

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

DENISE RAMOS PACHECO

**AVALIAÇÃO DE METÁSTASES DE CARCINOMA MAMÁRIO EM CADELAS:
LOCALIZAÇÃO, TAMANHO, TIPO HISTOLÓGICO E CORRELAÇÃO COM
SOBREVIDA**

UBERLÂNDIA

2022

DENISE RAMOS PACHECO

**AVALIAÇÃO DE METÁSTASES DE CARCINOMA MAMÁRIO EM CADELAS:
LOCALIZAÇÃO, TAMANHO, TIPO HISTOLÓGICO E CORRELAÇÃO COM
SOBREVIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Curso de Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do grau de Médica Veterinária.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Alessandra
Aparecida Medeiros-Ronchi

UBERLÂNDIA

2022

DENISE RAMOS PACHECO

**AVALIAÇÃO DE METÁSTASES DE CARCINOMA MAMÁRIO EM CADELAS:
LOCALIZAÇÃO, TAMANHO, TIPO HISTOLÓGICO E CORRELAÇÃO COM
SOBREVIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária, Curso de Graduação em Medicina
Veterinária, da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à obtenção
do grau de Médica Veterinária.

Uberlândia, 1 de abril de 2022.

Prof^ª. Dr^ª. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi UFU/MG

Me. Alessandra Castro Rodrigues UFU/MG

Prof^ª. Dr^ª. Vanessa Martins Fayad Milken UFU/MG

RESUMO

Tumores mamários são os mais frequentes em cadelas não castradas. A maioria dos casos confirmados são neoplasias malignas, as quais podem apresentar características metastáticas. Sabendo que a presença de metástases é um importante fator prognóstico em cadelas portadoras de neoplasias mamárias, o presente estudo teve como objetivos determinar o estadiamento clínico de cadelas com tumores mamários malignos, atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, e verificar a influência dos fatores: presença de metástases (regionais ou à distância); tamanho de metástases à distância (pulmonares e/ou abdominais) e tipo histológico no tempo de sobrevida destes animais. Foram selecionadas 118 cadelas que receberam atendimento médico veterinário no HV-UFU entre janeiro de 2019 e dezembro de 2020. As cadelas foram estadiadas e o método de Kaplan-Meier foi utilizado no cálculo da curva de sobrevida global (SG), seguido pelo teste de Log Rank para comparação das curvas de sobrevida. A sobrevida global (SG) média das cadelas portadoras de carcinoma mamário foi de $706,964 \pm 39,994$ dias. O tipo histológico carcinoma túbulo-papilar foi o mais frequentemente observado (29,66%). De acordo com o sistema de classificação TNM, 46,61% (55/118) cadelas obtiveram estadio I, 10,17% (12/118) II, 13,56% (16/118) III, 6,78% (8/118) IV e 22,88% (27/118) V. Cadelas no estadio I atingiram maior média de sobrevida ($p=0,000$). A média de sobrevida das cadelas portadoras dos diferentes tipos histológicos de carcinomas mamários foi de $798,301 \pm 40,026$ dias. O tempo médio de sobrevida dos animais que possuíam metástases regionais ou à distância foi menor em comparação aos que não possuíam metástases ($p=0,010$). Cadelas com metástases pulmonares apresentaram menor sobrevida em comparação com cadelas com metástases em outros órgãos ($p<0,001$). O tamanho dos nódulos metastáticos não influenciou a média de SG das cadelas com tumores mamários. Conclui-se que a presença de metástases regionais ou à distância em cadelas portadoras de neoplasias mamárias determina pior prognóstico e possui influência negativa no tempo de sobrevida desses animais.

Palavras-chave: Metástase. Sobrevida. Tumores mamários.

ABSTRACT

Breast tumors are the most frequent in non-castrated bitches. Most of the confirmed cases are malignant neoplasms, which may present metastatic characteristics. Knowing that the presence of metastases is an important prognostic factor in bitches with mammary neoplasms, the present study aimed to determine the clinical staging of bitches with malignant mammary tumors seen at the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia, and to verify the influence of the factors: presence of metastases (regional or distant); size of distant metastases (pulmonary and/or abdominal) and histological type on the survival time of these animals. We selected 118 female dogs that received veterinary medical care at HV-UFU between January 2019 and December 2020. The bitches were staged and the Kaplan-Meier method was used to calculate the overall survival (SG) curve, followed by the Log Rank test for comparison of the survival curves. The mean overall survival (OS) of female dogs with mammary carcinoma was 706.964 ± 39.994 days. The histological type tubulo-papillary carcinoma was the most frequently observed (29.66%). According to the TNM classification system, 46.61% (55/118) bitches were stage I, 10.17% (12/118) II, 13.56% (16/118) III, 6.78% (8/118) IV and 22.88% (27/118) V. Bitches in stage I achieved the highest mean survival ($p=0.000$). The mean survival of bitches with the different histological types of mammary carcinomas was 798.301 ± 40.026 days. The mean survival time of animals with regional or distant metastases was shorter compared to those without metastases ($p=0.010$). Bitches with lung metastases had shorter survival compared to bitches with metastases in other organs ($p<0.001$). The size of metastatic nodules did not influence the mean SG of bitches with mammary tumors. We conclude that the presence of regional or distant metastases in bitches with mammary neoplasms determines a worse prognosis and has a negative influence on the survival time of these animals.

Keywords: Metastasis. Survival. Mammary tumors.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Glândula mamária	10
2.2 Fatores de risco para ocorrência de neoplasias mamárias em cadelas	11
2.2.1 Idade	11
2.2.2 Exposição hormonal	11
2.2.3 Raça	12
2.2.4 Obesidade	12
2.3 Classificação histológica e grau histológico	13
2.4 Estadiamento	14
2.5 Fatores prognósticos e sobrevida	14
2.5.1 Tamanho tumoral	15
2.5.2 Acometimento de linfonodos	15
2.5.3 Tipo e grau histológico	15
2.5.4 Estadiamento tumoral	16
2.5.5 Marcadores imunohistoquímicos	16
2.6 Métodos de diagnóstico de tumores mamários	17
2.7 Métodos de diagnóstico de metástases	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Seleção dos animais do estudo	19
3.2 Classificação histológica	19
3.3 Estadiamento	20
3.4 Agrupamento dos animais	20
3.5 Análise estatística	21
4 RESULTADOS	23

4.1 Dados epidemiológicos	23
4.2 Características do tumor primário	25
4.3 Metástases	25
4.4 Análise de sobrevida global (SG)	26
5 DISCUSSÃO.....	37
6 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Modelos animais têm sido amplamente utilizados em pesquisas sobre biologia e genética do câncer humano, incluindo câncer de mama. Os cães desenvolvem tumores mamários espontaneamente, exibindo várias semelhanças clínicas e moleculares com o câncer de mama humano, assim o tumor mamário canino pode ser um excelente modelo para o estudo desta doença em humanos (ABDELMEGEED; MOHAMMED, 2018).

Os carcinomas mamários caninos (CMCs) são os tumores mais comuns em cadelas adultas, com incidência anual estimada entre 145 e 250 por 100.000 cadelas (BRØNDEN et al., 2010; DOBSON et al., 2002; MERLO et al., 2008; SCHNEIDER, 1970; VASCELLARI et al., 2016). Compreende cerca de 50 a 70% dos tumores que acometem cães e 50% das massas são tumores malignos (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Uma das dificuldades na avaliação do prognóstico desta enfermidade reside no fato que os CMCs apresentam sinais iniciais e comportamentos biológicos muito diferentes, variando de pequenos tumores fracamente invasivos ou não a grandes massas tumorais invasivas com metástases nodais e/ou à distância (GUNDIM et al., 2016).

Para definir a extensão do tumor (local, regional e à distância) em cães é utilizado um sistema de estadiamento estabelecido historicamente com base nos parâmetros clínicos “TNM” (SORENMO; WOERLEY; GOLDSCHMIDT, 2012): tamanho clínico do tumor (T) variando de 3 a 5 centímetros, presença de metástase nodal (N) e à distância (M) diagnosticadas por imagiologia médica, biópsia ou citologia. O estadiamento dos CMCs foi significativamente associado ao prognóstico por análises de sobrevivência (CHANG et al., 2005) e também é utilizado para adaptar o tratamento (SORENMO; WOERLEY; GOLDSCHMIDT, 2012).

O estadio I da doença apresenta prognóstico favorável, maior tempo de sobrevida e menores chances de recidiva, enquanto que o estadio V caracteriza-se por pior prognóstico, altas chances de recidiva e menor tempo de sobrevida (ARAÚJO et al., 2015; FOALE; DEMETRIOU, 2010; GOLDSCHMIDT; PEÑA; ZAPPULLI, 2017).

Segundo Owen (1980) o estadiamento de tumores em animais objetiva auxiliar o médico veterinário a desenvolver planos de tratamento; apontar o prognóstico da doença; avaliar o tratamento a ser utilizado; facilitar o intercâmbio de informações entre os centros de tratamento; contribuir para estudos de neoplasias animais e cooperar com informações comparativas da doença em humanos e animais.

Entre possibilidades terapêuticas, a ressecção cirúrgica é sempre a primeira linha de escolha e permite definir o grau de malignidade e tipo histológico do tumor. A quimioterapia adjuvante é principalmente indicada para CMCs com envolvimento linfonodal positivo (SORENMO; WOERLEY; GOLDSCHMIDT, 2012).

Até o momento, nenhum estudo avaliou a sobrevida em relação ao tamanho das metástases à distância em cadelas com neoplasias mamárias. Segundo Younes et al. (1998), alguns parâmetros podem fornecer, direta ou indiretamente, dados para deduzir a carga tumoral em seres humanos com metástases pulmonares, como o número de nódulos pulmonares pré-operatórios; a lateralidade da lesão (unilateral ou bilateral); o número de nódulos malignos ressecados e o tamanho do maior nódulo ressecado cirurgicamente. Os autores descobriram que o número de nódulos malignos ressecados afetou a sobrevida dos pacientes, com menor tempo de sobrevida associado à maior número de nódulos. Esse resultado ressalta a necessidade de determinar com precisão a natureza da lesão que está sendo avaliada, além da análise da imagem dessa lesão, com a finalidade de tomar decisões definitivas sobre o tratamento.

Considerando a escassez de estudos sobre metástases de CMCs, o fato do cão ser modelo para o estudo desta doença em humanos e a alta frequência de neoplasias mamárias na rotina do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HV-UFU), este estudo teve como objetivos: determinar o estadiamento clínico de cadelas portadoras de carcinoma mamário e verificar a influência de fatores como a presença de metástases (regionais ou à distância), tamanho de metástases à distância (pulmonares e/ou abdominais) e tipo histológico do carcinoma mamário no tempo de sobrevida destes animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Glândula mamária

As glândulas mamárias de fêmeas caninas são classificadas como sudoríparas apócrinas, modificadas do ectoderma, e consistem em uma rede de ductos circundados por estroma fibrovascular rico em adipócitos. A cada gestação, ocorre proliferação do tecido ductal, diferenciado em ácinos produtores de leite, e consequente secreção pelas células acinares. Ao final da lactação, há involução do componente secretor da glândula mamária (SORENMO et al., 2011).

Os hormônios estrogênio e progesterona são mitógenos e atuam no desenvolvimento e expansão da glândula mamária, de forma a induzir a proliferação das células epiteliais. O hormônio do crescimento (GH) estimula a multiplicação do tecido mamário e promove um aumento na concentração do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), que se trata de outro agente proliferativo de células mamárias. O hormônio responsável por diferenciar as células em estruturas alveolares secretoras é a prolactina gestacional (OLIVEIRA, 2015; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2012).

Normalmente, a espécie canina possui cinco pares de glândulas mamárias, dispostas lateralmente à linha média da região torácica ventral à região inguinal. Consistem em dois pares craniais, sendo os torácicos cranial e caudal (M1 e M2), dois pares abdominais, compostos pelas mamas abdominais cranial e caudal (M3 e M4), e um último par de glândulas inguinais (M5). Alguns animais, entretanto, podem apresentar quatro ou seis pares de mama (SILVER, 1966).

A irrigação do tecido mamário é garantida pelos ramos esternais da artéria torácica interna, artéria torácica lateral, artéria epigástrica superficial cranial, artéria epigástrica superficial caudal e artéria pudenda externa (OLIVEIRA, 2015). Em relação à drenagem linfática, a linfa das glândulas mamárias torácicas cranial e caudal (M1 e M2) são drenadas para os linfonodos axilares ipsilaterais e, raramente, para os axilares e esternais ipsilaterais, simultaneamente. A glândula M3 possui linfa drenada para o linfonodo axilar ipsilateral e superficial inguinal simultaneamente, mas às vezes somente aos linfonodos axilares ipsilaterais. Entretanto, raramente é drenada apenas caudalmente na região ipsilateral aos linfonodos inguinais e ilíacos mediais, simultaneamente. A linfa da M4 é drenada somente para o linfonodo superficial inguinal ipsilateral. Raramente é drenada para o axilar ipsilateral

e superficiais inguinais, simultaneamente. A M5, por sua vez, possui linfa drenada para o linfonodo inguinal superficial ipsilateral, mas raramente também é drenada para o linfonodo poplíteo ipsilateral, e para um plexo linfático na face medial da coxa ipsilateral (PATSIKAS et al., 2006).

2.2 Fatores de risco para ocorrência de neoplasias mamárias em cadelas

Os tumores de glândulas mamárias são os mais frequentes em cadelas de meia-idade a idosas, e representam cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias nessa espécie. Seu estudo fornece informações importantes para o entendimento da carcinogênese de outras espécies, inclusive a humana, servindo como modelo comparativo ao estudo de neoplasias mamárias em mulheres (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Entre os fatores de risco associados ao desenvolvimento de tumores mamários em cadelas, destacam-se a idade e a exposição hormonal, além de raça e, em menor grau, obesidade (SORENMO et al., 2011).

