

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONYK DIAS CARNEIRO

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE DE TUMORES MAMÁRIOS EM CÃES E O USO
DE FÁRMACOS CONTRACEPTIVOS**

UBERLÂNDIA

2022

MONYK DIAS CARNEIRO

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE DE TUMORES MAMÁRIOS EM CÃES E O USO
DE FÁRMACOS CONTRACEPTIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Curso de Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2.

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

UBERLÂNDIA

2022

MONYK DIAS CARNEIRO

**ESTUDO DE CASO-CONTROLE DE TUMORES MAMÁRIOS EM CÃES E USO DE
FÁRMACOS CONTRACEPTIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Curso de Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2.

Uberlândia, 16 de agosto de 2022

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

Prof^ª. Dr^ª. Aracelle Elisane Alves UFU/MG

Dra. Thaisa Reis dos Santos

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus e ao meu anjo da guarda, que sempre se fizeram presentes em todos meus pedidos, tomadas de decisões e dificuldades, mesmo quando eu desacreditei deles e de mim mesma.

Aos meus pais, dedico o mais especial agradecimento, pois a eles devo a vida e tudo que sou. Também a eles devo minha trajetória, sempre me apoiando financeiramente e emocionalmente ao longo desses anos em Uberlândia. A minha mãe Cláudia, agradeço por me ensinar a ser forte, dedicada e perseverante, e também por me lembrar como usar essas qualidades todas as vezes que preciso. Ao meu pai José, agradeço pelo apoio e por sempre se alegrar com cada vitória que tenho.

O próximo agradecimento é a minha querida orientadora Prof^ª. Dr^ª. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi, a fofa. Agradeço por me guiar nesse processo tão importante e ajudar a construir esse trabalho científico tão rico e completo.

Agradeço também ao meu namorado Arthur, por todo suporte durante essa jornada, por sempre me acalmar nos surtos, me alegrar quando precisei e não duvidar de mim, mesmo quando eu mesma duvidei.

Às minhas queridas amigas balanguers, eu agradeço pela companhia durante tanto tempo. Por sempre terem vibrado todas as minhas vitórias, chorado todas as derrotas e terem surtado junto comigo. Em especial a minha companheira de quarto, Letícia, que me permitiu evoluir juntamente com ela em todos os sentidos ao longo desses anos. A minha primeira companheira de quarto, Andrezza, que esteve comigo desde o primeiro dia de curso, confiou em mim mesmo antes de me conhecer. E as minhas grandes parceiras da clínica médica, Yasmin e Denise, das quais tenho muito orgulho em compartilhar todos conhecimentos, carinhos, técnicas, estágios e, em breve, nossa profissão.

Não tem como deixar de agradecer aos meus animais, alguns já não mais presentes nessa dimensão. Branquinha, Pintadinha, Bibi, Mimososa e Ratatoa, a elas eu devo o aprendizado de amor, responsabilidade e atenção que um tutor deve ter com seus pets. Com certeza, me auxiliarão em ser uma profissional mais empática.

Gostaria de agradecer também a tia Ivone, Thaini e Danilo, que mesmo distantes, sempre fizeram a casa deles meu lar, e ajudaram minha mãe nesses anos que estive ausente.

RESUMO

Neoplasias mamárias são os tumores mais prevalentes em cadelas, principalmente aquelas em idade avançada. Sabe-se que os hormônios no ciclo estral possuem influências no desenvolvimento dessas lesões, tanto mediante receptores do próprio tecido mamário, quanto através de liberação de hormônios pituitários, por exemplo hormônio do crescimento (GH). Considerando essa importante atividade hormonal no crescimento de tumores mamários caninos (TMC), o uso de métodos contraceptivos reversíveis que contém essas substâncias é amplamente discutido. Devido a esse possível fator de risco para as neoplasias, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da administração de progestágenos no desenvolvimento de carcinoma mamário das cadelas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET – UFU) atendidas no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020. Outras variáveis de risco também foram analisadas, como a frequência de aplicações, tempo decorrido desde a primeira administração e faixa etária das pacientes. Mediante ao prontuário de atendimento, esses animais foram divididos entre acometidos e não acometidos por TMC, cada grupo foi dividido em outros dois subgrupos que foram com uso de progestágenos e sem uso de progestágenos, obtendo-se assim 4 classificações distintas no trabalho. Utilizou-se o modelo de regressão logística múltipla para estimar a razão de chances (Odds ratio - OR), usando o método de exclusão de variáveis não significativas (backward) para verificar relação entre as variáveis. Através das análises estatísticas, verificou-se que a administração de progestágeno não foi significativa para o desenvolvimento de TMC. A frequência de aplicações e tempo transcorrido desde a primeira aplicação até o atendimento influenciaram no aparecimento das neoplasias. Assim como a idade avançada da cadela também foi comprovada como importante fator de risco para o desenvolvimento tumoral.

Palavras-chave: Neoplasia mamária, canino, Odds ratio, progestágeno.

ABSTRACT

Mammary neoplasms are the most prevalent tumors in female dogs, mostly at that ones with advanced age. It is known that hormones in the estrous cycle have an influence on the development of these lesions, as through receptors in the breast tissue itself, and through the release of pituitary hormones, such as growth hormone (GH). Considering this important hormonal activity in the growth of canine breast tumors (CBM), the use of reversible contraceptive methods that contain these substances are widely discussed. Due to this potential risk factor for neoplasms, the present study aimed to evaluate the influence of progestin administration on the development of mammary carcinoma in bitches at the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia (HOVET - UFU) treated from January of 2019 to December of 2020. Others risk variables were also applied, such as a frequency of applications, time elapsed since first administration and patient's age. Through the medical record, these animals were defined between affected and not affected by CBM, each group was deferred into two other subgroups that were used of progestogens and without use of progestogens, thus obtaining 4 distinct classifications at this research. The multiple logistic regression model was used to estimate the odds ratio (OR), using the method of exclusion of non-significant variables (backward) to verify the rate between the variables. Through the statistics results, it has been verified that progestins administration was not significant for the development of CBM. The use of progestins and the time elapsed since the first application can affect the development of neoplasms. As well as the advanced age of bitches was also proven to be a risk factor for tumor developments.

Keywords: Breast cancer, canine; Odds Ratio; progestins.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 Glândula mamária.....	11
2.2 Fatores de risco para ocorrência de neoplasias mamárias em cadelas.....	12
2.2.1 Idade.....	12
2.2.2 Exposição hormonal.....	13
2.2.3 Outros fatores de risco.....	15
2.3 Classificação histológica e grau histológico.....	15
2.4 Estadiamento tumoral clínico.....	16
2.5 Diagnóstico de tumores mamários.....	17
3. METODOLOGIA	18
3.1 Seleção dos animais	18
3.2 Agrupamento dos animais	19
3.4 Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

O tumor de mama é a neoplasia mais frequente em cadelas intactas (SLEECKX et al., 2011). Estudos indicam que 40% das neoplasias diagnosticadas em cadelas são tumores de mama (MERLO et al., 2008; VASCELLARI et al., 2009) podendo chegar até 54% (VASCELLARI et al., 2016). Assim como nas mulheres, as neoplasias mamárias em cadelas ocorrem espontaneamente e são relacionadas a diversos fatores, como idade e influência hormonal (VASCELLARI et al., 2016; ABDELMEGEED; MOHAMMED, 2018).

