão em parafina. Secções em micrótomo (4 µm de espessura) foram obtidas e colocados em lâminas de vidro para coloração com hematoxilina e eosina (HE). Os linfonodos axilares foram clivados por inteiro com corte transversal, de forma a englobar toda a extensão com intuito de avaliá-los por completo. A identificação do tipo histológico se deu por análise em microscopia óptica e seguiu a classificação e padronização de acordo com o Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors (Cassali *et al.*, 2014).

4.7. Análise estatística

As informações obtidas a partir do histórico, exame clínico, análise histopatológica e complicações pós-operatórias foram avaliadas por meio de análises descritivas. Para testar as diferenças entre categorias de cada variável preditora, foi ajustado um modelo de regressão logística, que considerou os valores de presença ou ausência do linfonodo e presença ou ausência de metástase. Este modelo testou a diferença na probabilidade de se encontrar um linfonodo, ou de ocorrência de metástase, entre as categorias de cada variável preditora (*overall*). Para variáveis que possuíam mais de duas classes, utilizou-se a correção de Tukey nas comparações múltiplas par-a-par (*pairwise*). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software R versão 3.4.2 (R Core Team, 2017).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo avaliou 50 cães (49 fêmeas e um macho), portadores de lesões neoplásicas maiores que três centímetros, em mamas torácicas e/ou abdominais craniais, segundo padronização histopatológica de Cassali *et al.* (2014). A idade dos animais variou de três a 19 anos ($11,4 \pm 3,3$). Embora esses dados sejam referentes a uma população específica, os dados são semelhantes aos descritos por Lana *et al.* (2007) e Sorenmo *et al.* (2013) que relataram uma maior ocorrência da doença em animais de meia idade (entre nove e 11 anos). Ainda em concordância com esses autores, foi observado a ocorrência rara da doença em animais com idade inferior a quatro anos (2%; $n = 1/50$). Dentre os animais avaliados, apenas um animal (2%) era macho, coincidindo com os dados de Merlo *et al.* (2008) que relatou uma baixa ocorrência da neoplasia mamária nesse sexo, variando de 0 a 2,7%.

A maioria dos animais do estudo era da raça Poodle (30%, $n = 15/50$), seguida pelos animais sem raça definida (SRD) (26%, $n = 13/50$) e Cocker (6%, $n = 3/50$), respectivamente. As demais raças tiveram frequência inferior a 4% (Tab. 3). Esses dados são semelhantes aos descritos por Hedlund (2008) e Maués (2013). Essa alta incidência da doença na raça Poodle pode ser devido à alta popularidade da raça no Brasil e grande quantidade de cruzamentos consanguíneos que podem contribuir para acúmulo de alterações genéticas.

Tabela 3. Distribuição de raças da população do estudo, atendidas no período de abril de 2015 a julho de 2017 no HV-UFMG.

Raças	Frequência absoluta	Frequência relativa
Poodle	15	30%
SRD	13	26%
Cocker	3	6%
Yorkshire	2	4%
Shihtzu	2	4%
Shnauzer	2	4%
Pastor Alemão	2	4%
Maltês	1	2%
Golden	1	2%
Labrador	1	2%
Fila Brasileiro	1	2%
Terrier Brasileiro	1	2%
Dachshund	1	2%
Boxer	1	2%
Beagle	1	2%
Dálmata	1	2%
Boxer	1	2%
Bichon Frisé	1	2%
Total	50	100%

Dentre as glândulas mamárias avaliadas (M1, M2 e M3), a mais acometida foi a mama torácica caudal (M2), com um percentual total de 58% ($n = 29$), sendo em 26% ($n = 13$) dos casos

acometida isoladamente, 26% (n = 13) a lesão abrangia também a mama torácica cranial (M1) e 6% (n = 3) abrangia a mama abdominal cranial (M3), conforme demonstrado na Fig. 6.

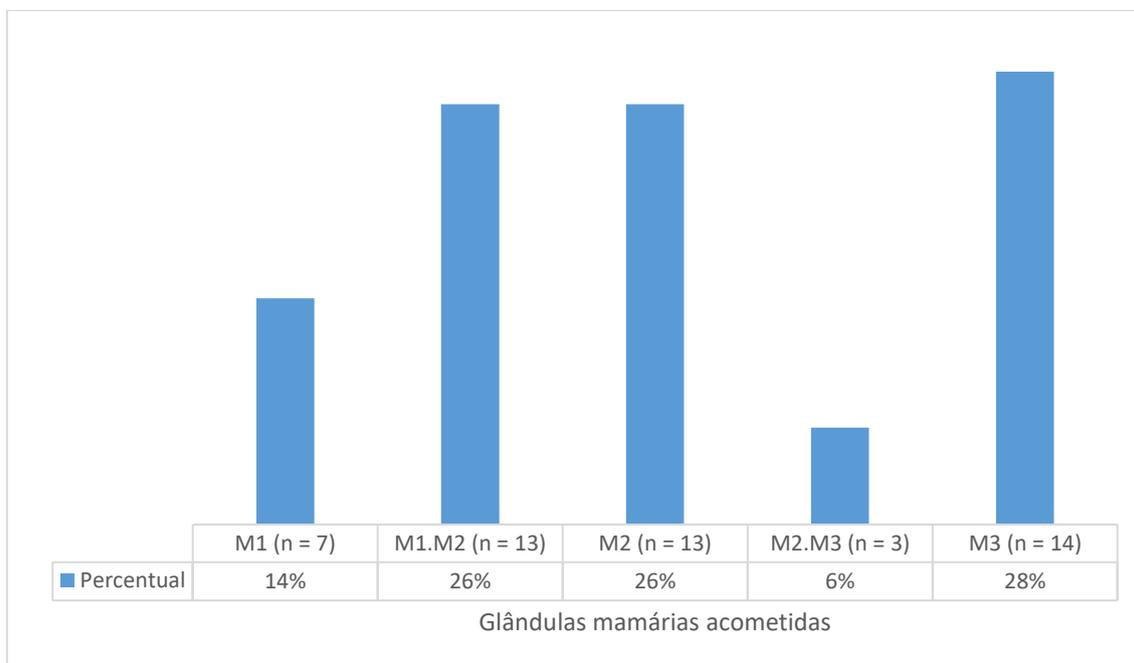


Figura 6. Distribuição e frequência das glândulas mamárias acometidas por lesões neoplásicas na população do estudo. M1: mama torácica cranial, M2: mama torácica caudal, M3 mama abdominal cranial.

Os tipos histológicos encontrados neste estudo foram listados na Tab. 4, com suas respectivas frequências absoluta e relativa. Das lesões encontradas, 48 (96%) foram consideradas malignas e apenas duas (4%) consideradas benignas. Esses valores altos sugerem que os critérios de seleção para inclusão de animais neste estudo (tumores maiores que 3 cm, em localização de drenagem torácica com ou sem ulceração, necrose e aderência) aumentam a probabilidade de malignidade.

Dentre as lesões encontradas o tumor mais frequente foi o carcinoma em tumor misto, presente em 50% dos casos (n = 25/50), seguido pelo carcinoma sólido que foi encontrado em 18% dos casos (n = 9/50). Essa alta frequência de carcinomas em tumores mistos está em concordância com dados da literatura que relatam esse tipo histológico como o tumor maligno mais frequente nas cadelas e levantamentos no Brasil apontam que eles representam cerca de 50% de todas as neoplasias malignas diagnosticadas em mama das cadelas (Gamba *et al.*, 2017).

Tabela 4. Tipos histológicos e suas respectivas frequências absoluta e relativa dos 50 animais avaliados no estudo.