2.2.1 Idade

Fêmeas de meia idade a idosas são as mais acometidas, tratando-se de tumores malignos, com maior risco de ocorrência entre 8 e 11 anos de idade (SORENMO et al., 2011). Cães de grande porte, no geral, apresentam menor tempo de vida quando comparados aos de pequeno porte, fato que contribui para o diagnóstico de tumores em idades mais precoces (SORENMO; WORLEY; ZAPPULLI, 2020). Tumores mamários são raros em cães menores de 5 anos de idade, exceto aqueles que forem tratados com hormônios exógenos (SCHNEIDER, 1970; TAYLOR et al., 1976).

2.2.2 Exposição hormonal

A exposição hormonal da glândula mamária é importante para o desenvolvimento de tumores. O estrógeno e a progesterona são necessários para o desenvolvimento e a maturação natural do tecido glandular, e estimulam a mitose a nível de epitélio das células mamárias, induzindo a proliferação e desenvolvimento dos ductos e lóbulos que resultam no crescimento das glândulas mamárias, apresentando uma importante influência na carcinogênese de

tumores (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Acredita-se que a progesterona induz aumento da produção do hormônio de crescimento (GH) e de seus receptores no tecido epitelial mamário, e o GH atua na glândula garantindo efeitos diretos no crescimento tecidual, e indiretos via IGF-I (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina I) (SORENMO; WORLEY; ZAPPULLI, 2020). Há ainda a influência da prolactina, um hormônio sintetizado pelo lobo anterior da hipófise, com efeitos sobre o desenvolvimento da glândula mamária, lactogênese e secreção de leite (GREGERSON, 2006). Acredita-se que esse hormônio, juntamente com os hormônios esteroides, atua como potencial promotor do desenvolvimento de tumores em mamas (QUEIROGA et al., 2005).

De acordo com Schneider, Dorn e Taylor (1969), as chances de desenvolvimento de tumor mamário aumentam durante os primeiros ciclos estrais da fêmea, demonstrado pelo risco de apenas 0,5% de desenvolvimento de neoplasia mamária em cadelas ovariectomizadas antes do primeiro estro, contra 8% para as submetidas à ovariectomia (OSH) entre o primeiro e o segundo estro, e 26% para aquelas após o segundo estro. No entanto, a associação entre a realização da castração precoce e a menor ocorrência de tumores mamários foi considerada pouco relevante (BEAUVAIS; CARDWELL; BRODBELT, 2012). Além disso, a realização da ovariectomia em idades precoces pode predispor à ocorrência de distúrbios articulares e alguns tipos de câncer em raças predispostas (HART et al., 2020).

2.2.3 Raça

Neoplasias mamárias podem ocorrer em fêmeas caninas de qualquer raça, entretanto algumas específicas apresentam maior predisposição, como Poodle, Dachshund, Yorkshire Terrier, Cocker Spaniel, Pastor Alemão, Boxer, Fox Terrier, além dos animais sem raça definida ou SRD (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). As raças Poodle, Cocker Spaniel Inglês, Springer Spaniel Inglês, Dachshund, Doberman e Boxer apresentaram maior risco de desenvolvimento de tumores mamários, quando comparados com outras raças (EGENVALL et al., 2005; MOE, 2001; ZATLOUKAL et al., 2005). De acordo com Itoh et al. (2005), a incidência de malignidade em tumores mamários caninos é menor em cães de raças pequenas.

2.2.4 Obesidade

A obesidade também pode contribuir para o risco de desenvolvimento de tumores mamários, embora em menor grau, sendo associada a uma redução da concentração sérica de hormônio sexual ligado à globulina, acarretando no aumento de níveis séricos de estrógeno livre. Além disso, o tecido adiposo pode servir como fonte de aumento de produção de estrógeno via aromatase, mediada pela conversão de andrógenos (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

A idade média de desenvolvimento de carcinomas mamários é menor em cães com sobrepeso e obesos, quando comparados aos com peso corporal ideal, e a incidência de invasão linfática de células tumorais também foi vista com maior frequência em animais acima do peso (LIM et al., 2015).

2.3 Classificação histológica e grau histológico

A classificação histológica dos tumores mamários tem sofrido atualizações de acordo com a evolução dos estudos imunohistoquímicos e moleculares, sendo que as primeiras classificações adotadas mundialmente foram publicadas em 1974 e 1999 (HAMPE; MISDORP, 1974; MISDORP et al., 1999). Goldschmidt et al. (2011) propuseram uma nova classificação em que o termo “simples” denota a neoplasia composta por um tipo celular semelhante a células epiteliais luminais ou mioepiteliais, enquanto neoplasias “complexas” são compostas por dois tipos celulares, ambas luminais e mioepiteliais.

Tumores benignos apresentam bom prognóstico, sendo os mais comumente vistos os adenomas complexos e simples (GOLDSCHMIDT et al., 2011). Entre as neoplasias malignas, as mais frequentes são os carcinomas mistos, simples e complexos. Os mistos são menos agressivos, possuindo melhor prognóstico, seguidos pelos complexos. Os carcinomas simples são os que possuem pior prognóstico em comparação aos demais, sendo o carcinoma simples sólido o de maior malignidade (GOLDSCHMIDT et al. 2011; TAVASOLY et al., 2013).

A graduação histológica se baseia na avaliação de três características morfológicas, a formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica, e compreende três graus. O grau I se refere a massas bem diferenciadas, o grau II moderadamente diferenciadas e o grau III pouco diferenciadas. Dessa forma, quanto maior o grau histológico, menor o tempo de sobrevida global, e maiores as taxas de recidiva e de metastização (TAVASOLY et al., 2013).

2.4 Estadiamento

O estadiamento de tumores mamários epiteliais tem como objetivo a avaliação do tamanho do tumor primário, o comprometimento de linfonodos regionais e a presença de metástases a distância, o que permite estabelecer o prognóstico da enfermidade e o planejamento do tratamento (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

O sistema original de estadiamento foi proposto por Owen (1980), classificado como sistema TNM, o qual considera T (tamanho do tumor primário), N (condição dos linfonodos regionais), M (presença ou ausência de metástases a distância). Esse sistema original, entretanto, foi modificado e se tornou a versão mais utilizada por oncologistas veterinários (SORENMO; WORLEY; ZAPPULLI, 2020). Segundo Rutteman (2001), considera-se tumor primário (T1) quando o tamanho é menor que 3 cm; T2 quando está entre 3 e 5 cm; T3, quando o tumor é maior que 5 cm; N0, quando há ausência de metástases em linfonodos regionais e N1, quando há metástase; M0, na ausência de metástases à distância e M1, quando há presença de metástases à distância. A partir desta caracterização, é possível atribuir o estádio ao qual a neoplasia pertence (Tabela 1), sendo que os estádios 1, 2 e 3 se referem ao tamanho tumoral, o estádio 4 caracteriza o comprometimento dos linfonodos regionais, enquanto que o estádio 5 se refere às metástases à distância, independentemente do tamanho tumoral e status nodal (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Tabela 1. Estadiamento de tumores mamários.

Estádio	Tumor primário	Linfonodos regionais	Metástases à distância
I	T1 (< 3 cm)	N0	M0
II	T2 (3 a 5 cm)	N0	M0
III	T3 (> 5 cm)	N0	M0
IV	Qualquer T	N1	M0
V	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: (OWEN, 1980 modificado por RUTTEMAN, 2001).

2.5 Fatores prognósticos e sobrevida

Vários são os aspectos clínicos e histopatológicos utilizados para determinar o prognóstico e sobrevida de tumores mamários, assim como tamanho tumoral, envolvimento

de linfonodos, presença ou não de metástases à distância, tipo e grau histológico, estadiamento tumoral, presença de receptores hormonais e marcadores imunohistoquímicos, entre outros fatores (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

2.5.1 Tamanho tumoral

Cães com nódulos menores que 3 cm de diâmetro possuem prognóstico significativamente melhor quando comparado a cães com tumores malignos maiores, pois estes estão relacionados com maior risco de recidiva e aparecimento de metástases (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Cães com nódulos maiores que 5 cm possuem pior prognóstico, além de alta expressão de marcadores de proliferação celular, baixa quantidade de receptores de progesterona e maior probabilidade de malignidade (FERREIRA et al., 2009). Segundo MacEwen et al. (1985), o volume tumoral maior que aproximadamente 3,4 cm de diâmetro apresenta piores taxas de remissão e sobrevida quando comparados à tumores menores.

Tumores mamários detectados e excisados precocemente, possuindo tamanhos menores que 3 cm, possuem prognóstico mais favorável e menores taxas de mortalidade (YAMAGAMI et al., 1996).

2.5.2 Acometimento de linfonodos

O número de linfonodos comprometidos, bem como a extensão extracapsular são marcadores de pior prognóstico (ARAÚJO et al., 2015). Segundo Karayannopoulou et al. (2001), a presença de metástases em linfonodos tem impacto negativo na sobrevida, já que em estudo por um período de 2 anos, 86% dos pacientes com linfonodos positivos vieram a óbito em virtude da progressão da doença, comparados com 21% que não apresentavam metástases nos linfonodos. Araújo et al. (2015) relataram que a presença de metástases de diâmetros superiores a 7,32 milímetros (macrometástases), em linfonodos, representa um menor tempo de sobrevida quando comparado à animais com presença de micrometástases (0,2 a 2 mm).

2.5.3 Tipo e grau histológico

Carcinoma tubular de alto grau, carcinoma sólido, carcinoma lobular pleomórfico, carcinoma micropapilar e carcinossarcoma são os tipos tumorais mais agressivos encontrados em cadelas com neoplasias mamárias (CASSALI et al., 2020). Carcinomas em tumores mistos, em geral, apresentam bom prognóstico, porém quando apresentam áreas micropapilares ou sólidas, proporcionam sobrevida menor (NUNES et al., 2019). Na presença de mais de um tipo tumoral, o prognóstico é definido pelo tipo mais agressivo (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Em relação ao grau histológico, quanto maior, menor o tempo de sobrevida global, maior a taxa de recidiva e de metastização (DAMASCENO et al., 2012; TAVASOLY et al., 2013).

2.5.4 Estadiamento tumoral

Metástases de tumores mamários ocorrem tanto pela via linfática como pela via hematogena. Entre os órgãos afetados, os principais são os linfonodos regionais, pulmões, fígado, baço, pele, encéfalo, ossos e rins (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

A identificação de metástases regionais ou à distância está associada a um pior prognóstico e sugere a adoção de terapias adjuvantes à cirurgia de forma a tentar aumentar a sobrevida global (NUNES et al., 2018).

O estadio I da doença representa prognóstico favorável, menores chances de recidiva e maior tempo de sobrevida, enquanto que o estadio V, caracteriza-se por pior prognóstico, altas taxas de recidiva e menor tempo de sobrevida (ARAÚJO et al., 2015; FOALE; DEMETRIOU, 2010; GOLDSCHMIDT; PEÑA; ZAPPULLI, 2017). Cães em estágio clínico IV possuem tempo médio de sobrevida de cerca de 331 dias em comparação com 1149 dias para cães no estágio I (NUNES et al., 2018).

Segundo Chang et al. (2005), o tempo médio de sobrevida após cirurgia foi de 6 meses para fêmeas com tumores mamários malignos em estágio clínico IV ou V, enquanto que a maioria dos cães com estágio I, II ou III apresentaram maior sobrevida. As taxas de sobrevida 1 ano após mastectomia foram de 13,6%, 75,8% e 97,9% para os estádios IV, III e I, respectivamente (YAMAGAMI et al., 1996).

2.5.5 Marcadores imunohistoquímicos

Os receptores COX-2, Ki-67, receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP) são exemplos de marcadores preditivos avaliados pela imunohistoquímica em tumores mamários (CASSALI et al., 2020). Também são avaliados: fator de crescimento epidermal 2 humano (HER2), fator de crescimento epidermal (EGFR), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e moléculas de adesão como a Ecaderina, sendo o aumento da expressão do HER2 e do EGFR e da taxa proliferativa, e a diminuição da expressão da Ecaderina normalmente associados a neoplasias mamárias mais agressivas (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Em cães possuindo tumores com alta expressão de COX-2 há pior prognóstico e menor tempo de sobrevida global (LAVALLE et al., 2009). Pacientes com positividade para receptores RE, RP e negativos para HER2 apresentam maior probabilidade de sobrevida, estimada em 55,1 meses. Aqueles com expressão apenas do RP obtiveram sobrevida aproximada de 34,1 meses, enquanto que aqueles que não expressam nenhum dos receptores tiveram tempo de sobrevida estimado em 27,6 meses (PASTOR et al., 2020). Altos índices de Ki-67 foram correlacionados com metástases e baixas taxas de sobrevida global, com pior prognóstico (PEÑA et al., 1998).

2.6 Métodos de diagnóstico de tumores mamários

As maneiras de diagnosticar tumores mamários em cadelas envolvem histórico completo do animal e exame físico. Neoplasias mamárias costumam se manifestar como nódulos únicos ou múltiplos, sendo detectados durante a palpação de todos os pares de glândulas mamárias. Deve ser considerada também a palpação de linfonodos regionais, e observados sinais como temperatura, edema, inflamação e ulceração, indicando relação com crescimento e malignidade tumoral (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; FOWLER; WILSON; KOESTNER, 1974).

O estadiamento clínico do tumor é considerado uma ferramenta importante para determinar o prognóstico, porém também deve ser avaliado o comportamento biológico precoce dos tumores mamários, por meio de avaliação do tipo histológico, grau e expressão molecular do tumor, através de imunohistoquímica e outros métodos (SORENMO et al., 2019).