Além das similaridades clínicas, as cadelas e mulheres também compartilham características biomoleculares no tumor de mama, como a expressão de receptores esteroides, fator de crescimento epidérmico, mutação do gene supressor de P53, ciclocigenases, entre outros (QUEIROGA, et al., 2011). Devido a todas essas semelhanças, as fêmeas caninas são modelos de estudos para o câncer de mama em mulheres (VASCELLARI et al., 2016).

Por volta de 30 a 50% dos tumores de mama canino (TMC) são malignos (DORN et al., 1968; SORENMO et al., 2000), dos quais a apresentação mais comum são os carcinomas mamários complexos (SCHNEIDER, 1970; DOBSON et al., 2002; MERLO et al., 2008; BRØNDEN et al., 2010; VASCELLARI et al., 2016). Cadelas não-castradas e de idade avançadas são as mais acometidas (SLEECKX et al., 2011; VASCELLARI et al., 2016), dessas fêmeas inteiras, cerca de 70% possuem mais de um tipo tumoral (SORENMO et al., 2009; SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020).

Os hormônios do ciclo reprodutivo das cadelas, como o estrógeno e a progesterona, influenciam o desenvolvimento dos tumores mamários (SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020). Esses hormônios estimulam a proliferação de células do epitélio mamário, ductal e intralobulares, bem como o desenvolvimento de ductos e lóbulos (REHM, STANISLAUS, WILLIAMS, 2007; SANTOS, MARCOS, FAUSTINO, 2010; SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020). O efeito tumorgênico do estrógeno acontece a partir de sua ligação com seus receptores mamários que liberam fatores de crescimento (dependentes de receptores), bem como efeitos genotóxicos que causam mutações celulares (independentes de receptores) (RUSSO, RUSSO, 2006; SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020).

A progesterona aumenta a produção de hormônio do crescimento (GH) e seus receptores mamários, além de aumentar a produção de fator de crescimento semelhante à

Insulina-1(IGF-1), sendo essa relação GH/IGF-1 carcinogênica (DUPONT, LE ROITAN, 2001; GARDEREN, SCHALKENS, 2002; HAMELERS et al., 2002; SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020). Ainda faltam explicações de como esse eixo hormonal desregula-se e causa a tumorigênese, mas é fato que os tumores malignos possuem maiores concentrações de progesterona, estrogênio, GH e IGF-1 (QUEIROGA et al., 2010; SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020).

Uma vez estabelecida a importância da influência hormonal no desenvolvimento do TMC, é imprescindível entender se essa influência também ocorre com o uso de hormônios sintéticos nas terapias hormonais para contracepção. Os medicamentos contraceptivos têm sido amplamente utilizados como forma de evitar a prenhez indesejada. Eles possuem baixo custo e são vendidos sem prescrição médica, o que facilita sua adesão entre os tutores, principalmente de renda média a baixa (BACARDO et al., 2008; SILVA et al., 2012; DIAS et al., 2013, FERNANDES, et al., 2020). Os princípios ativos mais amplamente comercializados no Brasil são megestrol, medroxiprogesterona e a proligestona, que atuam inibindo a secreção de FSH (hormônio foliculo estimulante), LH (hormônio luteinizante), PRL (prolactina) e estrogênio, conseqüentemente impedindo a ovulação e o comportamento sexual (RODRIGUES & RODRIGUES, 2005; LIMA et al, 2009).

Estudos relatam potenciais efeitos adversos do uso de progestágenos sintéticos, principalmente quando utilizados em outras fases do ciclo reprodutivo que não o anestro (SALA, et al., 2021). Alterações em sistema reprodutor são as mais comuns, como distocias, piometras, malformações fetais e neoplasias mamárias. Também podem acontecer outros efeitos sistêmicos, como o desenvolvimento de Diabetes Mellitus, polifagia, obesidade, entre outros (ROMAGNOLI, 2002; GREENBERG et al., 2013; ARAÚJO et al., 2017). Ainda que descrito em muitos estudos, o efeito tumorigênico dos progestágenos sintéticos não está claro, por isso faz-se necessários estudos epidemiológicos com maior quantidade de animais e menores fatores limitantes de estudo (MISDORP, 1988; SALA, et al., 2021).

É evidente a importância dos tumores mamários em cadelas para a medicina veterinária e humana, visto sua vasta ocorrência e por representarem risco à vida para os animais de companhia. Além disto, o cão é modelo de estudo para o câncer de mama em mulheres. Considerando os já elucidados efeitos hormonais na tumorigênese e o hábito recorrente de tutores de administrar hormônios em cães com finalidade de contracepção, faz-se necessário compreender se há relação entre o desenvolvimento das neoplasias

mamárias com administração destes hormônios. Ainda que amplamente discutido, essa relação permanece não resolvida, o que fundamenta a relevância do presente estudo.

Dada a alta frequência de neoplasias mamárias na rotina do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET-UFU), atrelado ao público de tutores que optam pelo uso de fármacos contraceptivos, tem-se o cenário ideal para a investigação desse trabalho. O presente estudo analisou se o uso de fármacos contraceptivos está associado a maior risco de desenvolvimento de tumores mamários em cadelas, bem como sua influência no diâmetro e número de nódulos.

Além do uso de contraceptivos, objetivou-se analisar outros potentes riscos para o desenvolvimento tumoral visto que o uso hormonal não deve ser analisado isoladamente. Verificou-se a influência na frequência de administrações realizadas, investigando se animais mais expostos ao fármaco são mais propensos a desenvolverem TMC. Bem como o tempo transcorrido desde a primeira aplicação, uma vez que os tumores possuem distintos tempos de evolução, investigou-se aplicações mais e menos recentes.

A faixa etária e ovariosalpingohisterectomia (OSH) foram também analisadas, a fim de entender se o uso hormonal é mais perigoso para fêmeas de idade avançada e/ou para aquelas que foram submetidas a mais ciclos estrais, ou seja, receberam influências hormonais endógenas por mais tempo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Glândula mamária

As glândulas mamárias possuem origem embrionária a partir da formação de duas linhas espessas no ectoderme da região axilar a inguinal, chamadas de linhas do leite. Logo abaixo, está localizado o mesoderma, para o qual as células da linha do leite irão migrar e formar uma placa juntamente com as células mesenquimais do mesoderma. Essas placas darão origem as glândulas mamárias individuais (SORENMO et al., 2011).

Nessas placas há células epiteliais, que crescem em direção ao mesênquima subjacente, formando um broto mamário. Esses brotos passam por um processo de cavitação, que irá permitir a comunicação externa da glândula com o meio. A partir desses brotos que são formados os ductos papilares de uma mama adulta. (SORENMO et al., 2011).

Elas são classificadas como glândula túbuloalveolar composta, formada por unidades tubuloalveolares secretórias, as quais formam lóbulos individualizadas por septos de tecido conjuntivo (interstício). Os alvéolos das mamas são esféricos ou ovóides, compostos por um grande lúmen que irá armazenar o leite. O epitélio alveolar libera gotículas de gordura e vesículas proteicas ao centro do lúmen através de secreção apócrina e merócrina, respectivamente. Ao redor das células epiteliais, estão as células mioepiteliais responsáveis pela contração e expulsão do leite para o sistema ductal. A saída do leite é mediada pela ocitocina, secretada pela neurohipófise, a qual irá induzir a contração celular (MONTEIRO-RIVIERE, 2012).