	Frequência absoluta	Frequência relativa
Lesões malignas		96%
Carcinoma em tumor misto	25	50%
Carcinoma sólido	9	18%
Carcinossarcoma	4	8%
Carcinoma papilar (invasor)	3	6%
Adenoepitelioma maligno	3	6%
Sarcoma	2	4%
Carcinoma tubular	1	2%
Carcinoma de células escamosas	1	2%
Lesões benignas		4%
Papiloma ductal	1	2%
Tumor misto benigno	1	2%

Todos os animais receberam administração do corante azul patente e o fato do LA estar corado em azul facilitou a identificação do mesmo, com pouca manipulação da região axilar. Em 76% dos casos (n = 38/50) foi possível a identificação do LA corado e, em 24% (n = 12/50) o linfonodo não foi identificado. Esse resultado de detecção do LA após aplicação do azul patente foi semelhante ao descrito por Pinheiro *et al.* (2003) que encontrou o LA corado em 71,42% dos casos. Esses mesmos autores aumentaram essa taxa de detecção para 90,9% dos casos quando associaram à técnica o uso do radiofármaco (Tecnécio Tc99) e cintilografia para melhoria na sensibilidade. No entanto, o resultado encontrado nesse estudo foi inferior ao descrito por Bianchi (2015) que encontrou uma taxa mais alta (95,9%) com o uso isolado do azul patente. Essa taxa mais alta de sucesso na identificação do LA corado pode estar relacionada ao fato do procedimento de aplicação e exérese do linfonodo ter sido realizado sempre pelo mesmo profissional, à dose utilizada (2 mg/kg) e ao fato de não ter havido separação de animais com linfonodos palpáveis, que são mais facilmente identificados na cirurgia. No caso do presente estudo, a dose utilizada foi diferente e o LA palpável foi um dos critérios de exclusão. Além disso, os procedimentos de aplicação do corante e exérese do(s) linfonodo(s) foram realizados por uma mesma equipe, mas não pelo mesmo profissional. Alguns autores preconizam a importância de uma curva de aprendizado do cirurgião e relatam uma melhora na execução da técnica após algum tempo de experiência (Quadros e Gebrim, 2007).

Em todos os animais observou-se a difusão do corante azul na derme e tecido subcutâneo, mesmo naqueles em que o linfonodo axilar não foi identificado. Em alguns casos, a impregnação do corante foi maior, dificultando a visualização. Esse fato foi observado com maior frequência em animais de porte pequeno (menor que cinco quilos), podendo sugerir a administração de uma dose menor de corante nesses pacientes. Nesse estudo não foi avaliado se esse fato teve alguma relação com o local de aplicação que variou em alguns animais em função da localização do tumor: subpapilar ou peri-tumoral (nos pacientes com tumores envolvendo a papila mamária).

Os linfonodos identificados tiveram tamanho variando de 0,5 a 3,1 (1,4 cm \pm 0,7). Esses dados são semelhantes aos descritos por Pinheiro *et al.* (2003) que descreveram a presença de linfonodos axilares variando de 0,5 a 5.0 cm. Em dois pacientes (5,26%) foram encontrados um segundo

linfonodo axilar (acessório). Esse dado também é descrito na literatura e o estudo de Maués (2013) detectou 4,04% de linfonodos acessórios dentre os linfonodos axilares estudados.

O peso dos animais variou de 2,70 a 43,0 kg ($12,7 \pm 10,35$) sendo que 64% dos animais tinham peso inferior a 10 kg, 14% tinham peso entre 10 e 20 kg e 22% tinham peso superior a 20 kg.

Foi avaliada a probabilidade de encontrar o LA corado pelo azul patente em relação ao tamanho do tumor, mas não foi encontrada diferença estatística significativa (Fig.7). Esse resultado é esperado uma vez que todos os animais estudados tinham linfonodos não palpáveis, e com tamanho compatível com os valores de referência para a espécie, independentemente do tamanho tumoral.

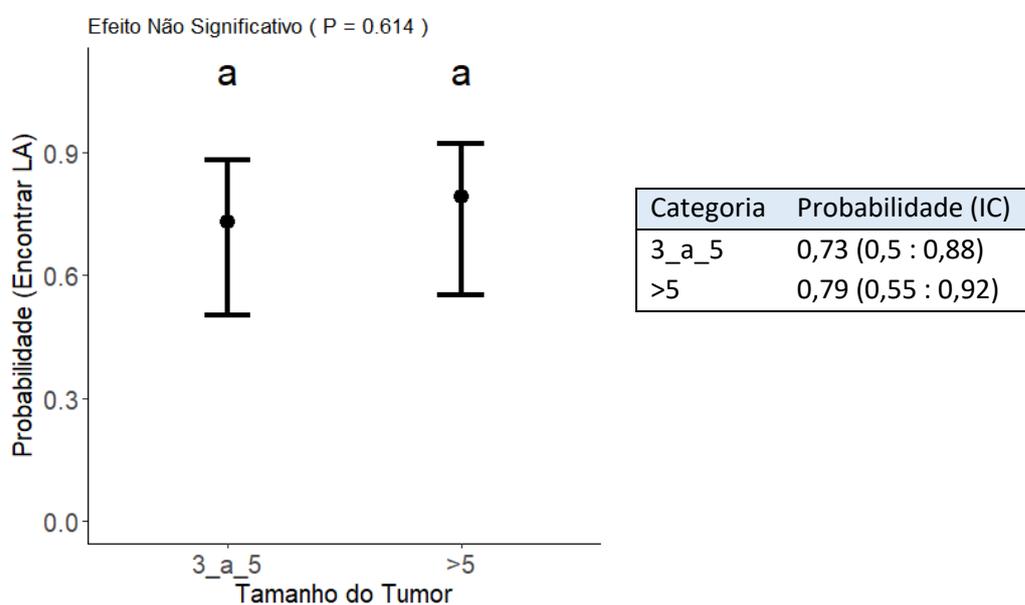


Figura 7. Probabilidade de encontrar o linfonodo axilar corado pelo azul patente em relação ao tamanho tumoral: 3 a 5 cm (estadio II); > 5 cm (estadio III). IC = intervalo de confiança.

Também não houve diferença estatística na probabilidade de encontrar o LA em relação ao peso dos animais (Fig. 8), sugerindo que a utilização de uma dose diferente do corante para animais de peso inferior e superior a 10 kg foi eficiente. Sabe-se que, em animais obesos, pode haver uma maior dificuldade na identificação do linfonodo devido ao acúmulo de tecido adiposo na região axilar (Hedlund, 2008), no entanto, nesse estudo não foi considerado o escore de condição corporal dos animais, somente o peso.

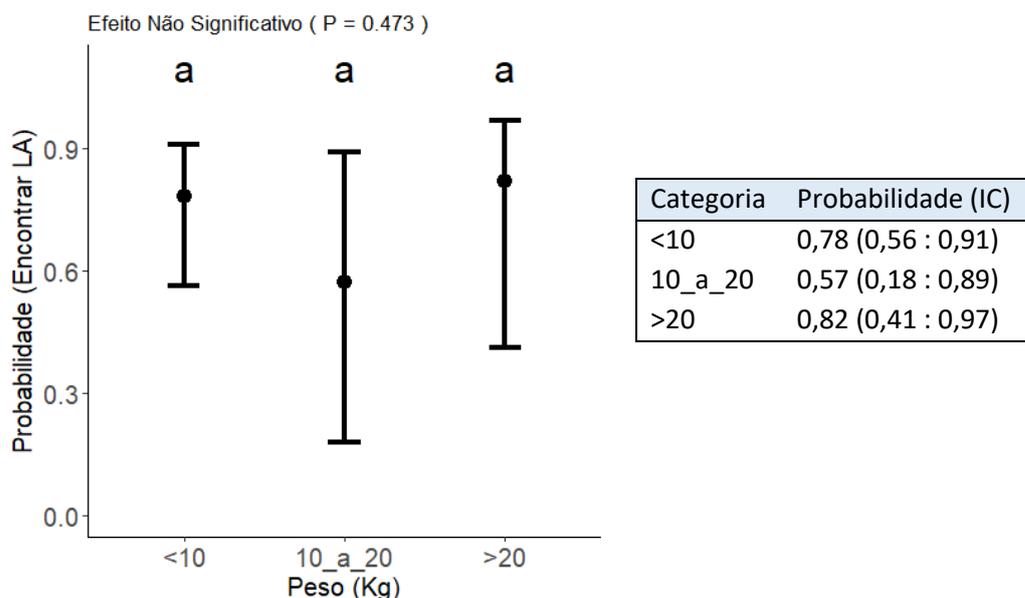


Figura 8. Probabilidade de encontrar o linfonodo axilar corado pelo azul patente em relação ao peso dos animais (peso < 10 kg; entre 10 e 20 kg; peso > 20 kg). IC = intervalo de confiança.