2.7 Métodos de diagnóstico de metástases

Exames complementares como hemograma completo, bioquímico sérico e coagulograma são necessários para avaliar o estado geral de saúde da paciente e desenvolver a terapêutica correta. O exame radiográfico do tórax, nas projeções lateral direita, lateral esquerda e ventrodorsal, é realizado para avaliar a presença de metástases em pulmão e linfonodos esternais. A ultrassonografia da região abdominal também é utilizada como exame complementar em busca de metástases à distância (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016; OLIVEIRA, 2015). Além disso, a ultrassonografia em modo B, a ultrassonografia com contraste e a elastografia por impulso de força de radiação acústica (ARFI) possibilitam a avaliação de algumas características de carcinomas mamários, auxiliando na investigação clínica dos animais acometidos (FELICIANO et al., 2018).

A tomografia computadorizada (TC) é mais sensível na detecção de nódulos metastáticos em tecidos moles de cães, com limite inferior para detecção de nódulos pulmonares na imagem de 1 mm, quando comparada à radiografia torácica, na qual o limite inferior para detectar nódulos de maneira confiável é de 0,7 a 0,9 cm, embora seja o exame mais utilizado na rotina clínica (NEMANIC; LONDON; WISNER, 2006). Entretanto, Tiemessen (1989) relatou visualização de nódulos pulmonares em radiografias torácicas a partir de 0,5 cm, com 65% de sensibilidade na detecção de metástases.

De acordo com Silva et al. (2018), a ultrassonografia em modo B auxilia no diagnóstico de metástases em linfonodos axilares e inguinais em cadelas acometidas por neoplasia mamária. A citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) ou punção biopsia aspirativa (PBA) de linfonodos palpáveis também contribui para determinar o estadiamento tumoral e escolha terapêutica, sendo um método que apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 96% para identificação de metástases linfonodais (NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção dos animais do estudo

Foi realizado um estudo retrospectivo, com seleção de cadelas de variadas raças e idades, castradas ou não, portadoras de neoplasias mamárias, que foram atendidas no HV-UFU, para avaliação clínica-cirúrgica e posterior avaliação histopatológica, durante o período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020.

Este projeto não foi analisado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA), pois não manipulou diretamente animais vivos com colheita de amostras, estando de acordo com a legislação Federal pertinente ao uso científico de animais.

As cadelas portadoras de tumores mamários malignos foram incluídas no estudo, avaliadas clinicamente e submetidas a exame radiográfico de tórax e ultrassonográfico de cavidade abdominal, para pesquisa de metástase pulmonar e abdominal, respectivamente. Foram submetidas a tratamento cirúrgico através das técnicas de mastectomia unilateral ou bilateral total, após avaliação clínica e conforme recomendação médico veterinária, com retirada dos linfonodos regionais e fragmentos das massas tumorais, os quais foram encaminhados para diagnóstico histopatológico. Cadelas submetidas à quimioterapia foram incluídas do estudo.

3.2 Classificação histológica

Os tumores mamários foram classificados histologicamente segundo Goldschmidt et al. (2011) e o diagnóstico foi realizado em estudo duplo cego por dois patologistas. Foi atribuído o grau histológico dos tumores de acordo com o sistema Nottingham modificado por Elston e Ellis (1991). Os carcinomas inflamatórios, osteossarcomas mamários, hemangiossarcomas e fibrossarcomas foram classificados como tipos especiais.

Os linfonodos drenantes das mamas com nódulos neoplásicos foram avaliados após excisão cirúrgica, de acordo com Macphail (2015). Nos casos em que a cadela possuía somente um nódulo neoplásico maligno, o mesmo foi acompanhado do linfonodo drenante. Nas cadelas que possuíam mais de um nódulo neoplásico maligno, com diferentes tipos histológicos, foi considerado o tipo histológico mais agressivo, de acordo com Rasotto et al. (2017), e o nódulo foi analisado juntamente com o seu linfonodo drenante.

3.3 Estadiamento

As cadelas foram estadiadas de acordo com o sistema TNM (OWEN, 1980 modificado por RUTTEMAN, 2001). O tamanho dos tumores foi obtido por meio das informações visualizadas nas fichas patológicas das cadelas arquivadas no setor. Foi realizada avaliação histopatológica de fragmentos de linfonodos regionais para verificação de presença de metástase em linfonodos, coletados durante procedimento cirúrgico de mastectomia. Exames ultrassonográficos de cavidade abdominal e radiográfico de tórax (posições ventrodorsal e laterolateral direito e esquerdo) foram utilizados na avaliação da presença de metástase à distância.

Foram selecionadas todas as cadelas com estágio V, a partir do estadiamento clínico, para aferição do tamanho de metástases pulmonares, através das imagens radiográficas, com auxílio do programa Clearcanvas[®]. Foram consideradas como metástases apenas nódulos bem delimitados, superiores a 0,5 cm. O tamanho das metástases abdominais foi obtido através dos laudos ultrassonográficos arquivados no setor de diagnóstico por imagem do HV-UFU.

3.4 Agrupamento dos animais

As cadelas do estudo foram divididas em grupos, de acordo com algumas características, para posterior comparação das curvas de sobrevida entre os grupos (Figura 1).

O Grupo A foi composto por cadelas que não possuíam nenhum tipo de metástase e o Grupo B por cadelas com presença de metástases (linfonodais ou à distância). Posteriormente, as cadelas pertencentes ao Grupo B foram divididas, segundo o tipo de metástase apresentada, em Grupo B1 (cadelas com metástases em linfonodo regional – estágio IV) e Grupo B2 (cadelas com metástases à distância – estágio V).

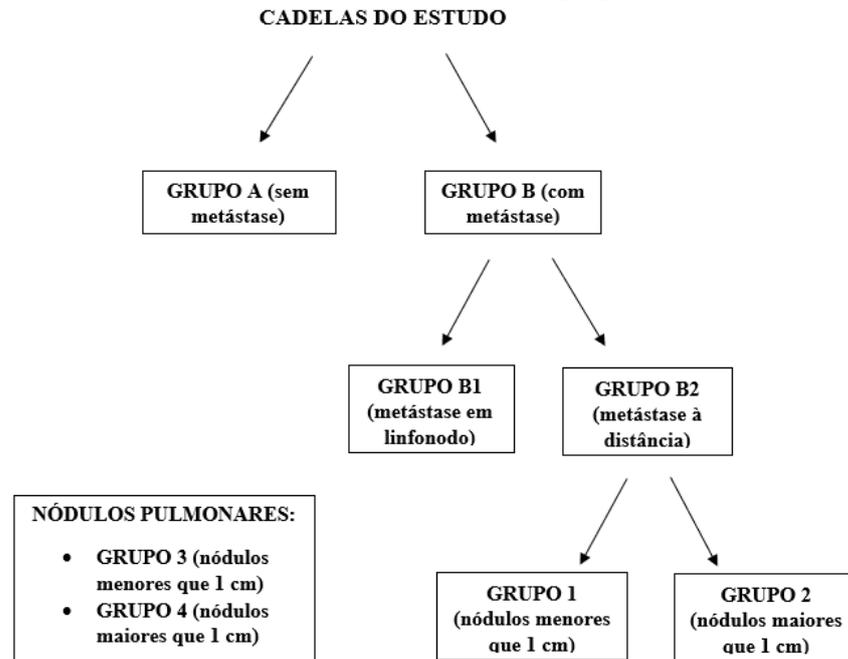
As cadelas do Grupo B2 foram posteriormente agrupadas de acordo com o tamanho das metástases, após análise de nódulos em pulmão e em órgãos abdominais e levando em consideração o nódulo de maior tamanho. Dentro do Grupo 1 ficaram cadelas com nódulos menores que 1,0 cm e no Grupo 2 cadelas com nódulos maiores que 1,0 cm.

Considerando somente o tamanho dos nódulos pulmonares (desconsiderando nódulos em órgãos abdominais), os animais foram divididos em Grupo 3 para cadelas com nódulos

pulmonares menores que 1,0 cm e Grupo 4 para cadelas com nódulos pulmonares maiores que 1,0 cm.

Quanto a idade, as cadelas foram subdivididas em três grupos etários: filhotes (até um ano de idade), adultos (de um a nove anos) e idosos (dez anos ou mais), de acordo com Goldston e Hoskins (1999).

Figura 1 – Divisão das cadelas do estudo em diferentes grupos.



Fonte: autoria própria.

3.5 Análise estatística

A evolução clínica dos animais foi acompanhada por meio de contato telefônico com os respectivos proprietários que concordaram, voluntariamente, em responder aos questionamentos sobre seu cão. Os questionamentos foram sobre o aparecimento de novos nódulos após a cirurgia, data do novo aparecimento, se o animal veio a óbito e data do óbito.

Para avaliação da sobrevida das cadelas, foi considerado como dia zero a data em que foi realizado o procedimento cirúrgico. A sobrevida global (SG) foi definida como o período em dias desde a data do procedimento cirúrgico até a data da morte dos animais. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software comercial (IBM SPSS Statistics v. 19, IBM, Somers, NY, USA and Prism v. 5.0, GraphPad, San Diego, CA, USA). O método de Kaplan-Meier foi utilizado no cálculo da curva de SG, seguido pelo teste de Log Rank

(Mantel-Cox) para comparação das curvas de sobrevida em análise univariada. Foram considerados significantes valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Dados epidemiológicos

Foram incluídas no estudo 118 cadelas portadoras de carcinoma mamário atendidas no Hospital Veterinário de Uberlândia (HOVET-UFU), entre o período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020, as quais realizaram mastectomia uni ou bilateral ou nodulectomia para a retirada dos tumores da cadeia mamária, quimioterapia adjuvante ao tratamento cirúrgico, além de exames de imagem radiográfico e ultrassonográfico para a avaliação de metástases.

A média de idade dos animais foi $11,2 \pm 4,81$ anos, com idades variando entre 4 e 20 anos. Houve predomínio de cadelas idosas (68,65%, 81/118) (Tabela 2) e seis cadelas não tiveram a idade notificada na ficha clínica (5,08%, 6/118).

Em relação às raças, a maioria das cadelas era mestiça ou sem raça definida (SRD) (54,24%, 64/118), seguido das raças Poodle (12,71%, 15/118) e Shih Tzu (7,63%, 9/118) (Tabela 2).

Quanto ao estado reprodutivo, apenas 30 cadelas eram castradas (25,42%, 30/118), enquanto 85 (72,04%, 85/118) eram inteiras até o momento da cirurgia, sendo que 3 cadelas (2,54%, 3/118) não possuíam informação sobre o estado reprodutivo. Vinte cadelas foram submetidas ao uso de contraceptivo injetável (16,95%, 20/118), 89 cadelas (75,42%, 89/118) não haviam recebido nenhum tipo de contraceptivo e em nove casos não havia este tipo de informação no histórico do animal (7,63%, 9/118) (Tabela 2). Em relação ao tratamento adjuvante com o uso de fármacos quimioterápicos, 6 cadelas (5,08%, 6/118) foram submetidas à quimioterapia, enquanto 112 (94,92%, 112/118) não receberam esse tipo de tratamento.

Tabela 2 – Dados epidemiológicos de cadelas portadoras de neoplasias mamárias (continua).

Características	n (%)
Idade	
Entre 1 e 9 anos	31 (26,27%)
≥ 10 anos	81 (68,65%)
Não informado	6 (5,08%)
Raça	
SRD	64 (54,24%)
Poodle	15 (12,71%)
Shih Tzu	9 (7,63%)
Yorkshire Terrier	7 (5,93%)
Pinscher	7 (5,93%)
Maltês	4 (3,39%)
Dachshund	3 (2,54%)

Tabela 2 – Dados epidemiológicos de cadelas portadoras de neoplasias mamárias (conclusão).

Características	n (%)
Raça	
Cocker Spaniel	3 (2,54%)
Lhasa Apso	2 (1,69%)
Labrador Retriever	1 (0,85%)
Boxer	1 (0,85%)
Beagle	1 (0,85%)
American Pit Bull Terrier	1 (0,85%)
Estado Reprodutivo	
Castradas	30 (25,42%)
Inteiras	85 (72,04%)
Não informado	3 (2,54%)
Uso de Contraceptivo Injetável	
Usaram	20 (16,95%)
Não usaram	89 (75,42%)
Não informado	9 (7,63%)
Quimioterapia	
Foram submetidas	6 (5,08%)
Não foram submetidas	112 (94,92%)
Tamanho do tumor primário	
T1 (< 3 cm)	68 (57,63%)
T2 (entre 3 e 5 cm)	21 (17,79%)
T3 (> 5 cm)	29 (24,58%)
Tipo Histológico	
Carcinoma túbulo-papilar	35 (29,66%)
Carcinoma em tumor misto	26 (22,03%)
Carcinoma tubular	20 (16,95%)
Carcinoma complexo	12 (10,17%)
Carcinoma sólido	9 (7,63%)
Osteossarcoma mamário	4 (3,39%)
Carcinoma anaplásico	2 (1,69%)
Hemangiossarcoma mamário	2 (1,69%)
Adenomioepitelioma maligno	1 (0,85%)
Carcinoma cribriforme	1 (0,85%)
Carcinoma inflamatório	1 (0,85%)
Carcinoma mucinoso	1 (0,85%)
Carcinoma papilar	1 (0,85%)
Carcinossarcoma	1 (0,85%)
Comedocarcinoma	1 (0,85%)
Fibrossarcoma	1 (0,85%)
Grau histológico	
I	56 (47,46%)
II	48 (40,68%)
III	6 (5,08%)
Tipos especiais	8 (6,78%)
TNM (estadiamento)	
I	55 (46,61%)
II	12 (10,17%)
III	16 (13,56%)
IV	8 (6,78%)
V	27 (22,88%)

Fonte: autoria própria.

4.2 Características do tumor primário

Em relação ao tamanho do tumor primário, a maioria dos tumores era menor que 3 centímetros, correspondendo a 57,63% (68/118) dos casos e o tipo histológico carcinoma túbulo-papilar foi o mais frequente (29,66%, 35/118), seguido pelo carcinoma em tumor misto (22,03%, 26/118) e carcinoma tubular (16,95%, 20/118) (Tabela 2).