O sistema ductal inicia-se no ducto intralobular, que drena para o ducto interlobular, finalizando no ducto lactífero. Ao redor dos ductos também existem células mioepiteliais para a contração. Esses ductos finalizam-se em seios lactíferos que é contínuo com o seio do teto (cavidade do teto), o qual desemboca nos ductos papilares (canal do teto). Esse canal é revestido por epitélio escamoso estratificado, circundado por feixes de músculo liso que formam o esfíncter que mantém o leite no seio até o estímulo de sucção (MONTEIRO-RIVIERE, 2012). Para o fenômeno da lactação, o tecido ductal se prolifera e há a especialização dos ácinos produtores de leites, de modo que ocorra sua secreção. Isso acontece em cada gestação, logo, após o fim da lactação, esses componentes regridem (SORENMO et al., 2011).

A PRL, secretada pela adenohipófise, estimula a especialização das células alveolares em secretoras. Enquanto os hormônios ovarianos, estrogênio e progesterona, estimulam a mitogênese do tecido mamário e a expansão da glândula. A progesterona estimula a liberação de GH e a produção de seus receptores; este hormônio por sua vez causa proliferação celular e aumento na concentração de IGF-1, que é também agente proliferativo de células mamárias (OLIVEIRA, 2015; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2012).

As fêmeas caninas dispõem de dez glândulas mamárias, organizadas paralelamente a linha média em cinco pares, localizados na região torácica ventral até a região inguinal. Os pares craniais são nomeados como torácico cranial (M1) e caudal (M2), enquanto os pares abdominais M3 e M4 são, receptivamente, mamas abdominais craniais e caudais. Por fim, o último par de glândulas são as inguinais, também nomeadas de M5. No entanto, existem variações anatômicas e algumas fêmeas podem apresentar maior ou menor quantidade de pares de glândulas (SILVER, 1966).

Os pares de mamas M1 e M2 possuem drenagem linfática, principalmente, para os linfonodos axilares ipsilaterais e, em raros casos, para os linfonodos esternais ipsilaterais. A linfa das mamas M3 é drenada tanto para o linfonodo axilar ipsilateral, quanto para superficial inguinal. Mas pode também ser drenada para os linfonodos inguinais e ilíacos mediais, ambos ipsilaterais. As glândulas M4 são drenadas pelo linfonodo superficial inguinal ipsilateral, podendo também ser drenada pelo axilar ipsilateral simultaneamente. Por último, a drenagem de M5 é direcionada para o linfonodo inguinal superficial ipsilateral, mas pode também ser direcionada ao linfonodo poplíteo ipsilateral e para o plexo linfático na face medial da coxa ipsilateral (PATSIKAS et al., 2006).

2.2 Fatores de risco para ocorrência de neoplasias mamárias em cadelas

Há uma série de fatores que contribuem para o risco de desenvolvimento de neoplasias mamárias, destacando-se idade, raça, exposição hormonal e em menor grau obesidade e tipo de dieta (SORENMO et al., 2011; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013).

2.2.1 Idade

Fêmeas caninas de meia-idade e idosas estão mais propensas a desenvolverem tumores mamários, principalmente quando não castradas jovens (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Essas neoplasias são raras em fêmeas com menos de 5 anos de idade, a não ser que elas tenham sido submetidas a tratamentos com progestágeno exógeno (SCHNEIDER, 1970; TAYLOR et al., 1976). O risco de desenvolvimento tumoral torna-se mais evidente por volta de 8 anos de idade, aumentando proporcionalmente com a idade do animal (TAYLOR et al., 1976). Nas fêmeas de 9 a 13 anos, essa é uma enfermidade com significativa prevalência (DORN et al., 1968; SORENMO et al., 2011). As cadelas diagnosticadas com tumores malignos geralmente são mais idosas do que aquelas diagnosticadas com tumores benignos (GOLDSCHMIDT, SHOFRER, SMELSTOYS, 2001; SORENMO et al., 2009).

Como as raças possuem distintos picos de vida útil, o fator de risco idade varia de acordo com o porte racial. Por exemplo, fêmeas de grande porte possuem menor tempo de vida, logo podem desenvolver TMC mais precocemente quando comparado com fêmeas de pequeno a médio porte (SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020).

2.2.2 Exposição hormonal

É sabido que o desenvolvimento e maturação mamária fisiológica é mediado pelos hormônios esteroides (progesterona e estrogênio), GH e PRL. Os hormônios esteroides estimulam a proliferação epitelial do tecido mamário, bem como o desenvolvimento dos ductos e lóbulos (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Acredita-se no potencial carcinogênico desses mesmos hormônios, uma vez que o que o estrogênio estimula a liberação de fatores de crescimento quando ligado em seus receptores mamários, além disso, possui feitos genotóxicos responsáveis por mutações celulares. A progesterona estimula a liberação de GH, causando crescimento direto do tecido mamário quando ligado aos seus receptores nesse tecido. Indiretamente, o GH também estimula o crescimento mamário a partir da liberação de IGF-I (SORENMO; WORLEY; ZAPPULLI, 2020).

A PRL é responsável pela diferenciação das células alveolares em secretoras, resultando na lactogênese e secreção de leite (GREGERSON, 2006). Os hormônios esteroides e a PRL são potenciais estimuladores do desenvolvimento de TMC (QUEIROGA et al., 2005).

Por isso, vários estudos investigam a relação da castração precoce com a diminuição da incidência tumoral, visto que a cadela será menos exposta aos hormônios durante o ciclo reprodutivo. A cada ciclo estral, as chances de desenvolvimento tumoral aumentam. Fêmeas caninas ovariectomizadas antes do primeiro estro possuem 0,5% de chance de desenvolverem neoplasias mamárias, enquanto aquelas ovariectomizadas após o primeiro estro possuem 8% de probabilidade. Já as fêmeas submetidas a ovariectomia apenas após o segundo estro possuem 26% de chance de desenvolverem TMC (SCHNEIDER et al., 1969).

Além dos hormônios endógenos do ciclo reprodutivo da fêmea, existem os hormônios sintéticos administrados como contraceptivos. Os princípios ativos mais frequentemente comercializados são acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona e a combinação de acetato de megestrol e etinilestradiol, (HORZHEIEV et al., 2013). Considerada a importância da progesterona no desenvolvimento do tecido mamário, entende-se que o uso de seus derivados sintéticos precisa ser prescrito por Médico veterinário. No entanto, não é a realidade encontrada no Brasil, visto que esses medicamentos podem ser adquiridos sem receituário e com baixo custo. Isso implica em seu uso descontrolado, aumentando os efeitos colaterais dos princípios ativos (BACARDO et al., 2008; SILVA et al., 2012; DIAS et al., 2013; FONSECA et al., 2014).

A administração desses hormônios, principalmente quando a fêmea não está em anestro, pode acarretar severas consequências. No cão e no gato, muitos dos estudos relacionando hormônios e neoplasia mamária são contraditórios (GOLDSCHMIDT; PEÑA; ZAPPULI, 2017). Em um estudo retrospectivo, observou-se que das cadelas que fizeram uso de terapia hormonal, mais de 60% desenvolveram formações malignas (OLIVEIRA-FILHO et al., 2010) Støovring e colaboradores (1997) observaram em um estudo caso-controle que 39% das fêmeas que fizeram uso de acetato de medroxiprogesterona desenvolveram neoplasias mamárias, em comparação, 21% das fêmeas sem histórico de uso hormonal desenvolveram esses tumores. De três estudos clínicos retrospectivos (VAN ET AL., 1981; MISDORP, 1988; KOCH, 1989), um deles não observou relação entre o desenvolvimento tumoral e a administração hormonal (KOCH, 1989).