Dos 38 animais cujos linfonodos axilares foram identificados pelo azul patente, 14 (36,8%) possuíam metástase identificada na avaliação histopatológica. Em 24 (63,2%) não foram encontradas células tumorais nos linfonodos, apenas hiperplasia reacional e/ou hemossiderose.

Quando se considera o estadiamento clínico/tamanho do tumor, observou-se diferença estatística significativa quanto à probabilidade de encontrar metástase em LA (Fig. 9). Sabe-se que o tamanho tumoral é um dos mais importantes fatores já estabelecidos para a avaliação do prognóstico no câncer de mama da mulher e útil também na abordagem clínica dos tumores mamários em cadelas. Os dados observados nesse estudo corroboram com vários trabalhos que confirmam pior prognóstico e menor tempo de sobrevida global em cadelas portadoras de grandes massas tumorais (> 5cm – estadiamento III) (Cavalcanti, 2006; Nunes *et al.*, 2014; Ferreira e Cassali, 2017).

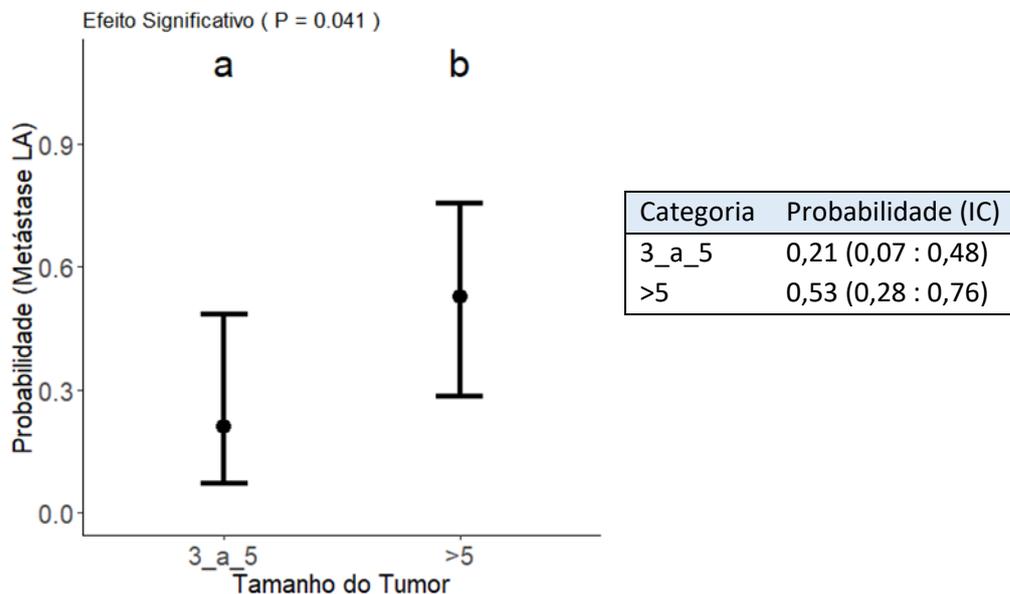


Figura 9. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação ao tamanho tumoral; 3 e 5 cm (estadiamento II); > 5 cm (estadiamento III). IC = intervalo de confiança.

Quanto à localização dos tumores não houve diferença significativa em relação à probabilidade de encontrar metástase em LA quando se considera as mamas torácica cranial (M1), torácica caudal (M2) e abdominal cranial (M3) (Fig. 10). Esse dado foi esperado uma vez que as mamas estudadas possuem drenagem, exclusiva ou não, para o LA ipsilateral (Murphy, 2008; Sorenmo *et al.*, 2011).

Com relação às características de malignidade pesquisadas, 16 animais (32%) possuíam nódulos mamários com ulceração, 10 (20%) apresentaram nódulos com necrose e 18 (36%) nódulos aderidos à pele e/ou musculatura.

Quando avaliada a probabilidade de se encontrar metástase em relação a esses fatores, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para as variáveis ulceração e necrose, porém, não foi observada diferença estatística para a variável aderência, conforme Fig. 11, 12 e 13, respectivamente. Esses resultados evidenciam uma maior probabilidade de se encontrar metástase em LA cujas neoplasias mamárias possuem uma dessas duas características.

As ulcerações são originadas em decorrência do processo de carcinogênese que é responsável pela proliferação celular descontrolada, quebra de integridade cutânea e infiltração de células malignas nas estruturas da pele (INCA, 2009; Agra *et al.*, 2013). Esse crescimento desorganizado e anormal, nem sempre com mesmas proporções de angiogênese, resultam em formação, no sítio da ferida, de agregados de massa tumoral necrótica, podendo também ocorrer contaminação por micro-organismos aeróbicos ou anaeróbicos (INCA, 2009). A presença de ulceração e necrose na superfície tumoral são indicadores de um pior prognóstico, estando relacionada com uma maior malignidade tumoral, maior taxa de proliferação celular e menor taxa de sobrevivência (Queiroga e Lopes, 2002). Embora não tenha sido encontrada diferença estatísticas em relação à probabilidade de metástase em LA para aderência, essa variável que resulta da invasão tecidual, é apontada,

também, como importante característica de malignidade tumoral (Lana *et al.*, 2007, Cassali *et al.*, 2011).

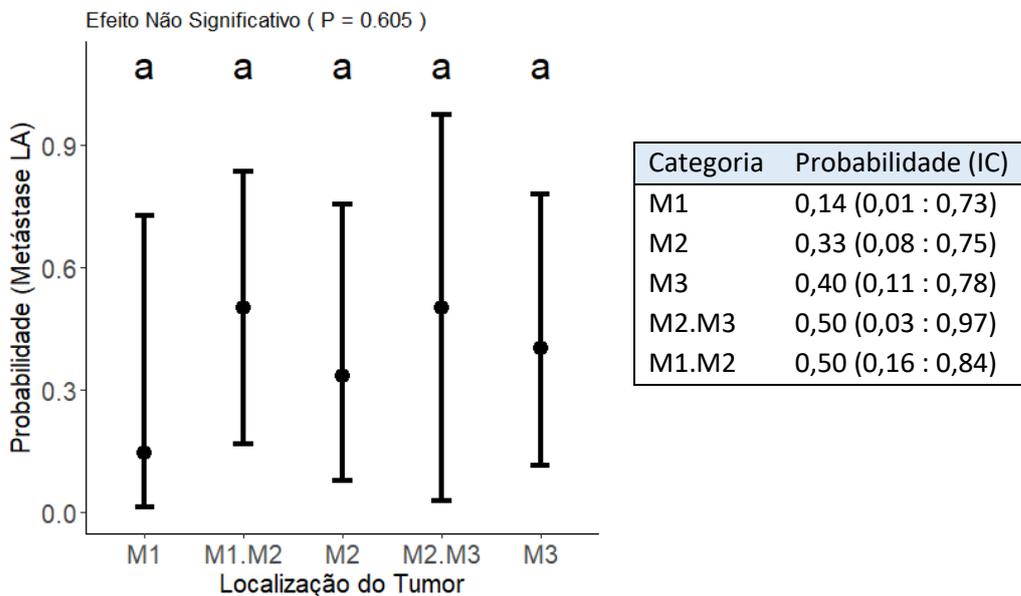


Figura 10. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação à localização do tumor (M1: mama torácica cranial; M2: mama torácica caudal; M3: mama abdominal cranial). IC = intervalo de confiança.