O grau histológico dos diferentes tipos de carcinoma mamário também foi avaliado, sendo mais frequentes os carcinomas com graduação I (47,46%, 56/118), seguido de carcinomas grau II (40,68%, 48/118) e III (5,08%, 6/118). Oito neoplasias mamárias (6,78%, 8/118) foram diagnosticadas como tipos histológicos especiais e não foram graduadas (Tabela 2).

De acordo com o Sistema de classificação TNM (OWEN, 1980 modificado por RUTTEMAN, 2001), no estudo 46,61% (55/118) das cadelas foram classificadas como estadio I, 10,17% (12/118) estadio II, 13,56% (16/118) estadio III, 6,78% (8/118) estadio IV e 22,88% (27/118) estadio V (Tabela 2).

4.3 Metástases

Foram avaliadas todas as imagens de radiografias torácicas em três projeções das cadelas selecionadas no estudo. Do total de cadelas classificadas como estágio V (n=27), com presença de metástases à distância, cinco (18,52%, 5/27) apresentaram metástase pulmonar e vinte e duas (81,48%, 22/27) em outros órgãos, sendo eles baço (77,27%, 17/22), fígado (13,63%, 3/22), rim (4,55%, 1/22) e bexiga (4,55%, 1/22). Do total de cadelas que apresentaram metástase em pulmão (n=5), duas também apresentaram metástase em outros órgãos, sendo uma em linfonodo regional e a outra em baço (40%, 2/5). Entre as cadelas que apresentaram metástase em baço (n=17), uma delas também apresentou metástase em linfonodo regional (5,88%, 1/17).

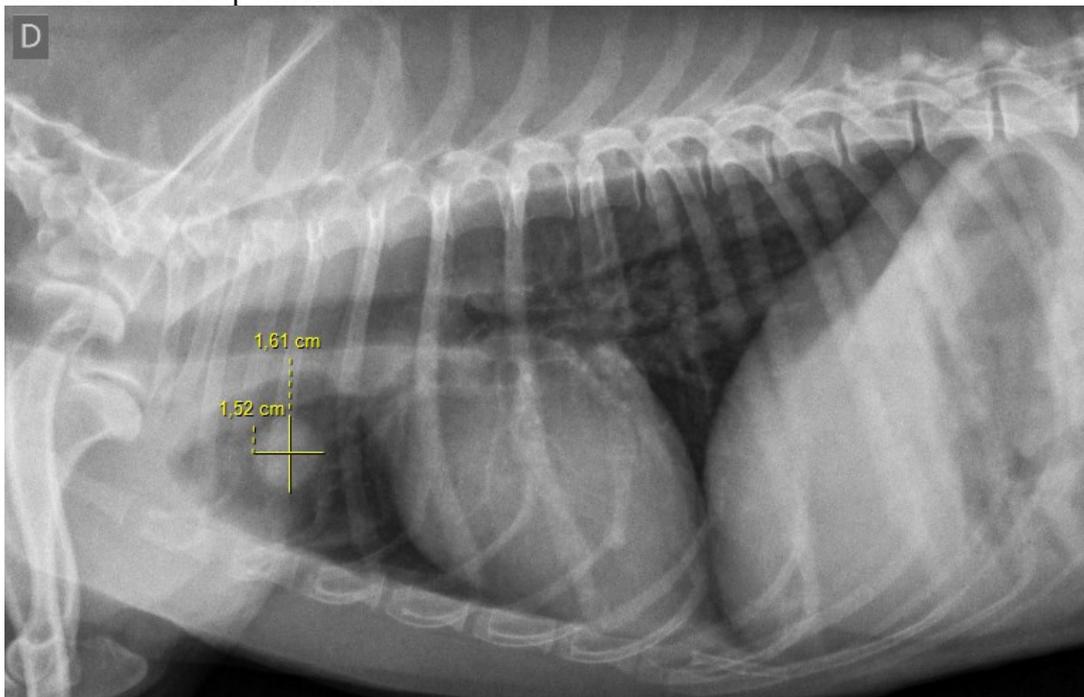
Em relação aos tamanhos das metástases à distância, as cadelas foram divididas em grupos 1 (nódulos menores que 1 cm) e 2 (nódulos maiores que 1 cm), sendo compostos por 11 (40,74%, 11/27) e 16 (59,26%, 16/27) cadelas, respectivamente.

Do total de cadelas com metástases em pulmão (n=5), três (60%, 3/5) apresentaram dois ou mais nódulos visualizados na radiografia torácica, e apenas duas (40%, 2/5)

apresentaram um único nódulo (Figura 2). Quanto ao tamanho das metástases pulmonares, duas cadelas apresentaram nódulos menores que 1 cm (grupo 3) (40%, 2/5), enquanto três cadelas apresentaram nódulos maiores que 1 cm (grupo 4) (60%, 3/5).

Ao todo, 12 nódulos foram verificados nos exames radiográficos, sendo a média dos tamanhos das massas pulmonares de $1,47 \pm 0,90$ cm, variando entre 0,55 e 3,72 cm. Nos órgãos abdominais, a média do tamanho das metástases encontradas no baço foi de $1,82 \pm 1,60$ cm, e variou entre 0,5 e 6,53 cm. No fígado a média dos tamanhos tumorais foi de $0,88 \pm 0,40$ cm. No rim e na bexiga, foram visualizados apenas um nódulo com tamanhos de 3,12 e 3,25 cm, respectivamente.

Figura 2 – Imagem de radiografia torácica lateral direita de cadela portadora de neoplasia mamária maligna, SRD, 13 anos de idade. É possível evidenciar uma estrutura arredondada, radiopaca, bem delimitada, medindo 1,61 x 1,52 cm de diâmetro em lobo pulmonar cranial.

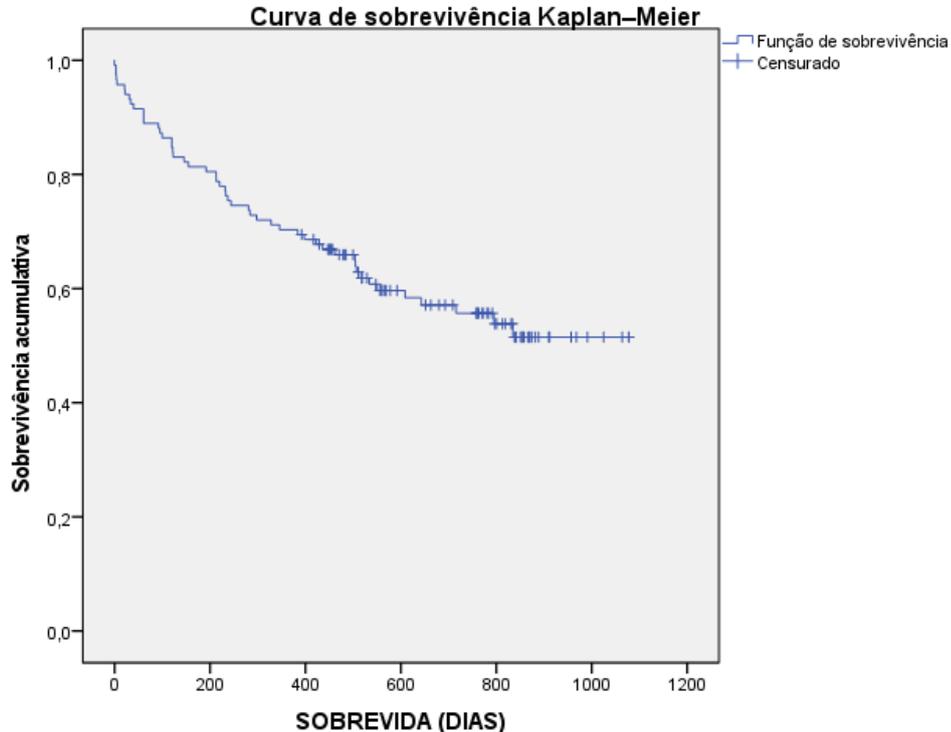


Fonte: Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

4.4 Análise de sobrevida global (SG)

A média de sobrevida global (SG) das cadelas portadoras de tumores mamários malignos analisadas no estudo foi de $706,964 \pm 39,994$ dias (Figura 3), e as cadelas não atingiram a mediana de sobrevivência.

Figura 3 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida global de cadelas portadoras de tumores mamários malignos (n=118). O tempo médio de sobrevida obtido foi de $706,964 \pm 39,994$ dias. As cadelas não atingiram mediana de sobrevivência.

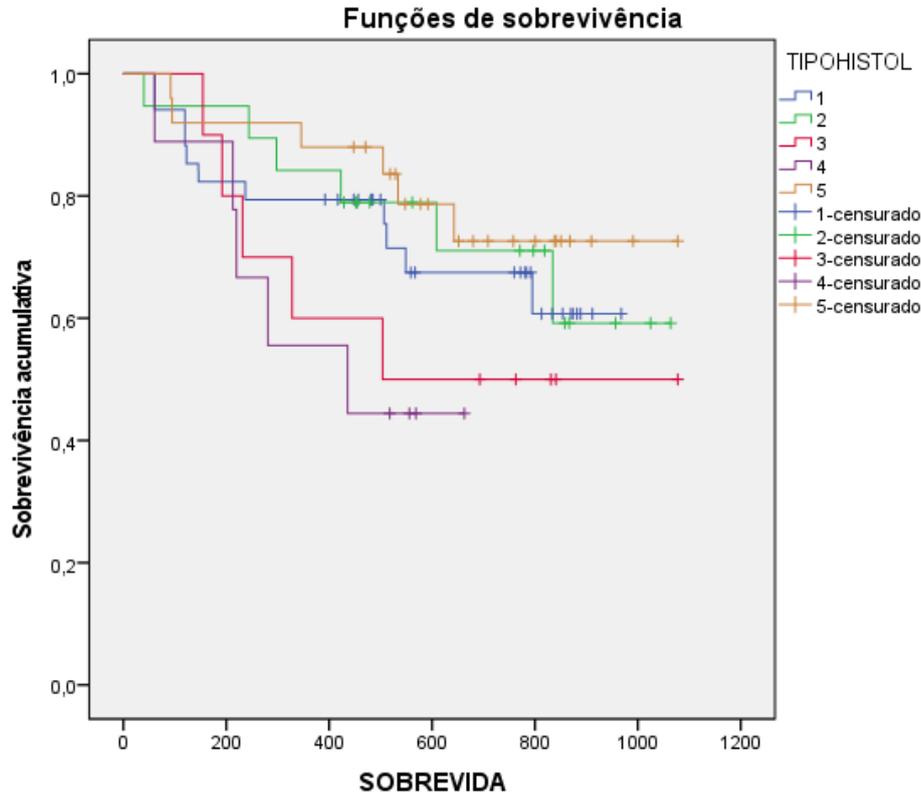


Com relação aos tipos histológicos, foram considerados apenas aqueles com frequência maior que cinco ($n > 5$). A média de SG das cadelas classificadas nos diferentes tipos histológicos de tumores mamários malignos foi de $798,301 \pm 40,026$ dias. A sobrevida média das cadelas que possuíam o tipo histológico carcinoma túbulo-papilar foi de $729,511 \pm 60,622$ dias, carcinoma tubular $829,855 \pm 80,609$ dias, carcinoma complexo $680,100 \pm 128,894$ dias, carcinoma sólido $429,222 \pm 75,909$ dias e carcinoma em tumor misto $798,301 \pm 40,026$ dias (Figura 4).

Comparando as curvas de sobrevida das cadelas em função do tipo histológico por meio do teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida ($p=0,242$). No entanto, cadelas portadoras de carcinoma complexo e sólido apresentaram menor sobrevida e atingiram a mediana aos 504 e 436 dias, respectivamente. Cadelas portadoras dos demais tipos histológicos não atingiram a mediana de sobrevida.

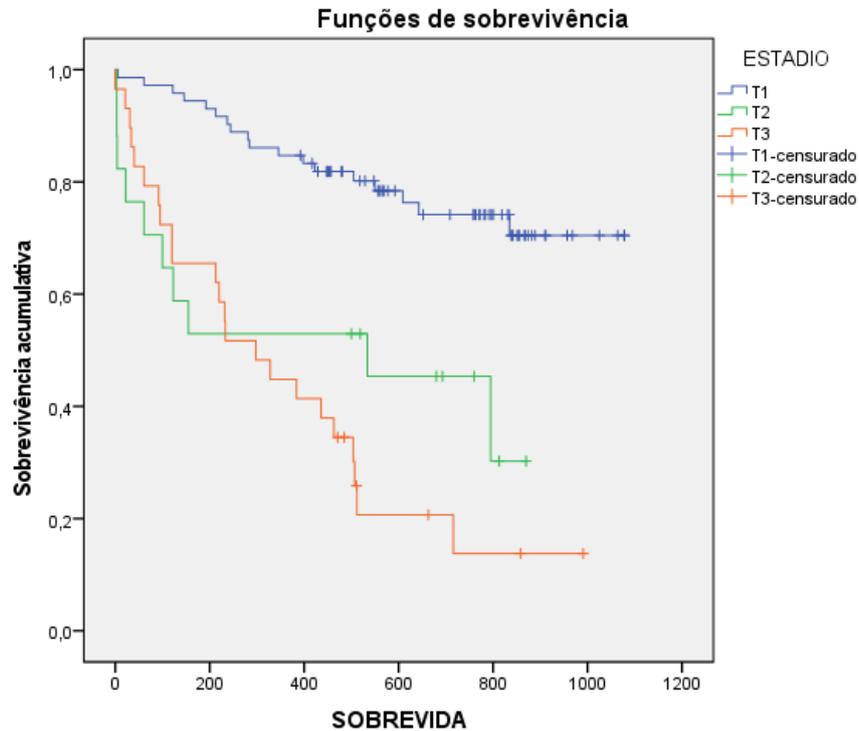
Figura 4 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida global de cadelas portadoras de diferentes tipos histológicos de carcinomas mamários malignos (n=97). O tempo médio de sobrevida obtido foi de $798,301$

$\pm 40,026$ dias. Cadelas portadoras de carcinoma complexo e sólido apresentaram menor sobrevida e atingiram a mediana aos 504 e 436 dias, respectivamente. Foram consideradas as seguintes numerações para cada subtipo histológico na avaliação da curva: 1 = carcinoma túbulo-papilar; 2 = carcinoma tubular; 3 = carcinoma complexo; 4 = carcinoma sólido e 5 = carcinoma em tumor misto.