No entanto, a maioria dos estudos epidemiológicos sobre o uso hormonal carecem de melhores dados epidemiológicos, como frequência de administração, momento de aplicação no ciclo, princípio ativo utilizado, entre outros. Além disso, a maioria dos estudos clínicos realizados tiveram período de observação muito curto (STØOVING, MOE, GLATTRE,

1997). Desse modo, a confirmação da relação do uso de contraceptivos em cadelas com desenvolvimento tumoral é dificultosa (MISDORP, 1988; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; SALA, et al., 2021).

2.2.3 Outros fatores de risco

Existem outros fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias mamárias, como raça e a obesidade. Algumas raças apresentam maior predisposição para o desenvolvimento dessas formações, como Poodle, Dachshund, Yorkshire Terrier, Cocker Spaniel, Pastor Alemão, Boxer e Fox Terrier. As fêmeas caninas sem raça definida (SRD) também apresentam alta incidência de TMC (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). De modo geral, esses tumores são mais recorrentes em cães de raças pequenas (ITOH et al., 2005).

As fêmeas obesas estão também mais predispostas ao desenvolvimento de neoplasias mamárias. Estudos mostram que o tecido adiposo pode aumentar os níveis séricos de estrógeno livre, tanto por reduzir os hormônios sexuais circulantes ligados a globulina, quanto por produzir estrógeno via aromatase (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). Em geral, as fêmeas obesas ou em sobrepeso desenvolvem tumores mamários mais jovens que fêmeas de escore corporal ideal (LIM et al., 2015).

2.3 Classificação histológica e grau histológico

Existem muitas atualizações para a classificação histológica dos tumores mamários, considerando os avanços científicos na imunohistoquímica e biologia molecular (HAMPE; MISDORP, 1974; MISDORP et al., 1999). Segundo Goldschmidt et al. (2001), os tumores serão denominados “simples” quando forem constituídas por apenas um tipo celular, similares às células epiteliais luminiais ou mioepiteliais. As neoplasias serão denominadas “complexas” constituídas pelos tipos celulares luminiais e mioepiteliais.

As neoplasias malignas são àquelas de pior prognóstico e maiores riscos metastáticos, variando entre elas o grau de malignidade. Os carcinomas mistos, simples e complexos são neoplasias malignas mais recorrentes. Os carcinomas mistos são os menos agressivos, seguidos dos carcinomas complexos e, por fim, o carcinoma simples que é o mais agressivo. Quanto

maior a agressividade e malignidade, pior o prognóstico (GOLDSCHMIDT et al. 2011; TAVASOLY et al., 2013).

Por outro lado, as neoplasias benignas apresentam melhor prognóstico e menores riscos metastáticos. Os tumores benignos mais comuns são adenomas complexos e adenomas simples (GOLDSCHMIDT et al., 2011).

Além da classificação histológica, as neoplasias são graduadas de acordo com suas características morfológicas, sendo elas: formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica. São divididas em três graduações, a primeira (grau I) são formações mais diferenciadas, seguidos do grau II que se trata de formações relativamente diferenciadas e o grau III, formações pouco diferenciadas. Graus histológicos mais elevados implicam em tumores mais agressivos, apresentando pior prognóstico, maiores recidivas, redução da sobrevida global e maiores taxas metastáticas (TAVASOLY, 2013).

2.4 Estadiamento tumoral clínico

Faz-se o estadiamento tumoral com a finalidade de conhecer o prognóstico do paciente e elaborar o protocolo de tratamento. As neoplasias mamárias são estadiadas a partir de três critérios: tamanho do tumor primário, acometimento de linfonodos regionais e a existência de metástases a distância (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016). O padrão de estadiamento utilizado é o sistema TNM do Owen (1980), que abrange os três critérios: tumor; N: linfonodo e M: metástases, o qual foi adaptado por oncologistas veterinários de modo a atender melhor essa área (SORENMO; WORLEY; ZAPPULLI, 2020).

De acordo com o tamanho tumoral primário, o tumor pode ser classificado em T1, T2 e T3 se medir, respectivamente, menos que 3 cm, entre 3 e 5 cm e mais que 5 cm. Quanto a presença de metástase em linfonodo regional, o tumor será classificado em N0 em caso de ausência e em N1 em caso de acometimento de linfonodos. Assim como para as metástases a distância, o animal será classificado em M0 se as metástases estiverem ausentes e em M1 se estiverem presentes (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Com base nessas classificações, atribui-se o estágio da neoplasia. Conforme demonstrado na tabela 1, os estádios de 1 a 3 são de acordo com tamanho tumoral. O estágio 4 refere-se a presença de acometimento de linfonodo regional, enquanto o estágio 5 refere-se a

presença de metástases a distância, independentemente do tamanho da formação (DE 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 Diagnóstico de tumores mamários

O diagnóstico tumoral inicia-se com o histórico e resenha da cadela, principalmente a consideração de sua faixa etária e outros fatores predisponentes. No exame físico, as mamas sempre precisam ser minuciosamente palpadas, principalmente os pares caudais, pois os tecidos mais extensos estão mais propensos às alterações (BENDER, DORN, SCHNEIDER, 1984; BENJAMIN, LEE, SAUNDERS, 1999, SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020). Juntamente, deve-se realizar a palpação da região entre mamas e linfonodos regionais palpáveis. Os linfonodos indicam a presença de metástase, eles devem ser analisados em relação ao volume, temperatura e sensibilidade (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; FOWLER; WILSON; KOESTNER, 1974).

Quando identificados nódulos mamários, é necessário exames específicos para a confirmação do diagnóstico. A citopatologia dos nódulos é um exame de triagem e pouco invasivo, que diagnostica o tipo de célula presente na formação, auxiliando na indicação ou não de mastectomia e na exclusão de diagnósticos diferenciais (CASSALI et al., 2007; SIMON et al., 2009). O exame histopatológico reconhece o tipo histológico em proliferação, sendo o mais sensível para o diagnóstico (SIMON et al., 2009).

Exames complementares devem ser realizados para avaliação do estado clínico geral da cadela, a fim de investigar a presença de metástases e estadeá-la clinicamente. São indicados exame citopatológico dos linfonodos regionais, para identificação de metástases regionais

(CASSALI et al., 2007; SIMON et al., 2009), bem como exames laboratoriais (hemograma e bioquímicos), radiografia torácica e, em certas circunstâncias, ultrassonografia abdominal, para a pesquisa de metástases e estadiamento tumoral (SORENMO, WORLEY, ZAPPULLI, 2020).

O estadiamento clínico é um meio de estabelecer o prognóstico da paciente, no entanto outros fatores prognósticos devem ser considerados, tais como comportamento biológico, tipo e grau histológico, além da expressão molecular que é analisada através de imunohistoquímica ou outros métodos (SORENMO et al., 2019).

3. METODOLOGIA

3.1 Seleção dos animais

Foi realizado estudo de caso-controle retrospectivo de base populacional utilizando os registros de cadelas atendidas no HOVET-UFU, no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020. Foram selecionados os registros de cadelas sem alterações mamárias, submetidas ou não a terapia hormonal, e de cadelas com carcinoma mamário, também submetidas ou não a terapia hormonal. A seleção foi feita a partir da avaliação da ficha clínica do animal e coleta de dados epidemiológicos (raça, idade), dados clínicos e reprodutivos (administração de contraceptivos progestágenos, realização de ovariosalpingohisterectomia). As cadelas do grupo controle (sem neoplasias mamárias) foram selecionadas dentre cães hípidos que foram encaminhados ao HOVET-UFU para procedimentos de rotina como vacinação, vermifugação e castração preventiva.