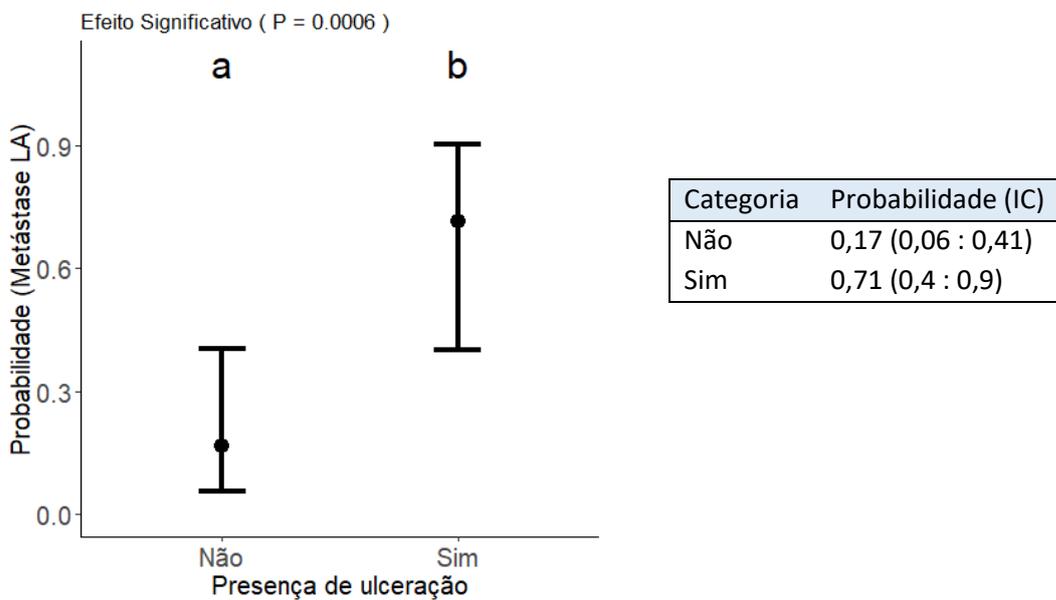


Figura 11. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários ulcerados. IC = intervalo de confiança.

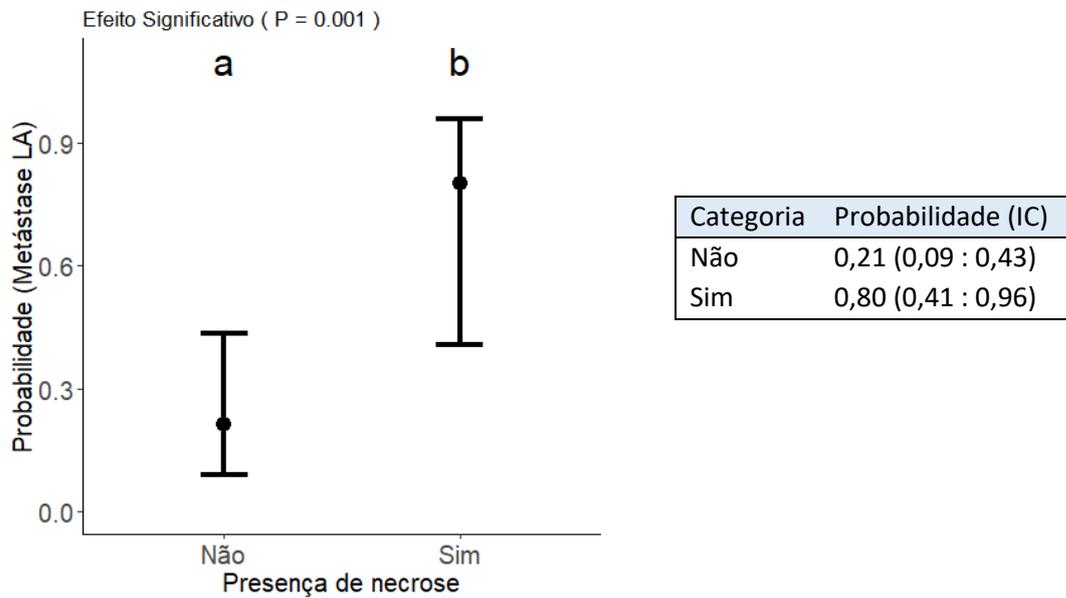


Figura 12. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários com necrose. IC = intervalo de confiança.

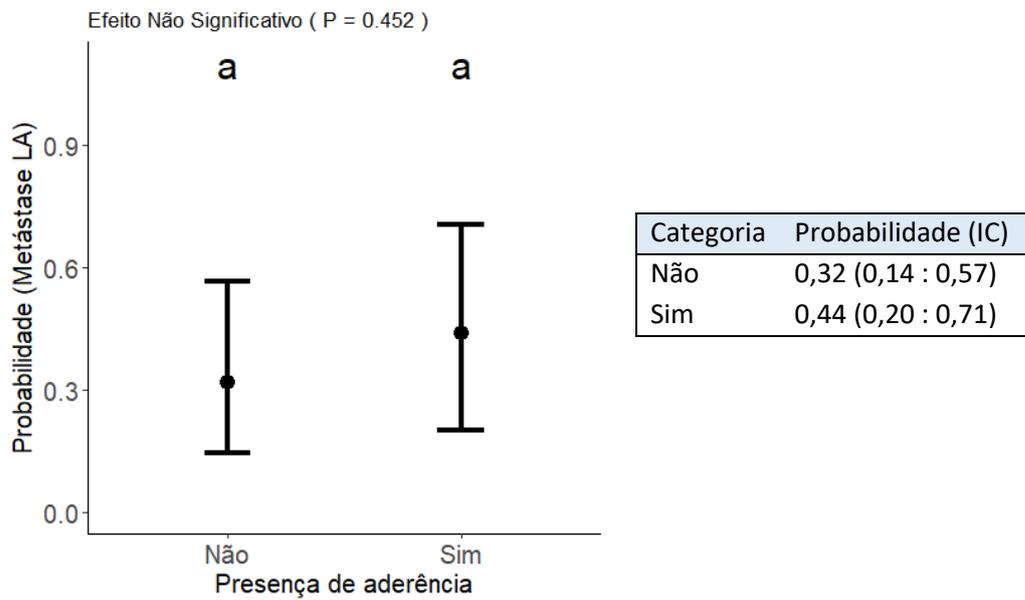


Figura 13. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) de tumores mamários com aderência à musculatura. IC = intervalo de confiança.

Nenhum dos pacientes possuía LA palpável que permitisse realização de citologia por PAF no momento do atendimento ou imagem radiográfica torácica e ultrassonográfica abdominal sugestivas de metástase. Em relação ao tamanho do tumor e estadiamento clínico antes do procedimento cirúrgico, 52% (n = 26/50) dos animais estavam no estágio II e 48% (n = 24/50) no estágio III. Dos animais em estadiamento III, 12,5% (n = 3/24) possuíam lesões maiores que 10 cm.

Após o procedimento cirúrgico e avaliação histopatológica dos linfonodos para pesquisa de metástase, houve adequação do estadiamento dos pacientes uma vez que aqueles identificados com metástase regional (em linfonodo axilar) passaram a ser classificados em estadiamento mais avançado (estádio IV). Dos animais que tiveram LA avaliado, 50% (n = 19/38) estavam no estadiamento II, sendo que, destes, 21% (n = 4/19) foram reclassificados para o estadiamento IV. Dos outros 50% (n = 19/38) que estavam em estadiamento III, 52,6% (n = 10/19) foram reclassificados em estadiamento IV, conforme Tab. 5, que também indica a classificação histológica dos tumores encontrados.