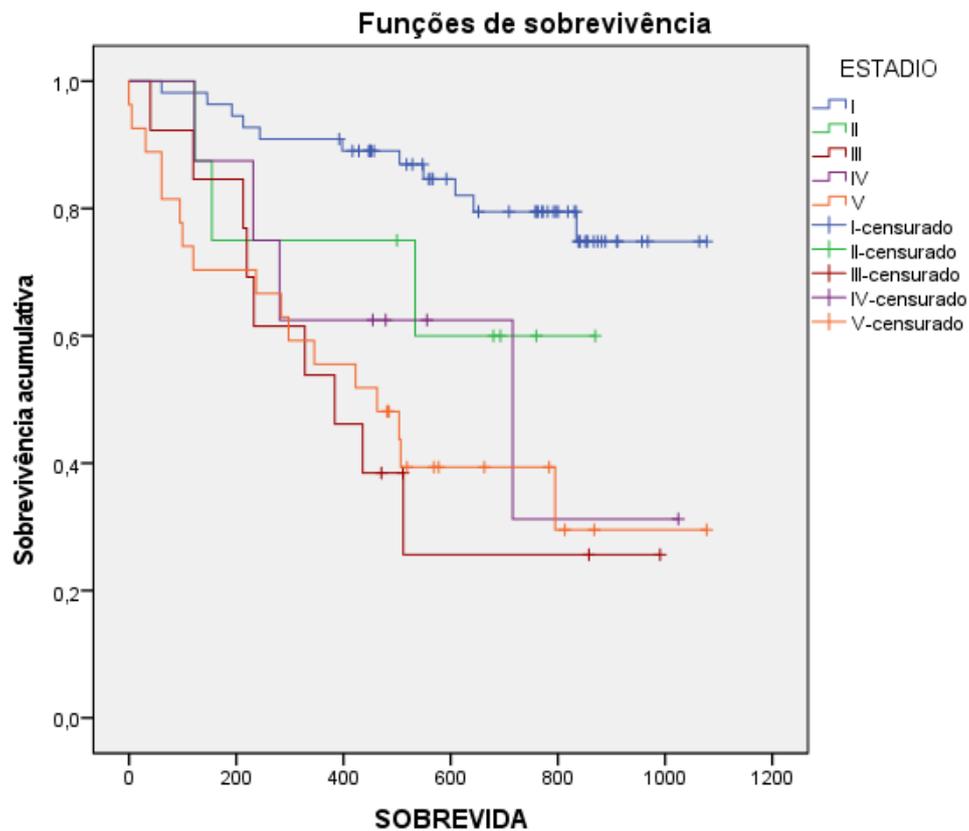
Quanto ao tamanho do tumor primário, cadelas com tumores T1 apresentaram média de SG de $876,717 \pm 41,561$ dias, enquanto T2 e T3 obtiveram média de SG de $451,538 \pm 93,331$ dias e $374,095 \pm 61,388$ dias, respectivamente (Figura 5). As cadelas portadoras de tumores T2 e T3 atingiram a mediana de sobrevivência aos 534 e 298 dias, respectivamente, e houve diferença das curvas de sobrevida segundo o teste de Log Rank ($p < 0,05$).

Figura 5 – Curva Kaplan-Meier de sobrevida global de cadelas portadoras de tumores mamários malignos de acordo com o tamanho do tumor primário (T1, T2 ou T3) ($n=118$). T2 e T3 atingiram a mediana de sobrevivência aos 534 e 298 dias, respectivamente, e houve diferença das curvas de sobrevida no teste de Log Rank ($p < 0,05$).



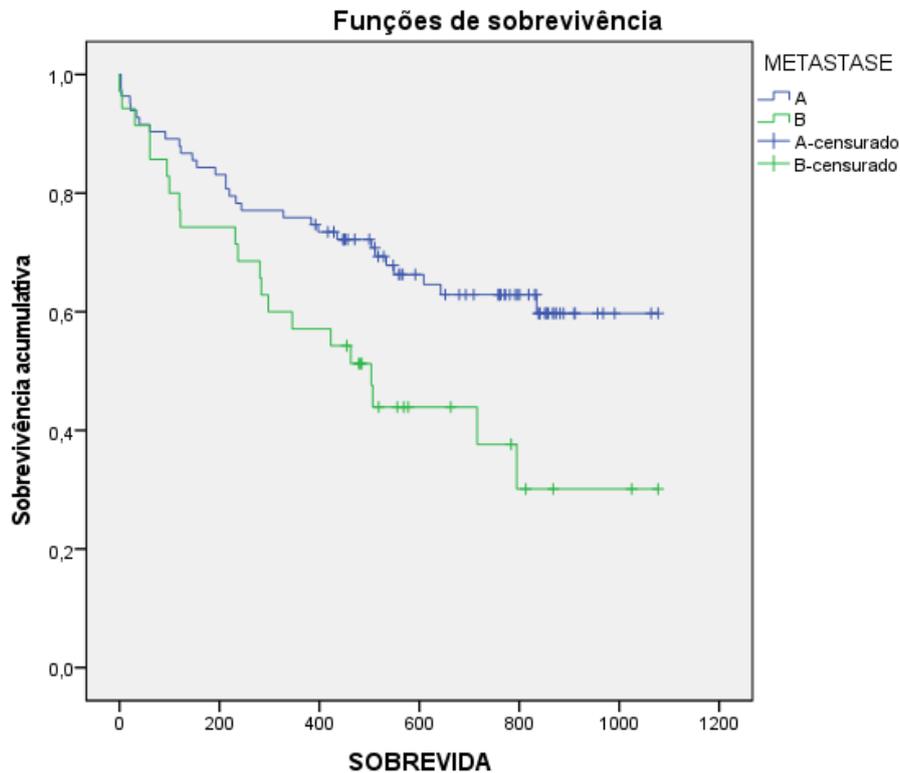
Verificou-se que a média de SG de cadelas estadiadas de acordo com o sistema TNM foi de $749,935 \pm 39,073$ dias. A média de SG das cadelas do estadios I foi de $924,142 \pm 41,990$ dias, estadios II $636,850 \pm 111,209$ dias, estadios III $471,590 \pm 97,255$, estadios IV $623,438 \pm 132,612$ dias e estadios V $534,529 \pm 82,605$ dias. Cadelas no estadios III e V apresentaram menor sobrevida e na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida ($p < 0,05$) (Figura 6). Cadelas no estadios III, IV e V atingiram a mediana aos 384, 716 e 463 dias, respectivamente.

Figura 6 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida global de cadelas portadoras de tumores mamários malignos em estadios I, II, III, IV e V. O tempo médio de sobrevida geral foi de $749,935 \pm 39,073$ dias. Cadelas no estadios III e V apresentaram menor sobrevida e na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida ($p < 0,001$). Cadelas no estadios III, IV e V atingiram a mediana aos 384, 716 e 463 dias, respectivamente.



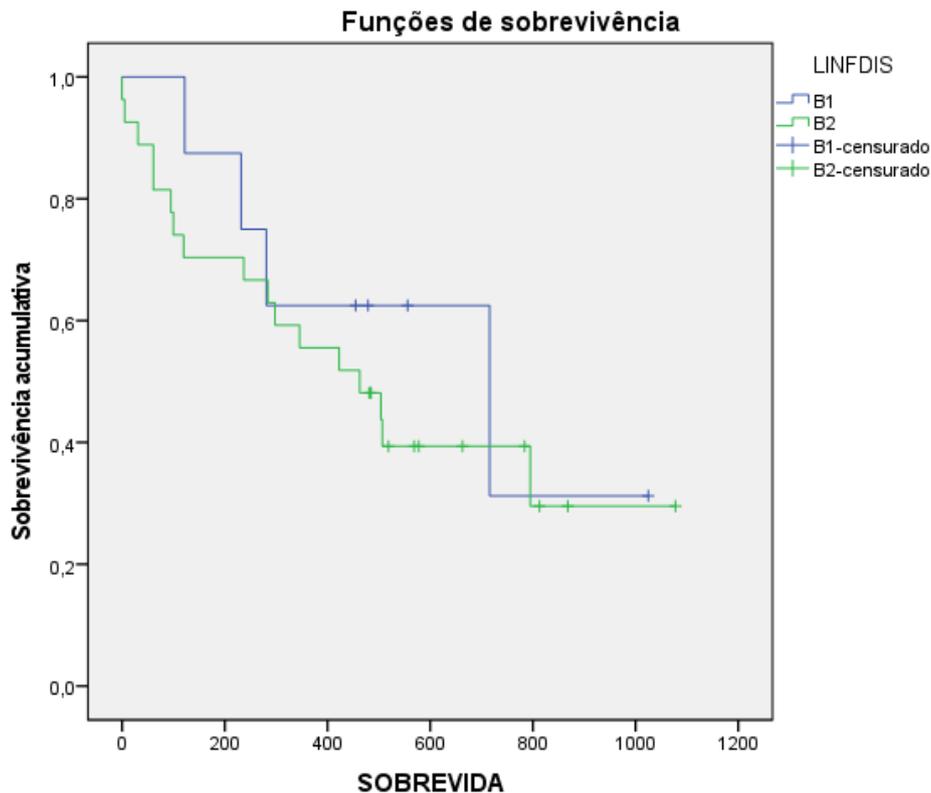
Cadelas que não apresentaram metástase (70,34%, 83/118) apresentaram média de SG de $767,486 \pm 46,301$ dias, não atingindo a mediana de sobrevivência e 30 cadelas deste grupo morreram (36,14%, 30/83). Já as cadelas com metástase (29,66%, 35/118) apresentaram média de SG de $557,704 \pm 72,249$ dias, e atingiram a mediana aos 504 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida ($p = 0,01$) (Figura 7), sendo que cadelas com metástase viveram menos.

Figura 7 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas portadoras de tumores mamários malignos com e sem metástases. Cadelas que não possuíam metástase apresentaram média de SG de $767,486 \pm 46,301$ dias, não atingindo a mediana de sobrevivência. Cadelas com metástase (29,66%, 35/118) apresentaram média de SG de $557,704 \pm 72,249$ dias, e atingiram a mediana aos 504 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida ($p = 0,01$).



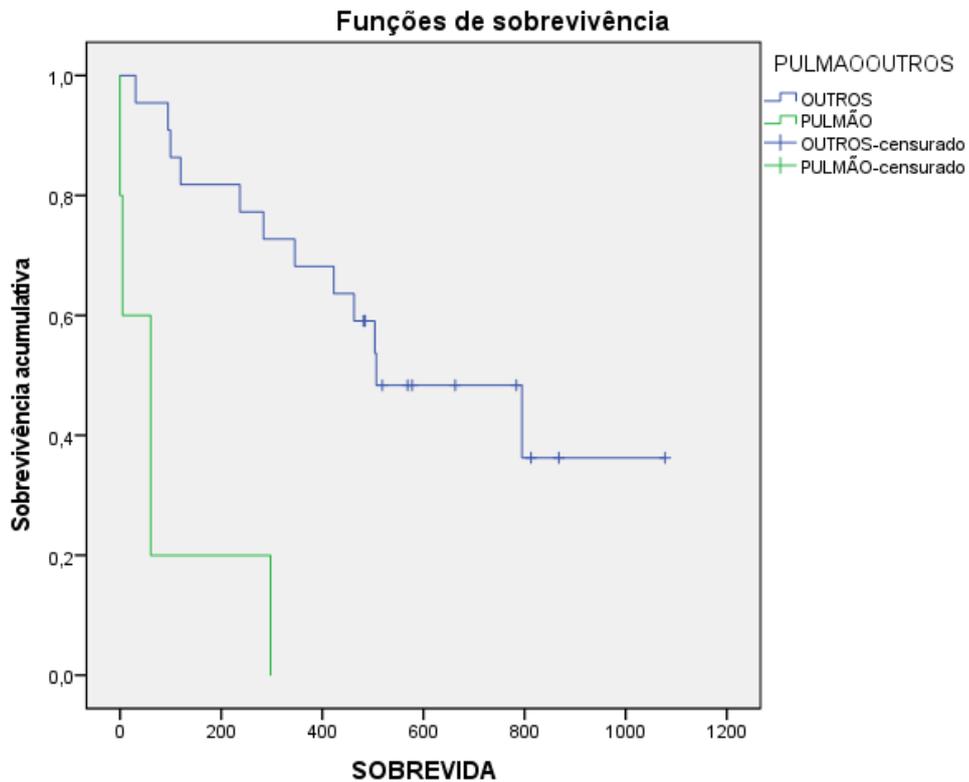
Entre os animais com metástase (29,66%, 35/118), oito cadelas possuíam metástase em linfonodo regional (estádio IV) (22,86%, 8/35) e apresentaram média de SG de $623,438 \pm 132,612$ dias e atingiram a mediana aos 716 dias e quatro animais morreram (50%, 4/8). As cadelas com metástase à distância (77,14%, 27/35) apresentaram média de SG de $534,529 \pm 82,605$ dias e atingiram a mediana aos 463 dias, 17 cadelas morreram (62,96%, 17/27) (Figura 8). Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas com metástase à distância e em linfonodo ($p= 0,55$).