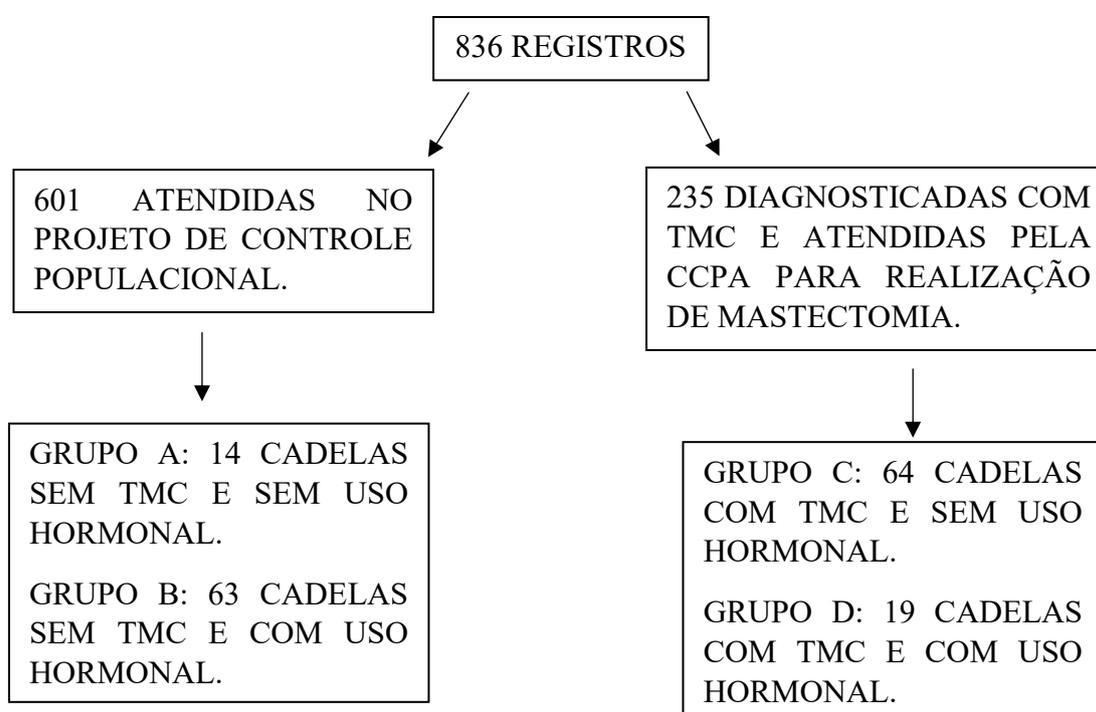
Os critérios para inclusão de casos foram: no caso de cadelas com neoplasias mamárias, que o diagnóstico seja um tipo tumoral maligno confirmado com exame histológico ou citológico; as cadelas sem neoplasias mamárias (grupo controle) não poderiam apresentar, no momento da avaliação clínica, nódulos mamários ou outro tipo de neoplasia (exceto lipomas) ou histórico de tumores mamários. Quando a fêmea apresentava exame citológico e histopatológico, o resultado desse segundo era considerado.

A informação do uso ou não de contraceptivos foi fornecida pelo proprietário quando do atendimento clínico das cadelas. Foi considerada terapia hormonal a administração de contraceptivos progestágenos há pelo menos um mês antes do atendimento no HOVET-UFU.

3.2 Agrupamento dos animais

Foram analisados 836 registros de cadelas atendidas no HOVET-UFU no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020 e, dentre estas, 601 eram cadelas que participaram do projeto de controle populacional do HOVET-UFU e foram submetidas ao procedimento de castração eletiva. As 235 cadelas restantes foram diagnosticadas com tumores mamários e encaminhadas para mastectomia.

Fluxograma do agrupamento das fêmeas caninas selecionadas para o estudo caso-controle comparando uso hormonal e desenvolvimento de tumor mamário.



Selecionou-se apenas 160 cadelas que atendiam aos critérios de inclusão, sendo esses animais divididos em 4 grupos: Grupo A: 14 animais sem tumores mamários e sem histórico de uso de progestágeno; Grupo B: 63 animais sem tumores mamários e com histórico de uso de progestágeno; Grupo C: 64 animais com presença de tumores mamários e sem histórico de uso de progestágeno; Grupo D: 19 animais com presença de tumores mamários e com histórico de uso de progestágeno.

3.4 Análise estatística

Utilizou-se o modelo de regressão logística múltipla para estimar a razão de chances (Odds ratio - OR), usando o método de exclusão de variáveis não significativas (backward) para verificar se as variáveis aplicação de progestágenos, o número de aplicações, o tempo transcorrido desde a aplicação e a idade foram previsores para a ocorrência de tumor de mama em cadelas. A razão de chances foi obtida com intervalo de confiança de 95%. Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

OR fornece uma medida da força da associação entre duas variáveis, assim considerou-se $OR=1$ como sendo nenhuma associação, $OR > 1$ sendo uma associação positiva e $OR < 1$ sendo uma associação negativa (GEORGE, STEAD, GANTI, 2020).

4. RESULTADOS

Cento e sessenta cadelas ($n=160$) foram incluídas no estudo e a média de idade dos animais selecionados foi de 7 anos, variando de 0 a 18 anos, sendo a maioria adultos (51,9%). Quanto ao estado reprodutivo, apenas seis animais passaram por ovariosalpingohisterectomia (OSH) antes do atendimento. Pela baixa frequência de castrações, essa variável não foi analisada estatisticamente, visto que as fêmeas castradas representam pouco menos de 4% de toda população do estudo.

Com relação à administração de progestágenos, 82 (51,25%) cadelas receberam progestágenos como método contraceptivo pelo menos uma vez na vida, enquanto 78 (48,75%) nunca receberam tratamento hormonal (Tabela 2). A maioria dos animais recebeu uma única aplicação do fármaco (69,51%) e 52 (63,51%) cadelas receberam o progestágeno recentemente, até 6 meses antes da consulta.

Oitenta e três cadelas apresentaram carcinoma mamário em pelo menos uma das mamas (51,9%), sendo que 53 (63,86%) desenvolveram lesões superiores a 3 cm e 44 (53%) cadelas apresentaram mais de três lesões (Tabela 2). Como a minoria dos animais apresentaram exclusivamente formações benignas ($n=6$), essas fêmeas foram excluídas do estudo visto que essa quantidade representaria menos que 4% da amostragem do trabalho, resultando em valores estatísticos insignificantes.

Dentre as fêmeas diagnosticadas com carcinoma mamário e incluídas do estudo (n= 83), dezoito (21,69%) possuíam concomitantemente diagnóstico de neoplasia benigna, das quais 88% nunca fizeram uso de contraceptivos (Tabela 2).

Tabela 2. Dados sobre uso de progestágenos e ocorrência de carcinomas mamários em 160 cadelas atendidas no HOVET- UFU no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020.