Dentre as neoplasias identificadas, as que tiveram maior ocorrência de metástase foram: carcinoma de células escamosas, carcinoma sólido e carcinoma papilar, respectivamente (Tab. 5). Os carcinomas de células escamosas são compostos por células em um arranjo sólido sob a forma de folhas ou cordões com áreas de diferenciação escamosa. Células basalóides são predominantes na periferia do tumor e a parte central, nos tumores mais diferenciados, consiste em camadas de queratina, formando as chamadas pérolas córneas (Cassali *et al.*, 2011). São tumores pouco frequentes na mama canina, no entanto, muitos deles são altamente infiltrativos e a invasão linfática é comum (Cassali *et al.*, 2011; Gamba *et al.*, 2017). Apenas um animal apresentou esse tipo histológico e havia metástase em LA.

Os carcinomas sólidos são neoplasias comuns nas cadelas e frequentemente observados em pacientes com tumores que se desenvolvem ao longo de grandes períodos de tempo sem intervenção cirúrgica. Microscopicamente, observa-se proliferação de células epiteliais em arranjo sólido, com formação semelhante a cordões ou folhas e as células tumorais geralmente são indiferenciadas e revelam núcleos hiper cromáticos (Cassali *et al.*, 2011; Gamba *et al.*, 2017). Possuem comportamento biológico agressivo e estão associadas à estádios mais avançados em relação ao desenvolvimento tumoral. Índice elevado de metástase em linfonodos e pulmões tem sido descrito, assim como em outros sítios como fígado e ossos (Gamba *et al.*, 2017). Embora não tenha sido observada metástase em outros órgãos, 77,8% (n = 7/9) dos animais com carcinoma sólido apresentaram metástase em LA.

Os carcinomas papilares são tumores caracterizados histologicamente por padrão de proliferação epitelial arborescente papilar e formação de projeções intraluminais com estroma fibrovascular central (Cassali *et al.*, 2011; Gamba *et al.*, 2017). Frequentemente possuem extensões infiltrativas na pele e nos tecidos adjacentes, além de possíveis invasões linfáticas. Ambos os animais com esse tipo histológico possuíam carcinoma papilar invasivo no qual ocorre ruptura da membrana basal do ducto galactóforo dilatado, que caracteriza áreas de invasão estromal (Gamba *et al.*, 2017). Embora a taxa de metástase tenha sido alta 50%, com um baixo número amostral, o carcinoma papilar invasivo é uma neoplasia de melhor comportamento biológico e consequentemente, melhor prognóstico, quando comparada a outras como o carcinoma sólido, por exemplo.

Tabela 5. Tipos histológicos dos animais cujo LA foi avaliado de acordo com o estadiamento clínico e presença (+) ou ausência (-) de metástase em linfonodo.

Cães	Tipo histológico	Metástase	Estadiamento clínico	Estadiamento histopatológico	% de metástase em linfonodo axilar	
1		+	II	IV		
2		+	II	IV		
3		+	III	IV		
4		+	III	IV		
5	Carcinoma sólido	+	III	IV	77,8%	
6		+	III	IV		
7		+	III	IV		
8		-	III	III		
9		-	II	II		
10	Carcinossarcoma	-	II	II		0%
11		-	III	III		
12		+	III	IV		
13		-	II	II		
14		-	II	II		
15		+	III	IV		
16		-	III	III		
17		-	III	III		
18		-	III	III		
19	Carcinoma em tumor misto	-	II	II	29,4%	
20		-	II	II		
21		+	II	IV		
22		-	II	II		
23		+	II	IV		
24		+	III	IV		
25		-	II	II		
26		-	II	II		
27		-	II	II		
28		-	II	II		
29	Carcinoma papilar (invasor)	-	II	II	50%	
30		+	III	IV		
31	Adenomioepitelioma maligno	-	III	III	0%	
32		-	II	II		
33		-	III	III		
34	Carcinoma de células escamosas	+	III	IV	100%	
35	Sarcoma	-	III	III	0%	
36		-	III	III		

Os carcinomas em tumores mistos são constituídos por uma porção de componente epitelial maligno e um componente mesenquimal benigno que pode ser representado por cartilagem e/ou osso e/ou tecido adiposo (Cassali *et al.*, 2011; Gamba *et al.*, 2017). Em conformidade com dados da literatura, que apontam os carcinomas em tumores mistos como os tumores malignos mais

frequentes na glândula mamária de cadelas (Cassali *et al.*, 2011), eles foram os tipos histológicos de maior ocorrência nesse estudo (17 animais). No entanto, o percentual de metástase em LA foi o mais baixo (29,4%; $n = 5/17$) dentre os tipos histológicos que promoveram metástase. Além disso, a maioria dos animais que tiveram metástase com carcinoma em tumor misto estava em estadiamento clínico mais avançado (III), onde o tamanho tumoral é maior, no momento do diagnóstico. Isso demonstra que este tipo histológico possui um comportamento biológico menos agressivo quando comparado a outros tumores malignos.

O teste geral de análise de variância identificou que ao menos uma dupla de tipos histológicos de tumor diferiu entre si em relação à probabilidade de se encontrar metástase. No entanto, não houve permanência dessa diferença no teste par-a-par, impossibilitando a identificação da dupla que diferiu no teste geral. Essa falta de diferença estatística no teste par-a-par possivelmente foi devido ao grande número de variáveis (tipos histológicos) e pequeno número amostral (Fig. 14).

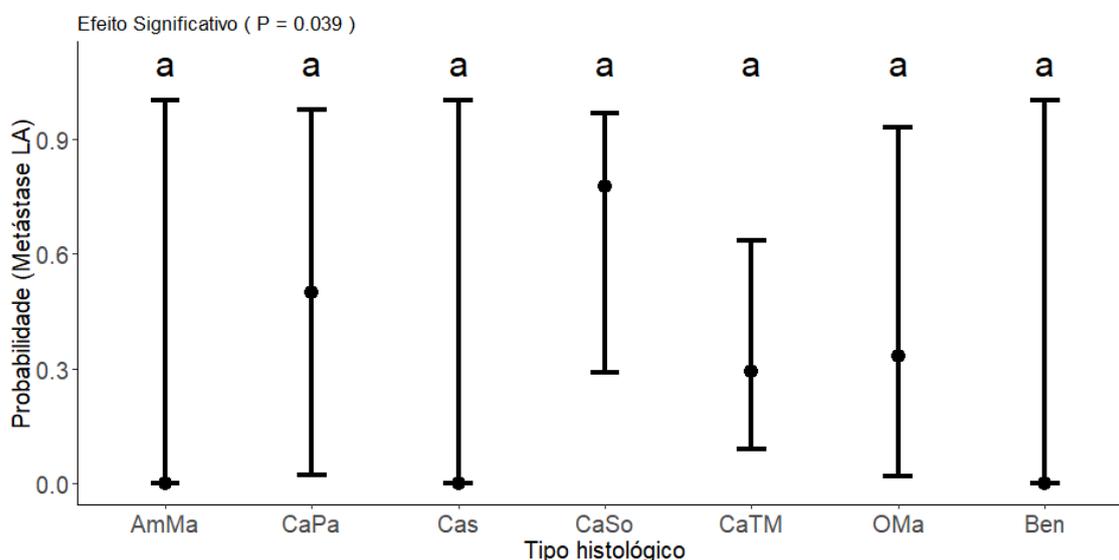


Figura 14. Probabilidade de encontrar metástase em linfonodo axilar (LA) em relação aos diferentes tipos histológicos de tumores mamários. (AmMa: Adenoepitelioma maligno; CaPa: Carcinoma Papilar; Cas: Carcinosarcoma; CaSo: Carcinoma sólido; CaTM: Carcinoma em tumor misto; OMa: Outros tumores malignos; Ben: Tumores benignos).

Embora o tipo histológico seja uma informação que só será fornecida após o procedimento cirúrgico, o conhecimento da sua relação com a probabilidade de causar metástase regional pode auxiliar em indicação cirúrgica posterior ou complementação terapêutica quimioterápica. Como exemplo temos a indicação de um segundo procedimento cirúrgico para exérese do LA ou mesmo durante uma mastectomia da cadeia contralateral, caso o paciente tenha indicação.