Figura 8 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas portadoras de tumores mamários malignos com estadio IV (Grupo B1) e estadio V (Grupo B2). As cadelas com metástase em linfonodo regional (estádio IV) apresentaram média de SG de $623,438 \pm 132,612$ dias e atingiram a mediana aos 716 dias. As cadelas com metástase à distância apresentaram média de SG de $534,529 \pm 82,605$ dias e atingiram a mediana aos 463 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas com metástase à distância e em linfonodo ($p= 0,55$).



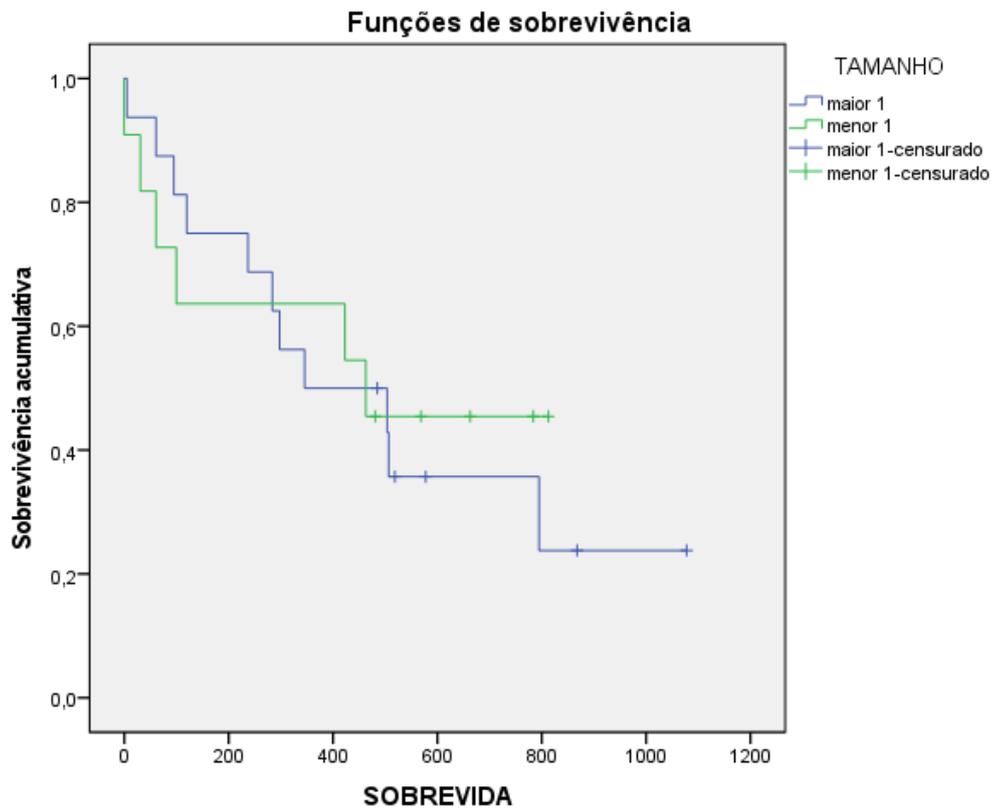
Quanto ao local de metástase à distância (pulmão ou outros órgãos), cadelas que apresentaram metástases pulmonares ($n=5$) apresentaram média de SG de $85 \pm 54,839$ dias, com mediana de 61 dias, enquanto aquelas que possuíam metástases para outros órgãos apresentaram média de SG de $636,695 \pm 87,128$ dias e mediana de 507 dias (Figura 9). Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas com metástase no pulmão e em outros locais ($p < 0,001$), sendo que cadelas com metástase em pulmão viveram menos.

Figura 9 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas portadoras de tumores mamários malignos com metástases localizadas em pulmão ou em outros órgãos. As cadelas com metástases pulmonares apresentaram média de SG de $85 \pm 54,839$ dias, com mediana de 61 dias e aquelas com tumores em outros órgãos apresentaram média de SG de $636,695 \pm 87,128$ dias e mediana de 507 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas com metástase no pulmão e em outros locais ($p < 0,001$).



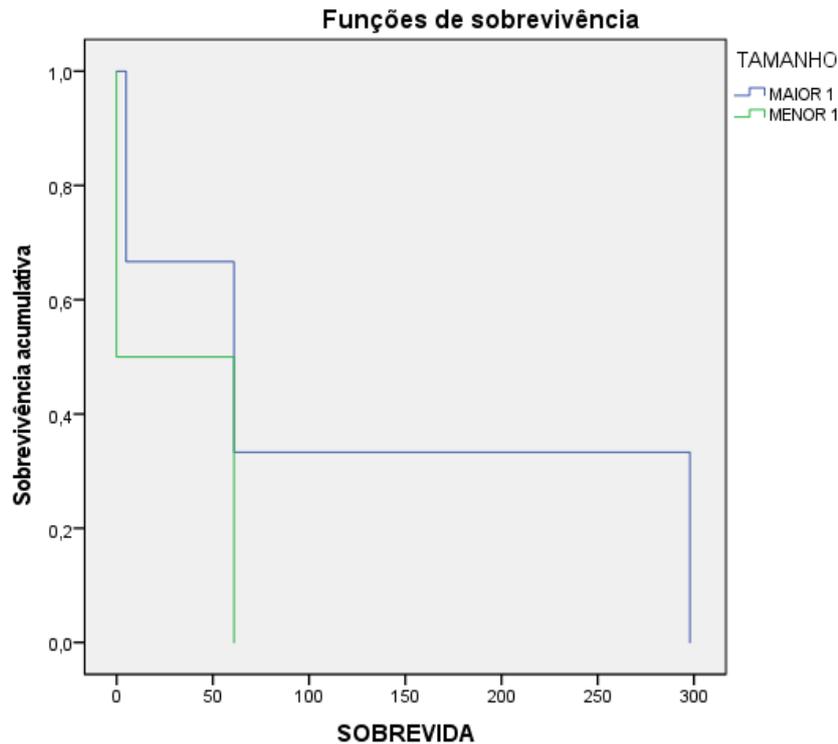
Avaliou-se ainda a influência do tamanho das metástases na sobrevida. Cadelas com nódulos menores que 1 cm (Grupo 1) (40,74%, 11/27) apresentaram média de SG de $467,545 \pm 103,980$ dias e mediana de 463 dias. Cadelas com nódulos maiores que 1 cm (Grupo 2) (59,26%, 16/27) apresentaram média de SG de $513,899 \pm 98,965$ dias e mediana de 346 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas quanto ao tamanho da metástase ($p= 0,782$) (Figura 10).

Figura 10 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas portadoras de tumores mamários malignos com metástases maiores ou menores que 1,0 cm. As cadelas com metástases menores que 1,0 cm apresentaram média de SG de $467,545 \pm 103,980$ dias e mediana de 463 dias e aquelas com metástases maiores que 1,0 cm em outros órgãos apresentaram média de SG de $513,899 \pm 98,965$ dias e mediana de 346 dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas quanto ao tamanho da metástase ($p= 0,782$).



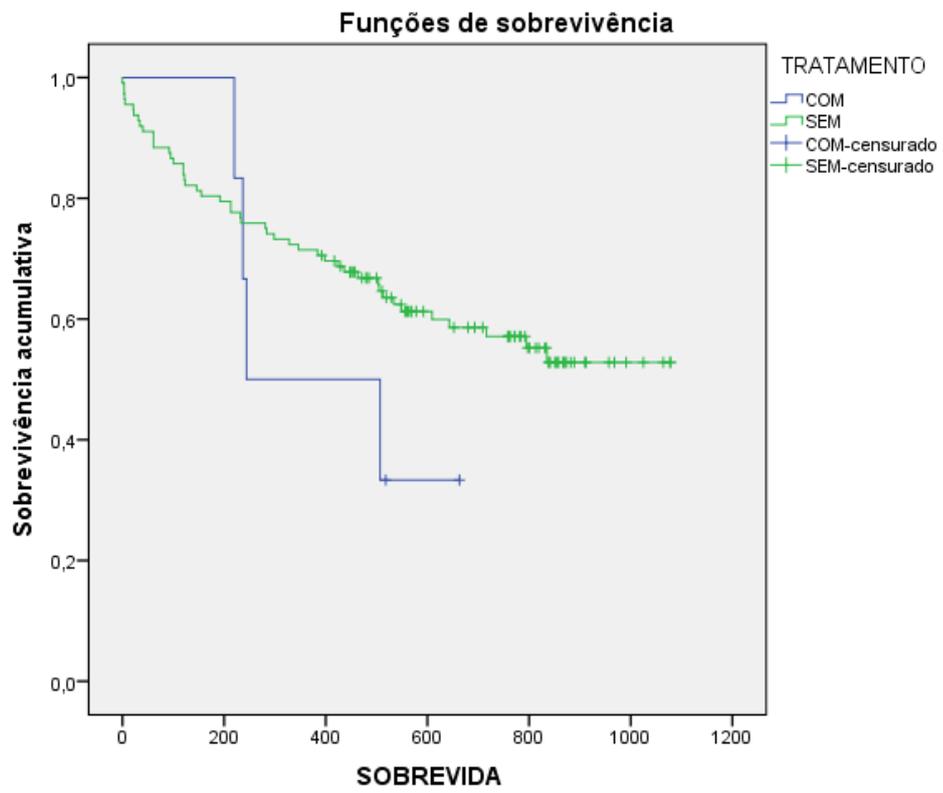
Na avaliação da influência do tamanho da metástase no pulmão sobre a sobrevida, cadelas portadoras de nódulos metastáticos localizados em pulmão maiores que 1,0 cm apresentaram média de SG de $121,333 \pm 89,8$ dias, com mediana de 61 dias. Cadelas com metástases pulmonares menores que 1 cm apresentaram média de SG de $30,5 \pm 30,5$ dias (Figura 11). Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas quanto ao tamanho da metástase no pulmão ($p=0,397$).

Figura 11 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas com tumores mamários malignos com metástase pulmonar maior ou menor que 1,0 cm. Cadelas com nódulos metastáticos menores que 1 cm apresentaram média de SG de $30,5 \pm 30,5$ dias, enquanto aquelas com nódulos maiores que 1 cm apresentaram média de SG de $121,333 \pm 89,8$ dias. Na comparação das curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank não houve diferença das curvas de sobrevida entre cadelas quanto ao tamanho da metástase no pulmão ($p=0,397$).



Cadelas que foram submetidas ao tratamento com quimioterapia adjuvante obtiveram média de SG de $422,333 \pm 79,948$ dias, atingindo a mediana de sobrevivência aos 244 dias. As cadelas que não receberam tratamento com quimioterápicos apresentaram média de SG de $716,220 \pm 41,128$ dias (Figura 12). Entretanto, não houve diferença entre as curvas de sobrevida de acordo com teste de Log Rank ($p=0,254$).

Figura 12 – Curvas Kaplan-Meier de sobrevida de cadelas com e sem quimioterapia adjuvante. As cadelas submetidas ao tratamento com quimioterapia adjuvante atingiram a mediana aos 244 dias. Não houve diferença entre as curvas de sobrevida pelo teste de Log Rank ($p>0,05$).



5 DISCUSSÃO

O tipo histológico mais frequente observado no presente estudo foi o carcinoma túbulo-papilar, corroborando com os achados de Tavasoly et al. (2013), no qual carcinomas simples foram os mais frequentes, incluindo o carcinoma túbulo-papilar. Entretanto, vários autores relataram a maior frequência do carcinoma em tumor misto (CASSALI et al., 2012; NUNES et al., 2018; RIBEIRO et al., 2012; TORÍBIO et al., 2012), sendo neste estudo esse tipo histológico o segundo mais frequente.

Cadelas com carcinoma sólido foram aquelas que apresentaram menor sobrevida global, assim como observado por outros autores que relataram que carcinomas sólidos apresentam comportamento agressivo e perfil metastático para locais distantes, além de baixa chance de sobrevida (CASSALI et al., 2011; MISDORP, 2002; NUNES et al., 2018). Vários autores relataram que carcinomas do tipo simples apresentaram menor sobrevida em relação aos carcinomas complexos (DAMASCENO et al., 2012; GOLDSCHMIDT et al. 2011; TAVASOLY et al., 2013). Entretanto, no presente estudo cadelas com carcinoma complexo atingiram a mediana de sobrevivência, indicando tendência a pior prognóstico. Vários autores relataram que cadelas com carcinoma em tumor misto apresentaram melhor prognóstico e maior SG quando comparadas aos outros tipos histológicos (BURRAI et al., 2020; GOLDSCHMIDT; PEÑA; ZAPULLI, 2017; NUNES et al., 2018; QUEIROGA; LOPES, 2002).

O grau histológico mais frequentemente observado no presente estudo foi o grau I, concordando com os achados de outros autores (GONÇALVES et al., 2021; NUNES et al., 2018; RASOTTO et al., 2017; SEUNG et al., 2021). Karayannopoulou et al. (2005) observaram que cadelas que apresentaram grau histológico III exibiram pior prognóstico quando comparadas com cadelas com carcinomas de graus I ou II, assim como outros autores (CANADAS et al., 2019; PEÑA et al., 2012). Estudos recentes relataram maior taxa de ocorrência de metástases em carcinomas mamários de grau III, quando comparados aos de menor grau (COLETO et al., 2018; PEÑA et al., 2012; RASOTTO et al., 2017). No presente estudo, entretanto, a maior ocorrência de metástases se deu em cadelas que apresentaram carcinomas com grau II, o que pode ter ocorrido devido ao baixo número de cadelas pertencentes ao grau histológico III neste estudo (n=6).