ADMINISTRAÇÃO DE PROGESTÁGENOS (n=160)	
Sim	82 (51,25%)
Não	78 (48,75%)
NÚMERO DE APLICAÇÕES DE PROGESTÁGENOS (n=82)	
1	57 (69,51%)
≥ 2	25 (30,49%)
TEMPO DECORRIDO DESDE A PRIMEIRA APLICAÇÃO (n=82)	
Até 6 meses	52 (63,41%)
Mais de 6 meses	30 (36,59%)
PRESENÇA DE CARCINOMA MAMÁRIO (n=160)	
Sim	83 (51,9%)
Não	77 (48,1%)
PRESENÇA DE NEOPLASIA BENIGNA (n=83)	
Sim	18 (21,69%)
Não	65 (78,31%)
TAMANHO DE LESÕES (n=83)	
≤ 3 cm	30 (36,14%)
> 3 cm	53 (63,86%)
NÚMERO DE LESÕES (n=83)	
≤ 3 lesões	39 (47%)
> 3 lesões	44 (53%)
IDADE (n=160)	
Filhote (até um 1 ano)	17 (10,6%)
Adulto (de 1 a 9 anos)	83 (51,9%)
Idoso (mais que 9 anos)	60 (37,5%)
OVARIOSALPINGOHISTERECTOMIA PRÉVIA AO ATENDIMENTO (n=160)	
Sim	6 (3,75%)

Não

154 (96,25%)

Ao analisar a chance de desenvolver carcinoma mamário de acordo com a exposição às variáveis supracitadas, verificou-se por meio do modelo de regressão logística múltipla, usando o método de exclusão de variáveis não significativas (backward), que o modelo adequado para explicar a ocorrência de carcinoma mamário contempla as variáveis independentes uso de progestágeno, número de aplicações de progestágeno e idade. As demais variáveis não contribuíram significativamente para o modelo.

Quando as variáveis número de aplicações e a idade são constantes, não houve relação entre a administração de progestágeno e a chance de desenvolver carcinoma de mama (OR: 0,002; IC: 0,00-0,055) ($P < 0,00$). Com as variáveis idade e uso de progestágeno constantes, as chances de desenvolvimento de carcinoma de mama aumentam em 10,24 vezes a cada aplicação (OR: 10,24; IC: 1,707-61,431) ($P < 0,01$). Com relação à idade, mantendo as variáveis uso de progestágeno e número de aplicações constantes, as cadelas adultas possuem 86,50 mais chances de desenvolverem TMC comparado aos filhotes. Do mesmo modo que cadelas idosas possuem 86,50 mais chances comparado às adultas (OR: 86,50; IC: 14,2-526,99) ($P < 0,00$).

Avaliou-se também a razão de chances (*odds ratio*) de desenvolvimento de carcinoma mamário de acordo com a variável tempo decorrido desde a primeira aplicação de progestágeno. Verificou-se que os animais que receberam progestágeno pela primeira vez há mais de 6 meses possuem 5,86 vezes maior probabilidade de desenvolverem carcinoma mamário (OR: 5,86; IC: 1,921-17,895). Dentre as cadelas do estudo que receberam progestágeno há menos de 6 meses, 88% não apresentavam carcinoma mamário; enquanto aquelas com neoplasia mamária, 68% receberam progestágeno há mais de seis meses, indicando que a maioria das cadelas sem carcinoma mamário receberam progestágeno há menos tempo.

Na avaliação da razão de chances de ter tumores maiores de acordo com a variável uso de progestágenos, verificou-se que não relação entre estas variáveis (OR: 0,962; IC: 0,332-2,784). Por outro lado, avaliando-se a relação entre o número de nódulos mamários e uso de progestágenos, verificou-se que os animais que receberam tratamento hormonal possuem probabilidade 2,3 vezes maior de apresentarem maior número de nódulos comparado aos animais que nunca fizeram uso de hormônios sintéticos (OR: 2,3; IC: 0,780-6,822).

5. DISCUSSÃO

Na população das fêmeas caninas estudada, não houve relação entre a administração de progestágeno e a chance de desenvolver carcinoma de mama (OR: 0,002; IC: 0,00-0,055) ($P < 0,00$). As cadelas que fizeram uso hormonal representam apenas 22,89% das oitenta e três diagnosticadas com carcinoma mamário. O que contradiz os resultados encontrados por Støovring et al. (1997), os quais obtiveram em um estudo caso-controle um número maior de cadelas com tumores mamários que recebeu injeções acetato de medroxiprogesterona de MPA (OR: 2,32; $P = 0,008$), representando 39% das fêmeas diagnosticadas com TMC. Do mesmo modo que Finkel e Berliner (1973) observaram efeito altamente tumorigênico e metastático nos animais do experimento que fizeram uso desse mesmo princípio ativo.

No entanto, nesse último estudo, o efeito observado foi relacionado com a alta dosagem e frequência de exposição (FINKEL, BERLINER, 1973). No que se refere ao desenvolvimento de neoplasias mamárias e uso de progestágenos, há controvérsia sobre esta relação. São escassos os estudos controlados, com amostras adequada de indivíduos, que testaram o efeito dos progestágenos sobre o desenvolvimento de tumores mamários por meio da administração controlada dos hormônios e com maior período de observação clínica (STØOVRING, MOE, GLATTRE, 1997).

O resultado obtido também contradiz com a palestra ministrada por Romagnoli (2002) no Veterinary Sciences Congress. O autor relatou que os progestágenos mostram uma variedade de ação no sistema reprodutivo como hiperplasia do parênquima mamário e que enquanto a maioria das cadelas e gatas podem tolerar bem períodos de tratamento de mais de 6 meses, animais com uma doença pré-existente, como lesão/tumor mamário microscópico podem ver sua condição piorar rapidamente como resultado do tratamento com progestágenos.

Romagnoli (2002) associa os progestágenos não ao início do tumor mamário, mas sim à sua progressão. Todavia, essa conclusão foi advinda apenas de sua fala durante a exposição, não possuindo experimentos e comprovação científica mediante análises estatísticas.

Considerando a relevância e precisão da análise matemática, no presente estudo propôs-se avaliar o efeito dos progestágenos sobre o desenvolvimento de tumores mamários utilizando ferramentas estatísticas adequadas, pois estas são utilizadas na literatura médica na tentativa de ajudar os profissionais a fazerem inferências sobre uma determinada intervenção ou associação entre variáveis ou o efeito de uma intervenção ao longo do tempo e, assim, tomar decisões sobre

o cuidado ao paciente. Conforme realizado nos seguintes estudos também caso-controle (MUNSELL, et al. 2014; PARADA et al., 2022; VON AU et al., 2022).

Em um dos raros estudos controlados sobre a influência de progestágenos sobre desenvolvimento de tumores mamários, Concannon e colaboradores (1981) utilizaram doses de 0,2 a 75 mg/kg de MPA uma vez a cada 3 meses por 1 a 1,5 anos. Doses de 10 e 75 mg/kg induziram desenvolvimento de múltiplos nódulos mamários grandes (> 5 mm de diâmetro) sendo que o tamanho foi relacionado com a dose e se desenvolveram precocemente em cães mais velhos do que em mais jovens.

Esse resultado também contradiz o resultado encontrado no presente trabalho, todavia, todas as neoplasias desenvolvidas pelas cadelas eram benignas (hiperplasia lobular, adenomas simples ou adenomas complexos) e não foram encontrados tumores malignos. Ademais, estes autores utilizaram doses maiores do que aquelas comumente utilizadas para fins contraceptivos no Brasil. O progestágeno mais vendido nos estabelecimentos brasileiros é o MPA e as dosagens variam de dosagem única de 50 mg por animal (Anticion - UCBVET, Brasil) a dose de 5mg/kg a 10mg/kg (Inibidex - LAVIZOO, Brasil).