As complicações oriundas do uso do azul patente são raras em mulheres e cães, sendo relatadas reações locais e de hipersensibilidade em menos de 1,5% das mulheres submetidas à técnica (Urban *et al.*, 2001). Nesse estudo não foram observadas reações sistêmicas ou locais relacionadas ao uso do corante. Única alteração observada foi a mudança na coloração da urina, que se tornou

azulada ou esverdeada. Esse fato foi observado em 100% dos pacientes e teve duração por um período de 24 a 48 horas no pós-operatório.

Em relação a complicações pós-operatórias, foram avaliados os animais cujo LA foi excisado, a fim de observar as alterações que poderiam decorrer dessa excisão, independentemente do tipo de mastectomia realizado. O edema de membro anterior ipsilateral ao linfonodo axilar excisado foi constatado em 2,6% dos animais (1/38), 7,9% (3/38) dos animais tiveram seroma discreto e 21% (8/38) tiveram necrose na borda da sutura. 10,5% (4/38) dos animais tiveram deiscência da ferida cirúrgica e 78% (30/38) dos animais tiveram hematoma no local da cirurgia. Nenhum animal apresentou enfisema subcutâneo ou infecção sistêmica ou em foco cirúrgico. Ao exame clínico, nenhum animal apresentou insensibilidade, alteração de movimento ou apoio do membro.

A gravidade das complicações pós-operatórias encontradas nas cadelas foi inferior àquelas descritas por Urban *et al.* (2001) e Quadros e Gebrim (2007) em mulheres após mastectomia e linfadenectomia axilar, o que é esperado devido ao maior número de linfonodos axilares presentes na mulher. Além disso, mulheres possuem maior mobilidade dos membros torácicos quando comparado aos cães e essa movimentação pode ser a causa da maior ocorrência de espaço morto e, conseqüentemente, maior formação de edema, seroma e dor nessa espécie (Tuohy *et al.*, 2009, Bianchi, 2015). Embora os cães tenham menos complicações que mulheres após a mastectomia e linfadenectomia, sabe-se que procedimentos mais invasivos resultam em maior tempo de duração da cirurgia, maior estímulo nociceptivo e maior incidência de complicações pós-operatórias (Horta *et al.*, 2015). A administração do azul patente facilitou a identificação do LA, que, por sua vez, permitiu um correto estadiamento dos pacientes. No entanto, mesmo trabalhando com uma população específica, de estadiamento clínico acima de II, com características clínicas de malignidade já estabelecidas e lesões em mamas de drenagem linfática torácica, a taxa de detecção de metástase em LA foi de 36,84%. Esse dado nos leva ao questionamento da indicação de exérese do LA axilar para todos os pacientes submetidos à mastectomia.

É importante ressaltar que os linfonodos têm função primordial no sistema imunológico dos animais, mediante a filtração da linfa, manutenção e produção de linfócitos B e armazenamento de linfócitos T (Kierszenbaum, 2004). Sendo assim, a conduta cirúrgica a ser adotada deve levar em consideração a drenagem linfática, o estadiamento clínico do paciente/tamanho tumoral e fatores clínicos prognósticos de malignidade como ulceração e necrose, evitando assim, cirurgias radicais e exérese de LA desnecessariamente. Cada paciente deve ser avaliado individualmente, levando em consideração o prognóstico e sua qualidade de vida.

6. CONCLUSÕES

- O uso do corante azul patente 2,5% foi utilizado com segurança em cadelas com tumores mamários e contribuiu para a identificação do LA em 76% dos pacientes no qual o corante foi administrado.
- A avaliação do LA foi importante para o correto estadiamento clínico dos cães com tumores mamários, no entanto, mesmo selecionando pacientes com características macroscópicas de malignidade (tamanho do tumor e presença de ulceração, necrose e/ou aderência), 36,8% dos linfonodos possuíam metástase.
- Os animais com tumores ulcerados e/ou com necrose tiveram maior ocorrência de metástase em LA.
- Os animais em estadiamento clínico III tiveram maior ocorrência de metástase em LA quando comparados aos animais de estadiamento II.
- Não houve diferença estatística significativa na probabilidade de se encontrar metástase no LA em relação à localização do tumor, presença de aderência à pele e/ou musculatura e tipo histológico.
- Recomenda-se que cães com tumores mamários em localização de drenagem linfática axilar sejam submetidos à exérese do LA para correto estadiamento da doença quando possuírem estadiamento III ou estadiamento II com tumores ulcerados e/ou com necrose.

7. REFERÊNCIAS

- AGRA, G.; FERNANDES, M. A.; PLATEL, I. C.; FREIRE, M. E. M. Cuidados paliativos ao paciente portador de ferida neoplásica: uma revisão integrativa da literatura. *Rev. Bras. Cancerol.*, v. 59, n. 1, p. 95-104, 2013.
- ARAUJO, M. R.; CAMPOS, C. L.; DAMASCENO, K. A.; GAMBA, C. O. *et al.* HER 2, EGFR, Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of canine mammary carcinomas: Association with clinical-pathological parameters and overall survival. *Res. Vet. Sci.* V. 106, p. 121-130, 2016.
- BAUM, H. Das lymphgefäßsystem des Hundes. *Archiv. Für Wissenschaftliche und Praktische Tierheilkunde*, v. 44, n. 1, p. 521-650, 1918.
- BELLA, H. J. R. Tratamento cirúrgico dos distúrbios cutâneos específicos. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*. 2 ed. São Paulo: Manole, v. 1, 1998, p. 427-429.
- BESERRA, H. E. O., GRANDI, F., IBÁÑEZ, J. F.; ROCHA, N. S. *et al.* Sentinel lymph node identification: the importance of new methodologies and preclinical studies in dogs. *Braz. J. Vet. Pathol.* v. 6, n. 1, p. 5, 2013.
- BESERRA, H. E. O.; GRANDI, F.; DUFLOTH, R. M.; PINHEIROS, L. G. P. *et al.* Metastasis of mammary carcinoma in bitches: Evaluation of the sentinel lymph node technique. *Adv. Breast Cancer res.*, v. 5, p. 58-65. 2016.
- BIANCHI, S. P. *Linfonodo axilar como sentinela nas neoplasias mamárias de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total*. 2015. 49f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- CAMPOS, C. B.; LAVALLE, G. E. Exame clínico. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 13, p. 151-155.
- CASSALI, G. D.; GOBI, H.; MALM, C.; SCHMITT, F.C. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumors. *Cytopathology*, v. 18, p. 191-196, 2007.
- CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; DE NARDI, A. B.; FERRERIA, E. *et al.* Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. *Braz. J. Vet. Pathol.*, v. 4, n. 2, p. 153-180, 2011.
- CASSALI, G.D.; LAVALLE, G.E.; FERREIRA E.; LIMA, A. E. *et al.*, Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. *Braz. J. Vet. Pathol*, v. 7, n. 2, p 38-69, 2014.
- CAVALCANTI, M. F. *Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológica dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de Nottingham*. 2006. 106f. Dissertação (Mestrado em Patologia). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

CRANFORD, T. L.; ENOS, R. T.; VELÁZQUEZ, K. T. *et al.* Role of MCP-1 on inflammatory processes and metabolic dysfunction following high-fat feedings in the FVB/N strain. *Int. J. Obes.*, v. 40, n. 5., p. 844–851, 2015.

DALECK, C. R.; NARDI, A. B.; RODASKI, S. *Oncologia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, 2008. 612p.

DAMASCENO, A. K.; BERTAGNOLLI, A. C.; NAKAGAKI, K. Y. R.; CASSALI, G. D. Neoplasias benignas. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 7, p. 83-90.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUSA, R. S.; COSTA, T. A. *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, n. 2, p. 15-26, 2002.

EHRKE, M. J. Immunomodulation in Cancer Therapeutics. *Int. Immunopharmacol*, v. 3, p. 1105-1119, 2003.

FERREIRA, E.; BREGUNCI, G.C.; SCHMITT, F.C.; CASSALI, G.D. Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 55, p. 105-109, 2003.