Quanto ao estadiamento, a maioria das cadelas do presente estudo foram classificadas como estadio I. O estadio I também foi o mais frequente em outro estudo (GUNDIM et al.,

2016), no qual foi relatado a frequência de 31,75% de cadelas com estadio I, 19,05% II, 19,05% III, 22,22% IV e 7,93% V, semelhante aos nossos achados referentes aos estádios I, II e III, porém diferindo quanto aos estádios IV e V. Peña et al. (2012) também relataram a ocorrência mais frequente de cadelas no estadio I (64,61%).

Cadelas com estadio I e II apresentaram o maior tempo de SG. Entretanto, cadelas com estadio III apresentaram o menor tempo de SG, mesmo em comparação com cadelas com estadio V. Apesar do tamanho tumoral ser considerado fator prognóstico independente, vários autores relatam pior sobrevida em cadelas com metástases (ARAÚJO et al., 2016; KARAYANNOPOULOU et al., 2005; NUNES et al., 2018; YAMAGAMI et al., 1996). Provavelmente o pequeno número de cadelas em estadio IV (n=8) pode ter gerado viés estatístico.

Cadelas com metástase em linfonodos (estadio IV) apresentaram maior tempo de sobrevida quando comparadas com cadelas que apresentaram metástases à distância (V). Estudos anteriores apontaram menor sobrevida em animais que apresentaram metástases em linfonodos regionais (estadio IV), em comparação com animais que não tiveram linfonodos envolvidos (ARAÚJO et al., 2016), e outros correlacionaram pior prognóstico associado a metástases à distância (estadio V), quando comparadas com os estádios I-IV (KARAYANNOPOULOU et al., 2005; NUNES et al., 2018; YAMAGAMI et al., 1996).

Em relação ao tamanho do tumor primário, a maioria das cadelas apresentaram tumores menores que 3 cm, semelhante aos achados de Nunes et al. (2018), que relataram 50% de tumores menores que 3 cm.

Assim como no presente estudo, Nunes et al. (2018) verificaram maior sobrevida em cadelas que possuíam lesões menores, sendo as classificadas como T3 apresentando menor sobrevida global. Yamagami et al. (1996) também observaram pior prognóstico para animais com tumores entre 3 e 5 cm e maiores que 3 cm (T2 e T3). Já Chang et al. (2005) verificaram que tumores maiores que 5 cm possuíram maior probabilidade de metastizar em linfonodos regionais e Oliveira Filho et al. (2010) verificaram que a malignidade foi correlacionada ao aumento do tamanho do tumor.

Metástases de tumores mamários malignos em cadelas estão presentes em menos de 50% dos cães acometidos (GÓMEZ et al., 2012; GUNDIM et al., 2016; RIBAS et al., 2012), assim como observado no presente estudo, em que 29,66% dos animais apresentaram metástase de carcinoma mamário. Metástase em linfonodos regionais ocorreu em 22% das cadelas no presente estudo, semelhante aos achados de Canadas et al. (2019) que obtiveram

metástases linfonodais em 26,7% dos casos, e Oliveira Filho et al. (2010), com 29,54% dos casos.

Cadelas com metástases viveram menos do que as que não possuíam nenhum tipo de metástase neste estudo, concordando com os achados de outro autor, o qual sugere que metástases para outros tecidos são causas comuns de morte nos cães afetados (RASOTTO et al., 2012).

No presente estudo, a maior proporção de metástases (n=27) foi observada em órgãos distantes (baço - 77,27%; fígado - 13,63%; rim e bexiga – 4,55% cada), enquanto 18,52% das cadelas apresentaram metástase pulmonar. Os resultados encontrados diferem de alguns estudos que consideram o pulmão como sendo o principal sítio metastático de tumores mamários (FIDLER; BRODEY, 1967; SALES; PONTES; CARVALHO, 2005; VON EULER, 2011), seguido pelo fígado, rins, baço, ossos, sistema nervoso central e pleura (VON EULER, 2011). Morris e Dobson (2011) consideram os gânglios linfáticos regionais como sendo o principal foco de metástase de tumores mamários em cadelas, seguidos pelos pulmões, ossos e órgãos abdominais como fígado e rins, o que também difere dos achados do presente estudo, em que a maior parte das cadelas (cerca de 77%) apresentaram o baço como foco metastático. Entretanto, estudos também apontaram o baço e o fígado como os principais focos metastáticos em cães com carcinomas mamários não inflamatórios (CLEMENTE; PÉREZ-ALENZA; PEÑA, 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2010).

O maior número de alterações visualizadas em baço e fígado no presente estudo pode ter ocorrido devido a impossibilidade da realização de biópsia nesses órgãos para confirmação da presença de metástases de carcinoma mamário, sendo os nódulos visualizados na ultrassonografia considerados sugestivos de metástase.

A presença de metástases em linfonodos regionais possui um impacto negativo na sobrevida das cadelas acometidas (CHANG et al., 2005; GOLDSCHMIDT; PEÑA; ZAPPULLI, 2017; HELLMÉN et al., 1993; YAMAGAMI et al., 1996). Embora não tenha ocorrido diferença entre as curvas de sobrevida de cadelas com metástase regional ou à distância, a média de SG das cadelas com metástase em linfonodos se mostrou maior quando comparada à sobrevida de cadelas com metástases distantes, o que também corrobora com outros estudos (QUEIROGA; LOPES, 2002; SORENMO, 2003; YAMAGAMI et al., 1996). Nunes et al. (2018) também encontraram dados semelhantes, com média de SG de 331 e 236 dias em cadelas com metástases em linfonodos regionais e em órgãos distantes, respectivamente, também concordando com os achados do presente estudo.

As cadelas submetidas à quimioterapia adjuvante ao tratamento cirúrgico no presente estudo não apresentaram diferença significativa quanto ao tempo de sobrevida, quando comparadas às cadelas que não receberam terapia quimioterápica. Achados semelhantes foram observados por outros autores (CLEMENTE et al., 2009; MARCONATO et al., 2008; SIMON et al., 2006; TRAN; MOORE; FRIMBERGER, 2014), os quais relataram que não houve diferença significativa na sobrevida de cadelas tratadas com quimioterapia. Entretanto, alguns estudos demonstraram aumento da sobrevida em cadelas submetidas à quimioterapia adjuvante, quando comparadas com aquelas sujeitas apenas ao tratamento cirúrgico (KARAYANNOPOULOU et al., 2001; LAVALLE et al., 2012; SURYAWANSHI, 2021).

Para diagnosticar as metástases distantes dos tumores mamários, no presente estudo foram utilizadas as técnicas de radiografia torácica e ultrassonografia abdominal, para detectar metástases pulmonares e em órgãos abdominais, respectivamente. De acordo com Cassali et al. (2011), a avaliação radiográfica em três projeções (ventrodorsal e laterais direita e esquerda) é recomendada para a detecção de metástases pulmonares. No entanto, a técnica de tomografia computadorizada (TC) da cavidade torácica proporciona maior sensibilidade na detecção de nódulos pulmonares quando comparada à radiografia torácica (EBERLE et al., 2011; OTONI et al., 2010). Esta técnica, porém, é menos utilizada na rotina veterinária devido à disponibilidade limitada e alto custo para sua realização. A necessidade de utilização de anestesia geral nos animais submetidos à TC também é um fator limitante, visto que pode levar à ocorrência de atelectasia pulmonar, diminuindo a visibilidade dos nódulos pulmonares (OTONI et al., 2010; STAFFIERI et al., 2007).

No presente estudo, apenas massas bem delimitadas a partir de 0,5 cm em radiografias torácicas foram consideradas metástases pulmonares. De acordo com Farrow (2003), as alterações pulmonares metastáticas de carcinomas mamários são tipicamente caracterizadas pelo aparecimento de pequenas lesões circulares, podendo surgir nódulos metastáticos de contorno irregular ou lobular (OLIVEIRA, 2002). Nemanic, London e Wisner (2006) afirmaram que o menor tamanho para a detecção de nódulos pulmonares em imagens radiográficas foi de 0,7 a 0,9 cm. Já a tomografia computadorizada (TC) permitiria a detecção de micrometástases em pulmões, nódulos com menos de 0,6 cm de diâmetro (CASSALI et al., 2011; MATOS et al., 2012), e até 0,1 cm em alguns casos (NEMANIC; LONDON; WISNER, 2006). Entretanto, foi relatada a visualização de nódulos pulmonares a partir de 0,5 cm em radiografias torácicas de cadelas com carcinomas mamários, com sensibilidade de 65% na detecção dos nódulos metastáticos (TIEMESSEN, 1989).

Foi observado maior percentual de cadelas com nódulos múltiplos na radiografia torácica (60%) quando comparadas às com nódulo único (40%). Lang et al. (1986) e Miles et al. (1990) também relataram maior número de cadelas apresentando múltiplos nódulos metastáticos pulmonares em comparação com a apresentação de nódulos únicos.

Até o momento, não há estudos correlacionando sobrevida ao tamanho de metástases à distância em cadelas com tumores mamários malignos. No presente estudo, as cadelas apresentaram majoritariamente nódulos metastáticos maiores que 1 cm (59,26%). Apesar da média de SG ter sido menor naquelas cadelas que possuíam nódulos menores que 1 cm, cadelas com metástases maiores que 1,0 cm atingiram a mediana aos 346 dias, antes das cadelas com metástases menores que 1,0 cm e não houve diferença nas curvas de sobrevida considerando o tamanho da metástase.

A ultrassonografia pode ser utilizada quando se suspeita de metástases em órgãos abdominais (CASSALI et al., 2011; MATOS et al., 2012; NOVOSAD, 2013). Assim como observado no presente estudo, outros autores apontaram o baço e o fígado como órgãos com o maior número de alterações em exames ultrassonográficos de cadelas com tumores mamários (BIGIO et al., 2015; SACORNATTANA; DERVISIS; MCNIEL, 2013).

Quanto à detecção de metástases presentes em linfonodos regionais, uma técnica considerada avançada na confirmação da presença de alterações é a biópsia do linfonodo sentinela (BLS), por se tratar de um procedimento capaz de identificar micrometástases (PEREIRA et al., 2008). Aliada a imunohistoquímica (IHQ), a BLS se torna uma técnica mais sensível na detecção de metástases (BOFF et al., 2006). Neste estudo, todos os linfonodos foram examinados após linfadenectomia no momento da mastectomia, com posterior confirmação de metástases através de avaliação histopatológica. Em contrapartida, não foi possível realizar exames complementares para confirmação de metástases pulmonares e abdominais, o que pode ter superestimado estes dados.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, a presença de metástases (regionais ou à distância) em cadelas portadoras de carcinoma mamário influenciou negativamente na sobrevida global desses animais, com pior prognóstico em relação às fêmeas que não possuem nenhuma evidência de metástase.

Cadelas com metástases no pulmão apresentaram menor tempo de sobrevida do que cadelas com metástases em outros locais à distância.

O tamanho dos nódulos metastáticos não influenciou a média de SG das cadelas com tumores mamários. Melhorias nos métodos de detecção de metástases em cães são necessários para se estabelecer as relações entre a influência da presença e do tamanho das metástases na sobrevida de cadelas.

REFERÊNCIAS

- ABDELMEGEED, S.M.; MOHAMMED, S. Canine mammary tumors as a model for human disease. **Oncology Letters**, v.15, p. 8195–8205, 2018.
- ARAÚJO, M.R. 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.
- ARAÚJO, MRD. et al. Quantitation of the regional lymph node metastatic burden and prognosis in malignant mammary tumors of dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 29, n. 5, p. 1360-1367, 2015.
- BEAUVAIS, W.; CARDWELL, J.M.; BRODBELT, D.C. The effect of neutering on the risk of mammary tumours in dogs--a systematic review. **J Small Anim Pract.**, v. 53, n. 6, p. 314-322, 2012.
- BENJAMIN, S. A.; LEE, A. C.; SAUNDERS, W. J. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in Beagles. **Veterinary Pathology**, v. 36, n. 5, p. 423–436, 1999.
- BIGIO, M. A. et al. Detection of comorbidities and synchronous primary tumours via thoracic radiography and abdominal ultrasonography and their influence on treatment outcome in dogs with soft tissue sarcomas, primary brain tumours and intranasal tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 4, p. 433-442, 2015.
- BOFF, M. I. et al. Biópsia de linfonodo-sentinela em câncer de mama – experiência pessoal. **Rev. da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 50, n. 3, p. 211- 216, jul./set. 2006.
- BRØNDEN L.B. et al. Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark. **Veterinary Record**, n.166, p. 586–90, 2010.
- BURRAI, G. P. et al. A Statistical Analysis of Risk Factors and Biological Behavior in Canine Mammary Tumors: A Multicenter Study. **Animals**, v. 10(9), 1687, 2020.
- CANADAS, A. et al. Canine Mammary Tumors: Comparison of Classification and Grading Methods in a Survival Study. **Vet Pathol**, v. 56, n. 2, p. 208-219, 2019.
- CASSALI, G.D. et al. Canine mammary mixed tumours: a review. **Vet. Med. Int.**, v.2012, 2012.
- CASSALI, G. D. et al. C. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.4, n.2, p. 153- 180, 2011.
- CASSALI, G. D. et al. Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine and feline mammary tumors-2019. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 13, n. 3, p. 555–574, 2020.

CHANG S.C. et al. Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998-2002). **Journal of American Veterinary Medical Association**, n. 227, p.1625–9, 2005.

CLEMENTE, M. et al. Survival time of dogs with inflammatory mammary cancer treated with palliative therapy alone or palliative therapy plus chemotherapy. **Vet Rec.**, v.165, p. 78-81, 2009.

CLEMENTE, M.; PÉREZ-ALENZA, M. D.; PEÑA, L. Metastasis of canine inflammatory versus non-inflammatory mammary tumours. **J Comp Pathol.**, v. 143, n. 2-3, p. 157-163, 2010.