Existem ainda mais estudos controversos, que relatam a associação dos hormônios com o desenvolvimento de neoplasias. Porém, esses estudos são baseados em amostras pequenas e sem validação estatística, portanto, podem trazer confusão ao entendimento do real efeito dos progestágenos. Dias et al (2013) utilizando dados fornecidos por proprietários de apenas 62 cadelas, sendo que destas somente 13% haviam recebido progestágenos, relataram que o uso destas drogas causou efeitos indesejáveis em duas fêmeas unicamente. Além do mais, os autores não utilizaram meios estatísticos para validarem esta informação.

No mesmo viés, Honório et al (2017) analisaram a prevalência e as principais implicações associadas ao uso de anticoncepcionais em cadelas e verificaram que das 247 cadelas que possuíam neoplasia de mama, havia a informação fornecida pelo proprietário que 16,2% haviam recebido anticoncepcional. Esse estudo também não possui validação estatística, além basear-se somente em um único grupo de cadelas, ou seja, não detinham de grupo controle sem diagnóstico de tumores mamários.

Ainda em contradição, Van Os e colaboradores (1981) verificaram a incidência, tamanho e localização dos nódulos mamários de cadelas nas quais o estro foi controlado com proligestona ou MPA. Os autores relataram que os animais medicados com MPA tiveram maior incidência de nódulos mamários quando comparados com o grupo controle e com grupo

medicado com proligestona. Porém, nesse estudo não foram realizadas análises histológicas ou citológicas para o diagnóstico de tumores mamários malignos. Concluiu-se partindo do pressuposto de que nódulos acima de um determinado tamanho são malignos, que o controle do estro com MPA estimula o desenvolvimento tumoral. Desse modo, não se têm resultados realmente fidedignos sobre a influência dos hormônios sob tumores malignos.

Misdorp (1988) realizou um estudo caso-controle mediante ao histórico clínico de oito clínicas veterinárias. Foram analisadas 2.031 cadelas, das quais 576 possuíam tumor mamário e 1.455 pertenciam ao grupo controle. Nessas clínicas foram utilizados MPA e proligestona, sendo considerado tratamento regular aquele que acontecia duas vezes ao ano antes do início do estro. Em concordância com alguns trabalhos supracitados, observou-se que após a administração de progestágenos, as cadelas possuem maior risco de desenvolvimento tumoral ($P=0,032$). No entanto, não observou relação entre esses fármacos e o aparecimento de tumores malignos ($P=0,92$). A relação de tumores malignos/benignos não se diferiu entre os grupos estudados (regular, irregular e controle), sendo esse resultado similar ao do presente estudo.

Considerando que é alta a incidência de tumores mamários malignos espontâneos no cão os autores Kwaplen e colaboradores (1980) não puderam afirmar que os compostos esteróides foram verdadeiros cancerígenos ou atuavam como promotores em seu trabalho. Eles realizaram um experimento de longo prazo pela Food and Drug Administration em cães fêmeas da raça Beagle para avaliar a potencial tumorigênese de certos esteroides contraceptivos. Um total de 172 cães tratados via oral por cinco anos e 18 cães controle foram avaliados e os compostos progesteracionais testados foram derivados halogenados de 19-nortestosterona e um derivado 17-acetoxi de progesterona (acetato de anagestone) associados a estrogênios.

Finkel e Berliner (1973) administraram anticoncepcional em Beagles e primatas por cinco anos. Como apenas uma primata apresentou um único nódulo durante o estudo, apenas as fêmeas caninas tiveram os resultados discutidos na pesquisa. Cada grupo de cadela foi submetido a distintas apresentações comerciais de contraceptivo humano, em doses de uma, duas, dez ou vinte e cinco vezes a dose humana em mg/kg. Em concordância com o resultado apresentado nesse trabalho, diversas formas comerciais não apresentaram relação com o desenvolvimento de neoplasias mamárias malignas. O acetato de megestrol apresentou efeitos tumorgênicos apenas após dois anos de experimento, porém essas formações foram diagnosticadas como benignas no exame histopatológico.

O efeito dos hormônios sobre a carcinogênese mamária deve ser avaliado sob vários aspectos. Na carcinogênese hormonal a proliferação celular não necessita de um agente iniciador específico, diferente daquela induzida por vírus ou agentes químicos. Os hormônios induzem proliferação celular com consequentes mutações genéticas que dão origem à célula neoplásica (MEUTEN, 2002). No entanto, para CARREÑO et al. (1999), a participação dos hormônios na carcinogênese se restringe à proliferação das células já transformadas por outros carcinógenos. Assim, o desenvolvimento do tumor mamário em cadelas seria evento já programado nos primeiros anos de vida, sendo influenciado pelo estímulo hormonal na maturidade.

Outros fatores, como número de receptores hormonais, podem ser mais relevantes para o desenvolvimento de neoplasias mamárias. O efeito dos esteróides ovarianos em cadelas é principalmente mediado por receptores expressos no tecido mamário. Receptores de progesterona (PR) e estrogênio (ER) estão presentes tanto em tecido mamário normal como em neoplásicos (GAMA et al., 2008; CHANG et al., 2009). No entanto, a presença de ER é significativamente maior em tumores benignos em comparação com malignos (YANG et al., 2006; CHANG et al., 2009). Da mesma forma, há redução na expressão dos PR em tumores malignos quando comparados com lesões benignas (MILLANTA et al. 2005; CHANG et al., 2009).

Destarte, o desenvolvimento tumoral mediado pelo uso de contraceptivos não deve ser avaliado isoladamente, mas sim em conjunto com outras circunstâncias como dosagem, frequência e tempo de uso, assim como realizado nesse trabalho. É importante a compreensão da individualidade de cada cadela, visto que sua faixa etária, fertilidade e fase do ciclo estral são também influentes para o início ou não da carcinogênese.

A influência do progestágeno no desenvolvimento dos tumores mamários deve ser analisada em conjunto com outras variáveis importantes, como a idade e o número de aplicações (ROMAGNOLI, 2002; GREENBERG et al., 2013; ARAÚJO et al., 2017). No presente estudo o número de aplicações influenciou o desenvolvimento tumoral, uma vez que a chance de desenvolvimento tumoral aumenta mais de 10 vezes a cada aplicação. Dentre as fêmeas que fizeram uso hormonal mais de uma vez (n=25; 30,49%), mais da metade (n=13) desenvolveram carcinoma mamário.

Midorp (1988) também observou similar relação dose-efeito para o desenvolvimento de neoplasias mamárias, visto que cadelas tratadas regularmente com o progestágeno possuíam

maiores riscos (OR= 1,47) de desenvolverem tumores do que aquelas tratadas irregularmente (OR= 1,30). Em um estudo com acetato de medroxiprogesterona, foi relatada semelhante associação, as altas dosagens influenciaram o aparecimento de tumores mamários de maiores diâmetros em cadelas de idade mais avançada (CONCANNON et al., 1981).

Em concordância com os resultados obtidos frente a frequência de administração, Kwaplen e colaboradores (1980) observaram que os efeitos cancerígenos durante o experimento foram mais significativos em fêmeas com aplicações mais frequentes de maiores dosagens. Seis de nove cadelas sob terapia hormonal mais agressiva desenvolveram neoplasias. Em compensação, trinta e três animais sob terapia hormonal branda (0,02 a 0,05 mg/kg/dia durante 7 anos) não desenvolveram neoplasias mamárias.