FERREIRA, E.; CAMPO, M. R. A.; NAKAGAKI, K. Y.; *et al.* Marcadores prognósticos e preditivos no câncer de mama. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 12, p. 149.

FERREIRA, E.; CASSALI, G. D. Lesões benignas não neoplásicas. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 6, p. 73-81.

FILHO, J. O., KOMMERS, G. D., MASUDA, E. D., MARQUES, B. M. F. P.P. *et al.*, Estudo retrospectivo de 1647 tumores mamários em cães. *Braz. J. Vet. Res.*, v. 30, n. 2, p. 177-185, 2010.

GAMBA, C. O.; FERREIRA, E.; SALGADO, B. S.; DAMASCENO, K. A. *et al.*, Neoplasias malignas. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 8, p. 91-116.

GERMAN, A. J.; RYAN, V. H.; GERMAN, A. C. *et al.* Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. *Vet. J.*, v. 185, p. 4-9, 2010.

GORBELLO, C.; CORRATA, Y. Canine mammary tumors: na endocrine clinical approach. *Compendium*, v. 23, n. 8, p. 705-710, 2001.

GRANDI, F. Citopatologia Mamária: técnicas de amostragem, interpretação e classificação citopatológica. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 4, p. 33-59.

HANAHAN, D.; BERGERS, G.; BERGSLAND, E.; Less is more, regularly: Metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice. *J. Clin. Invest.* v. 105, p. 1045–1047, 2000.

HAYES A. Cancer, cyclo-oxygenase and nonsteroidal anti-inflammatory drugs – can we combine all three? *Vet. Comp. Oncol.* v. 5, n. 1, p. 1-13, 2007.

HEDLUND, C. S. Cirurgia do sistema reprodutivo e genital. In: FOSSUM, T. W. *Cirurgia de Pequenos Animais*. 3. Ed. São Paulo: Elsevier Inc., 2008, cap. 26, p. 702-774.

HELLER, D. A.; CLIFFORD, C. A., GOLDSCHMIDT, M. H.; HOLT, D. E. *et al.* Cyclooxygenase-2 expression is associated with histologic tumor type in canine mammary carcinoma. *Vet. Pathol.* v. 42, n. 6, p. 776–780, 2005.

HORTA, R. S.; FIGUEIREDO, M. S.; LAVALLE, G. E.; COSTA, M. P. *et al.* Surgical stress and postoperative complications related to regional and radical mastectomy in dogs. *Acta Vet. Scand.*, v. 57, p. 1-10. 2015.

HORTA, R. S.; LAVALLE, G. E.; CUNHA, R. M. C.; MOURA, L. L. *et al.* Influence of surgical technique on overall survival, disease free interval and new lesion development interval in dogs with mammary tumors. *Adv. Breast Cancer Res.*, v. 3, p. 38-46, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. *Estimativa 2018: Incidência do câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. *Tratamento e controle de feridas tumorais e úlceras por pressão no câncer avançado: Cuidados paliativos*. Ministério da saúde. Esdeva. Rio de Janeiro. 2009.

KIERSZENBAUM, A. L. *Histologia e Biologia Celular: uma introdução à patologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 654p.

KRAG, D. N.; WEAVER, D. L.; ALEX, J. C.; FAIRBANK, J. T. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol.*, p. 355-359, 1993.

LANA, S. E., RUTTERMAN, G. R., WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In WITHROW, S. J., MACEWEN, E. G. *Small Animal Clinical Oncology*. 4 ed. Missouri: Elsevier inc, 2007. 864p.

LAS MULAS, J. M.; MILLAN, Y.; DIOS, R. A prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor _ and progesterone receptor expression. and host and tumor factors as predictors of disease free period in mammary tumors of the dog. *Vet. Pathol*, v. 42, p. 200-212, 2005.

LAVALLE, G. E.; CAMPOS, C. B.; HORTA, R. S. Cirurgia das neoplasias da glândula mamária. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 14, p. 161-175.

LAVALLE, G.E.; CAMPOS, C. B.; BERTAGNOLLI, A. C. Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. *In Vivo*. v. 26, n. 3, p. 375-379, 2012.

MAUÉS, T. *Avaliação histopatológica dos linfonodos axilares e inguinais superficiais em cadelas (Canis familiaris) submetidas à mastectomia radical terapêutica*. 2013. 154f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Reprodução Animal). Universidade Federal Fluminense. Niterói.

MAUÉS, T.; ISRAEL, C. B.; FERREIRA, M. L. G.; FERREIRA, A. M. R.. Uso do corante azul de metileno 2% na localização do linfonodo axilar em cadelas (*Canis familiaris* – Linnaeus, 1758). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 53, n. 1, p. 32 – 38, 2016.

MERLO, D. F.; ROSSI, L.; PELLEGRINO, C.; CEPPI, M. *et al*: Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy, *J. Vet. Intern. Med.* v. 22, p. 976–984, 2008.

MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. MEUTEN, D. J. *Tumors in domestic animals*. 1 ed. State: University of Califórnia, 2002, p. 575-606.

MISDORP, W.; ELSE, R.W.; HELLMÉN, E. *et al*. Definitions and explanatory notes. WHO histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1999, 18-27.

MULDOON, T.G. Interplay between estradiol and prolactin in the regulation of steroid hormone receptor levels, nature, and functionality in normal mouse mammary tissue. *Endocrinol*, v.109, n.5, p.1339-1346, 1981

MURPHY, S. Mammary tumors in dogs and cats. *In practice*, v. 30, p. 334-339, 2008.

NOGUEIRA, J. C.; CASTRO, A. C. S. Morfologia das glândulas mamárias (Mammae) de cadelas. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 1, p. 1-13.

NORMAN, A, W,; LITWACK, G. *Hormones*. 2. Ed. San Diego, California: Academic Press, Elsevier, 1997, 553p.

NUNES, F. C. *Diagnóstico, prognóstico e tratamento de glândulas mamárias de cadelas atendidas no Hospital Veterinário da UFMG: Estudo retrospectivo*. 2015. 77f. Dissertação (Mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

NUNES, F. C.; CAMPOS, C. B.; BERTAGNOLLI, A. C. Aspectos epidemiológicos das neoplasias mamárias caninas. In: CASSALI, G. D. *Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento*. 1 Ed. São Paulo: Medvet, 2017, cap. 3, p. 27-31.

NUNES, F.C.; GAMBA, C.O.; DAMASCENO, K.A.; CAMPOS, C. B. Analysis 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.*, v. 7, cap. 2, p. 106-143, 2014.

OWEN, L. M. TNM Classification of tumors in domestic animals. *World Health Organization*, Geneva, p. 26-32, 1980.

PAZ, W. A.; PAIM, S. P.; MELLO, G. L.; RANGEL, K. K. *et al.* Biópsia de linfonodo sentinela – Experiência clínica. *Rev. Bras. Cancerol.*, v. 47, n. 3, p. 303 – 308, 2001.

PEREIRA, C. T. *Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática de glândulas mamárias de cadelas*. 2005. 181f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária de Zootecnia. São Paulo.

PEREIRA, C. T.; RAHAL, S. C.; BALIEIRO, J. C. C.; RIBEIRO, A. A. C. Lymphatic drainage on dealthy and neoplastic mammary glands in female dogs: Can it really be altered? *Anat. Histol. Embriol.*, v. 32, n. 5, p. 282-290, 2003.

PINHEIRO, L. G. P.; MORAES, M. O.; SOARES, A. H.; LOPES, A. J. T. *et al.* Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e tecnécio Tc99. *Acta Cir. Bras.*, v. 18, n. 6, p. 514-517, 2003.

QUADROS, L. G. A., GEBRIM, L. H. A pesquisa do linfonodo sentinela para o câncer de mama na prática clínica do ginecologista brasileiro. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 29, n. 3, p. 158-164, 2007.