COLETO, A.F. et al. Prognostic Value of Occult Isolated Tumour Cells within Regional Lymph Nodes of Dogs with Malignant Mammary Tumours. **J Comp Pathol**, v. 158, p. 32-38, 2018.

DAMASCENO, K. A. et al. Versican expression in canine carcinomas in benign mixed tumours: is there an association with clinical pathological factors, invasion and overall survival. **BMC veterinary research**, v. 8, n. 1, p. 195, 2012.

DOBSON, J.M. et al. Canine neoplasia in the UK: Estimates of incidence rates from a population of insured dogs. **Journal Small Animal Practice**, n. 43, p. 240–246, 2002.

EBERLE, N. et al. Comparison of examination of thoracic radiographs and thoracic computed tomography in dogs with appendicular osteosarcoma. **Vet Comp Oncol**, v. 9, n. 2, p. 131–140, 2011.

EGENVALL, A. et al. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. **Preventive Veterinary Medicine**, 2005.

ELSTON, C.W.; ELLIS, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v. 19, n. 5, p. 403-410, 1991.

FARROW, C.S. Lung neoplasm. In: FARROW, C.S. **Veterinary Diagnostic Imaging: the dog and the cat**. 1. ed. New York: MosbyFarrow CS, 2003, p. 425-437.

FELICIANO, M. A. R. et al. Accuracy of four ultrasonography techniques in predicting histopathological classification of canine mammary carcinomas. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 59, n. 4, p. 1-9, 2018.

FERREIRA, E. et al. The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 4, p. 230–235, 2009.

FIDLER, I. J.; BRODEY, R. S. A necropsy study of canine mammary neoplasms. **J Am Vet Med Assoc**, v. 151, n. 6, p. 710–715, 1967.

FOALE, R.D.; DEMETRIOU, J. Saunders Solutions in Veterinary Practice: **Small Animal Oncology E-Book**. Elsevier Health Sciences, 2010.

FOWLER, E. H.; WILSON, G. P.; KOESTNER, A. Biologic Behavior of Canine Mammary Neoplasms Based on a Histogenetic Classification. **Veterinary Pathology**, v. 11, n. 3, p. 212–229, 1974.

GOLDSCHMIDT, M. et al. Classification and grading of canine mammary tumors. **Veterinary pathology**, v. 48, n. 1, p. 117-131, 2011.

GOLDSCHMIDT, M. H.; PEÑA, L.; ZAPPULI, V. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed. Ames: John Wiley & Sons, 2017, cap. 17, p. 723- 765.

GOLDSTON, R.T.; HOSKINS, J.D. **Geriatrics e gerontologia em cães e gatos**. 1. ed. São Paulo: Roca, 1999. 551p.

GÓMEZ, B. J. et al. Presence of lung metastases in bitches affected by malignant mammary neoplasms in Medellín (Colombia). **Rev MVZ Córdoba**, v. 17, n. 2, p. 2983–2990, 2012.

GONÇALVES, A. D. B. B. et al. Extracapsular extension and tumor implants in lymph nodes with canine mammary carcinoma metastasis: Study of the impact on survival. **Research in Veterinary Science**, v. 139, p. 87–93, 2021.

GREGERSON, K. A. Prolactin: Structure, function, and regulation of secretion. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**, v. 80, n. 4, p. 1703–1726, 2006.

GUNDIM, L.F. et al. Clinical staging in bitches with mammary tumors: influence of type and histological grade. **Canadian Journal of Veterinary Research**, n. 80, p.318–22, 2016.

HAMPE, J. F.; MISDORP, W. Tumours and dysplasias of the mammary gland. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 50, n. 1–2, p. 111–133, 1974.

HART, B.L. et al. Assisting Decision-Making on Age of Neutering for 35 Breeds of Dogs: Associated Joint Disorders, Cancers, and Urinary Incontinence. **Front Vet Sci**, v. 7, n. 388, p. 1-14, 2020.

HELLMÉN, E. et al. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. **Vet Pathol.**, v. 30, n. 1, p. 20-27, 1993.

ITOH, Teruo et al. Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: Differences between small-breed dogs and others. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, n. 3, p. 345–347, 2005.

KARAYANNOPOULOU, M. et al. Adjuvant postoperative chemotherapy in bitches with mammary cancer. **J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.**, v. 48, p. 8596, 2001.

- KARAYANNOPOULOU, M. et al. Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: Application of a human grading method. **J Comp Pathol**, v. 133, p. 246–252, 2005.
- LANG, J. et al. Sensitivity of radiographic detection of lung metastases in the dog. **Vet Radiol**, v. 27, n. 3, p. 74–78, 1986.
- LAVALLE, G.E. et al. Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. **In Vivo**, v. 26, p. 375-379, 2012.
- LAVALLE, G. E. et al. Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: Correlation with angiogenesis and overall survival. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 6, p. 1275–1280, 2009.
- LIM, H. Y. et al. Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. **Veterinary Journal**, v. 203, n. 3, p. 326–331, 2015.
- MACEWEN, E.G. et al. Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. **J Biol Response Mod**. Aug;4(4):418-26. 1985. PMID: 4031952.
- MACPHAIL, C.M. Cirurgia dos sistemas reprodutivos e genital. In: FOSSUM, TW. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4. ed. Elsevier Brasil, 2015, cap. 27, p. 809-814.
- MARCONATO, L. et al. Adjuvant gemcitabine after surgical removal of aggressive malignant mammary tumours in dogs. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, p. 90-101, 2008.
- MATOS, A. J. et al. Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: the need for standardized procedures. **Vet J**, v. 193, n. 1, p. 24–31, 2012.
- MERLO, D.F. et al. Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 22, p.976–84, 2008.
- MILES, K.G. et al. A retrospective evaluation of the radiographic evidence of pulmonary metastatic disease on initial presentation in the dog. **Vet Radiol Ultrasound**, v. 31, n. 2, p. 79-82, 1990.
- MISDORP, W. et al. **Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat**. 2.ed. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1999. p. 3-29.
- MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. In: **Tumors in domestic animals**. Ames: Blackwell, 2002. p.575-606.
- MOE, L. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. **J Reprod Fertil Suppl**. 57:439-43. 2001. PMID: 11787188.
- MORRIS, J.; DOBSON, J. Mammary Gland. In: **Small Animals Oncology**, 1. ed. Blackwell Science, London, 2001, p. 184–191.

NARDI, A. B.; FERREIRA, T. M. M. R.; ASSUNÇÃO, K. A. Neoplasias mamárias. In: DALECK, C. R.; NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 40, p. 726-756.

NEMANIC, S.; LONDON, C. A.; WISNER, E. R. Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 3, p. 508–515, 2006.

NOVOSAD, C. A. Principles of treatment for mammary gland tumors. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 107-109, 2003.

NUNES, F. C. et al. Epidemiological, clinical and pathological evaluation of overall survival in canines with mammary neoplasms. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1714–1722, 2018.

NUNES, F.C. et al. Mixed tumors of the canine mammary glands: Evaluation of prognostic factors, treatment, and overall survival. **Veterinary and Animal Science**, v. 7, n. September 2018, p. 100039, 2019.

OLIVEIRA, A. C. Metástases pulmonares. In: TARANTINO, A. B. **Doenças Pulmonares**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 717-724.

OLIVEIRA, C. M. D. Afecções do sistema genital da fêmea e glândulas mamárias. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015, cap. 175, p. 3645-3678.

OLIVEIRA FILHO, J. C. et al. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

OTONI, C. C. et al. Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. **Acta Vet Scand**, v. 52, n. 1, 2010.

OWEN, L.N. TNM classification of tumors in domestic animals. **World Health Organization**, v.149, Geneva, Switzerland edition, 1980.

PASTOR, N. et al. Prognostic significance of immunohistochemical markers and histological classification in malignant canine mammary tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 753–762, 2020.

PATSIKAS, M. N. et al. The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: A lymphographic study. **Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia**, v. 35, n. 4, p. 228–234, 2006.

PEÑA, L. et al. Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: Relationship to clinical and pathologic variables. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, n. 3, p. 237–246, 1998.

PEÑA, L. et al. Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up: Relationship With

- Clinical and Histological Characteristics. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 1, p. 94–105, 2012.
- PEREIRA, R. J. et al. Solução de carvão ativado e corante vital para a biópsia de linfonodo sentinela em ratos. **Einstein**, v. 6, n. 4, p. 463-466, 2008.
- QUEIROGA, F. L. et al. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 94, n. 1- 3 SPEC. ISS., p. 181–187, 2005.
- QUEIROGA, F.; LOPES, C. Canine mammary tumours, research on new prognostic factors. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v.97, p.119-127, 2002.
- RASOTTO, R. et al. A retrospective study of those histopathologic parameters predictive of invasion of the lymphatic system by canine mammary carcinomas. **Vet Pathol.**, v. 49, n. 2, p. 330-340, 2012.
- RASOTTO, R. et al. Prognostic significance of canine Mammary tumor histologic subtypes: an observational cohort study of 229 cases. **Veterinary Pathology**, v.54, n.4, p.571-578, 2017.
- RUTTEMAN, G.R., WITHROW, S.J., MACEWEN, E.G. Tumors of the mammary gland. In: Withrow SJ, MacEwen EG, editors. **Small animal clinical oncology**. 3 ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 445–77.
- RIBAS, C.R. et al. Alterações clínicas relevantes em cadelas com neoplasias mamárias estadiadas. **Arch Vet Sci**, v. 17, n. 1, p. 60-68, 2012.
- RIBEIRO, G.M. et al. Morphological aspects and immunophenotypic profiles of mammary carcinomas in benign-mixed tumors of female dogs. **Vet. Med. Int.**, 2012.
- SALES, J. P.; PONTES, J. V.; CARVALHO, A. P. Neoplasias primárias do pulmão em canídeos a propósito de três casos submetidos a cirurgia. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, n. 553-554, p. 95-102, 2005.
- SACORNATTANA, O.; DERVISIS, N.G.; MCNIEL, E.A. Abdominal ultrasonographic findings at diagnosis of osteosarcoma in dogs and association with treatment outcome. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 11, n. 3, p. 199-207, 2013.
- SCHNEIDER, Robert; DORN, C. Richard; TAYLOR, D. O. N. Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival. v. 25, 1969.
- SCHNEIDER, R. Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer. **Cancer**, n.26, p.419–426, 1970.
- SEUNG, B. J. et al. Impact of Histological Subtype on Survival in Canine Mammary Carcinomas: a Retrospective Analysis of 155 Cases. **Journal of Comparative Pathology**, v. 186, p. 23–30, 2021.

- SIMON, D. et al. Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumours in dogs with doxorubicin and docetaxel. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, p. 1184-1190, 2006.
- SILVA, P. et al. Ultrasonography for lymph nodes metastasis identification in bitches with mammary neoplasms. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2018.
- SILVER, I. A. Symposium on Mammary Neoplasia in the Dog and Cat—I The Anatomy of the Mammary Gland of the Dog and Cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 7, n. 11, p. 689–696, 1966.
- SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.**, v. 33, n. 3, p. 573-596, 2003.
- SORENMO, K. U. et al. Developing and testing prognostic bio-scoring systems for canine mammary gland carcinomas. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, n. 4, p. 479–488, 2019.
- SORENMO, K. U. et al. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. **Veterinary Pathology**, 2011.
- SORENMO, K.U.; WOERLEY, D.R.; GOLDSCHMIDT, M.H. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW SJ, VAIL DM, PAGE RP, editors. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**, 5th ed. Philadelphia, PA: Saunders Company, 2012, p. 538–556.
- SORENMO, K. U.; WORLEY, D. R.; ZAPPULLI, V. Tumors of the mammary gland. In: **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology** 6 ed. 2020. p. 604-625.
- STAFFIERI, F. et al. Computed tomographic analysis of the effects of two inspired oxygen concentrations on pulmonary aeration in anesthetized and mechanically ventilated dogs. **Am J Vet Res**, v. 68, n. 9, p. 925–931, 2007.
- SURYAWANSHI, R.V. Assessment of Efficacy and Toxicity of Cyclophosphamide Chemotherapy in Canines with Malignant Mammary Tumor: A Retrospective Study. **Vet Med Int.**, v. 2021, p. 1-8, 2021.
- TAVASOLY, A. et al. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. In: **Veterinary research forum: an international quarterly journal**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2013. p. 25.
- TAYLOR, G.N. et al. Mammary neoplasia in a closed beagle colony. **Cancer Res.** Aug;36(8):2740-3. 1976. PMID: 1277183.
- TIEMESSEN, I. Thoracic metastases of canine mammary gland tumors: A Radiographic Study. **Veterinary Radiology**, v. 30, n. 6, p. 249–252, 1989.

TORÍBIO, J.M. et al. Caracterização clínica, diagnóstico histopatológico e distribuição geográfica das neoplasias mamárias em cadelas de Salvador, BA. **Rev. Ceres**, v.59, p.427-432, 2012.

TRAN, C.M.; MOORE, A.S.; FRIMBERGER, A.E. Surgical treatment of mammary carcinomas in dogs with or without postoperative chemotherapy. **Vet Comp Oncol.**, v. 14, n. 3, p. 252-262, 2014.

VASCELLARI, M. et al. Incidence of mammary tumours in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy): Risk factors and similarities to human breast cancer. **Preventive Veterinary Medicine**, n.126, p. 183–189, 2016.

VON EULER, H. Tumors of the mammary gland. In: DOBSON, J.M.; LASCELLES, B. (Eds.). **BSAVA manual of canine and feline oncology**. 3.ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2011. p.237-247.

YAMAGAMI, T. et al. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. **J Vet Med Sci.** 58(11):1079-83. 1996.

YOUNES, R.N. et al. Ressecção cirúrgica de metástases pulmonares: estudo prospectivo em 182 pacientes. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 218-25, 1998.

ZATLOUKAL, J. et al. Breed and age as risk factors for canine mammary tumours. **Acta Veterinaria Brno**, v. 74, n. 1, p. 103–109, 2005.