QUEIROGA, F, LOPES, C. Canine mammary tumors: new perspectives. *Proceedings of the Veterinary Sciences Congress*, p. 183-190, 2002.

QUEIROGA, F. L., RAPOSO, T., CARVALHO, M. I.; PRADA, J. *et al.* Canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: most recente finding. *In vivo*, v. 25, p. 455-466, 2011.

RENEHAN, A.G.; FRYSTYK, J.; FLYVBJERG, A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis. *Trends in Endocrinol Metab*, v. 17, n. 8, p.328-336, 2006.

RESSEL, L.; FINETELLO, R.; INNOCENTI, V.W. *et al.* A. Preliminary report on the expression of leptin and leptin receptor (ObR) in normal, hiperplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Res Vet Sci*. v. 93, n.1, p. 343-349, 2012.

RIVERA, P., VON EULER, H. Molecular biological aspects on canine and human mammary tumors. *Vet. Pathol.*, v. 48, n. 132, p. 132-146, 2011.

SCHNEIDER, R., DORN, C. R., TAYLOR, D. O. N. Factors influencing canine mammary tumor development and postsurgical survival. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 43, p. 1249-1251, 1969.

SLEECKX, N., ROOSTER, H.; KROEZE, E. J. B. V.; GINNEKEN, C. V. *et al.* Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reprod. Dom. Anim.*, v. 46, p. 1112–1131, 2011.

SORENMO, K. U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V.; GOLDSCHMIDT, M. H. Markes of canine mammary gland neoplasms development: anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features and cell differentiation. *Vet. Pathol.*, v. 48, n. 1, p. 85-97, 2011.

SORENMO, K. U. Canine mammary gland tumors. *Vet. Clin. North Am Anim Pract.* v. 33, p 573-596, 2003.

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

TAVARES W. L.; LAVALLE, G. E.; FIGUEIREDO., M. S.; SOUZA, A. G. et al. Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs. *Acta Vet. Scand.* v. 2, n. 1, p. 52-67, 2010.

THALER, S.; HOFMANN, J.; BARTZ-SCHMIDT, K. U.; SCHUETTAUF, F. *et al.* Methyl blue and aniline blue versus patent blue and trypan blue as vital dyes in cataract surgery: capsule staining properties and cytotoxicity to human cultured corneal endothelial cells. *J. Cataract. Refrat. Surg.*, v. 37, p. 1147-1153, 2011.

TUOHY, J. L.; MILGRAM, J.; WORLEY, D. R.; DERNELL, W. S. A review of sentinela lymph node evaluation and the need for its Corporation into veterinary oncology. *Vet. Comp. Oncol.*, v. 1, n. 7, p. 81-91, 2009.

URBAN, C. A.; LIMA, R. S.; JUNIOR, E. S.; NETO, C. A. H. *et al.* Linfonodo sentinela: um novo conceito no tratamento cirúrgico do câncer de mama. *Rev. Col. Bras. Cir.*, v. 281, n. 3, p. 216-222, 2001.

VAIL, D.M. Introduction to practical oncology & horyzon therapies. In. *Livro de comunicações das XII Jornadas Internacionais de Medicina Veterinária da UTAD*. Vila Real, Portugal, 14-16 Nov., p. 39-43, 2008.

VALADARES, F. D. *Pesquisa do linfonodo sentinela em cadelas portadoras de tumor de mama*. 2015. 43f. Dissertação (Magister Scientiae). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WITHROW, S. J. Surgical oncology. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. *Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology*. 4. ed, St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier, 2007, p. 157-162.

WITHROW, S. J. The evolution of veterinary surgical oncology. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. v. 13, n. 1, p. 1-3, 1998.

ZATILOUKAL, J.; LORENZOVA, J.; TICHY, F.; NECAS, H. *et al.* Breed and age as risk factors for canine mammary tumours. *Acta Vet. Brno*, v. 74, n. 1, p. 103-109, 2005.

8. ANEXOS

8.1. Termo de consentimento livre e esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Título do projeto: Avaliação histopatológica dos linfonodos sentinela axilares identificados com o corante azul patente para o estadiamento clínico de cadelas com tumores mamários

Pesquisador: Aline Gomes de Castro

Pesquisadores responsáveis: Christina Malm e Gleidice Eunice Lavalle

Eu, _____, tutor (a) da cadela _____, ficha clínica _____, tenho o consentimento de que meu animal será submetido à cirurgia e anestesia para remoção de tumor(es) mamário(s) e linfonodo(s) estando sujeito aos riscos decorrentes de tais procedimentos, que já me foram esclarecidos. O animal receberá a administração de um corante com efeito temporário no momento da cirurgia para facilitar a remoção do linfonodo. Esse corante não apresenta efeitos colaterais descritos na literatura, porém, o animal poderá apresentar urina de coloração esverdeada devido à sua eliminação em um período de 24 a 48 horas. O animal será incluído em um Projeto de Pesquisa, no qual serão feitas coletas de dados referente aos exames e procedimento cirúrgico realizados. O objetivo da pesquisa é verificar a presença de metástase em linfonodos de animais com tumores de mama. Estou ciente de que não será feito nenhum procedimento diferente do realizado rotineiramente no Hospital Veterinário da UFMG.

A participação no projeto de pesquisa não me isenta das responsabilidades financeiras junto ao Hospital e não é obrigatória, a qualquer momento posso desistir e retirar meu consentimento, sem nenhum prejuízo em relação ao animal, ao pesquisador ou à instituição. O projeto de pesquisa terá duração até o final do ano de 2017 e a qualquer momento posso entrar em contato para esclarecer eventuais dúvidas sobre o projeto e/ou participação. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais, sendo assegurado o sigilo do paciente e tutor.

Declaro que compreendi os objetivos, benefícios e riscos e aprovo a participação do meu animal no projeto. Ao assinar esse termo também autorizo o registro fotográfico do animal.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Assinatura do tutor ou responsável

8.2. Ficha de mama utilizada no HV-UFMG

Lesões Tumorais da Glândula Mamária na Cadela
Laboratório de Patologia Comparada - ICB e Hospital Veterinário - EV
UFMG

Requisição de Exame Anatomopatológico de Mama

Nome: _____ Idade: _____ Raça: _____
 Proprietário: _____ FC: _____
 End: _____ Tel: _____
 Remetente: _____ Data: _____

Ciclo Estral: (1) Regular (2) Irregular (3) Nunca apresentou

Número de partos: (1) Nenhum (2) Um (3) Dois (4) Três (5) Outros

Pseudogestação: (1) Sim (2) Não Aborto: (1) Sim (2) Não

Castração: (1) Sim (Data: ___/___/___) (2) Não

Alteração uterina: (Secreção) (1) Sim (Data: ___/___/___) (2) Não

Já teve cruzamento e não emprenhou? (1) Sim (2) Não

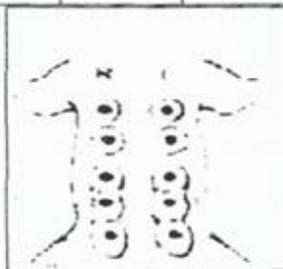
Uso de hormônio: (1) Anticoncepcional (2) Abortivo (Qual? _____) (3) Não

Desenvolvimento da lesão: Quando: (Data: ___/___/___)

Lesões tumorais anteriores: (1) Sim (Data: ___/___/___) (2) Não

Cirurgia: (1) Sim (2) Não

Mama	Consistência	Tumor	Secreção	Ulceração	Linfonodos Envolvidos	Linfonodos Regionais	Tipo Mat. Punção
	Dura 1 Mole 2 Elástica 3	Não Fixo 1 Fixo Pele 2 Fixo Mucosa 3	Sim 1 Não 2	Sim 1 Não 2	Axilar 1 Inguinal 2 SAA 3	Móvel 1 Fixo 2	Lesão Sólida 1 Cística 2



Belo Horizonte: ___/___/___

Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

Sala 166 – Bloco C – 3º Andar – Depto. Patologia Geral – ICB/UFMG Fone (31) 34092883