Dito isso, é importante compreender o cenário das frequências e dosagens dessas administrações no Brasil. Em uma análise epidemiológica feita por Prado e colaboradores (2020), observou-se que 77% dos estabelecimentos que comercializam progestágenos sintéticos utilizam a mesma dose para todos os animais independente do peso. Além disso, apenas 26% desses estabelecimentos possuem médicos veterinários. Por tanto, entende-se que a dosagem e frequência de aplicação desses produtos não é controlada, tornando seu uso perigoso.

Ainda analisando os potentes riscos para o TMC, a idade trata-se de uma variável notável em seu no desenvolvimento (OR= 86,50), quando o uso hormonal e frequência de aplicações são constantes. Esse resultado era esperado, uma vez que as fêmeas de idade avançada foram expostas durante maior período de tempo aos próprios hormônios esteroides, somados aos hormônios sintéticos administrados. Ademais, sabe-se que as neoplasias mamárias são mais prevalentes em cadelas idosas (SCHNEIDER, 1970; TAYLOR et al., 1976; DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Isso significa que essa terapia é mais influente à medida que as fêmeas se tornam mais velhas. Somadas a dose-efeito e faixa etária, o uso de progestágenos torna-se mais preocupantes para as neoplasias mamárias. (CONCANNON et al., 1981). Conforme o resultado apresentado no presente trabalho, fêmeas idosas submetidas a mesma terapia que fêmeas mais jovens, desenvolveram neoplasias mamárias mais precocemente (CONCANNON et al., 1981).

O tempo decorrido desde a primeira aplicação hormonal é também significativo, uma vez que as neoplasias mamárias apresentam distintos tempos de evolução. Conforme relatado, a maioria das fêmeas caninas com tumores mamários do presente estudo fizeram a primeira terapia hormonal há mais de seis meses (88%). Por outro lado, dentre as fêmeas que não

possuem neoplasias, a maioria realizou uso hormonal há menos tempo (68%). A intensidade e tempo de exposição aos progestágenos é inerente a incidência de neoplasias mamária, hiperplasia endometrial cística, acromegalia e resistência à insulina (KOJIMA et al., 1996; DE OLIVEIRA et al., 2003; LEE et al., 2006; BHATTI et al.; 2007).

No experimento de Finkel e Berliner (1973), as fêmeas submetidas a tratamento com acetado de megestrol apresentaram neofomações mamárias apenas após 2 anos de exposição hormonal, logo, entende-se que os tumores possuem intervalo de tempo para desenvolverem-se.

O tamanho tumoral tende a ser diretamente proporcional a sua malignidade, ou seja, as formações malignas geralmente possuem maiores diâmetros (SORENMO et al., 2009). Na população de fêmeas com carcinoma mamário avaliada não houve relação entre o uso de hormônios sintéticos com tamanho tumoral. Em contrapartida, o número de lesões tumorais é maior quando a cadela fez uso de progestágeno. VAN OS et al (1981) verificaram a incidência, tamanho e localização dos nódulos mamários de cadelas nas quais o estro foi controlado com proligestona ou acetato de medroxiprogesterona (MPA). Os autores relataram que os animais medicados com MPA tiveram maior incidência de nódulos mamários quando comparados com o grupo controle e com grupo medicado com proligestona. O que reforça a importância de se conhecer a farmacocinética do produto a ser utilizado, uma vez que isso influencia diretamente em seus prováveis efeitos colaterais (VAN OS et al., 1981; SORENMO et al., 2009).

Um viés do presente estudo é a imprecisão das informações fornecidas pelos proprietários quanto à data das aplicações dos hormônios, dosagem, princípio ativo e via de administração. Além disso, não houve uniformidade no diagnóstico das neoplasias mamárias, visto que nem todas as fêmeas possuíam exame histopatológico devido as condições financeiras dos tutores. Sendo assim, parte dos diagnósticos utilizados foram baseados em exames histopatológicos e outra parte baseado em exames citológicos.

6. CONCLUSÃO

De acordo com o presente trabalho, o desenvolvimento de carcinoma mamário e/ou lesões tumorais de maiores diâmetros nas fêmeas caninas do HOVET – UFU no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2020 não foi influenciado pelo uso de progestágenos. Nessa mesma população, é possível concluir que a maior frequência de aplicações hormonais, idade avançada e maior tempo decorrido desde a primeira administração são potenciais riscos para o desenvolvimento de carcinoma. Assim como o uso hormonal está relacionado com o desenvolvimento de maior quantidade de nódulos.

REFERÊNCIAS

- ABDELMEGEED, SM; MOHAMMED, S. Canine mammary tumors as a model for human disease. **Oncology Letters**, v.15, p. 8195–8205, 2018.
- ANTICION S/D. Anticion. Disponível em: <http://www.ucbvvet.com/produto/14/6/anticion>. Acesso em 15 de agosto de 2022.
- ARAÚJO, BM; FERNANDES, THT; BARAÚNA JÚNIOR D; BONELLI, MDA; AMORIM, MDA; TUDURY, EA. Clinical and epidemiological study in dogs with thoracolumbar vertebrae fractures and luxations. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, p.866-870, 2017.
- BACARDO, M.; DABUS, D. M. M.; TENTRIN, T. C.; LIMA, G. S.; BARIANI, M. H. Influência hormonal na carcinogênese mamária em cadelas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 11, p. 1- 6, 2008
- BENDER AP; DORN CR; SCHNEIDER R. An epidemiologic study of canine multiple primary neoplasma involving the female and male reproductive systems, **Preventive veterinary medicine**, v.2, p.715–731, 1984.
- 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.
- BHATTI, FM; RAO, NA; OKKENS, AC; MOL, JA; DUCHATEAU, L; DUCATELLE, R; KOOISTRA, HS. Role of progestin-induced mammary-derived growth hormone in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia in the bitch. **Domestic animal endocrinology**, v. 33, n. 3, p. 294-312, 2007.
- BRØNDEN LB, NIELSEN SS, TOFT N, KRISTENSEN AT. 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.
- CARREÑO, MSR; PEIXOTO, S; GIGLIO, A. Reposição hormonal e câncer de mama. **Revista da Sociedade Brasileira de Cancerologia**, v. 7, p. 41-50, 1999.
- CASSALI, GD; GOBBI, H; MALM, C; SCHMITT, FC. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours, **Cytopathology**, v.18, p.191–196, 2007.
- CHANG, CC; TSAI, MH; LIAO, JW; CHAN, JPW; WONG, ML; CHANG, SC. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235, n. 4, p. 391-396, 2009.
- CONCANNON, PW; SPRAKER, TR; CASEY, HW; HANSEL, W. Gross and histopathologic effects of medroxyprogesterone acetate and progesterone on the mammary glands of adult beagle bitches. **Fertility and sterility**, v. 36, n. 3, p. 373-387, 1981.

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

DE OLIVEIRA, LO; DE OLIVEIRA, RT; LORETTI, AP; RODRIGUES, R; DRIEMEIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 2, p. 105-110, 2003.

DIAS, L. G. G. G; OLIVEIRA, M. E; DIAS, F. G. G; CALAZANS, S. G; CONFORTI, V. A. Uso de fármacos contraceptivos e seu efeitos adversos em pequenos animais. **Enciclopedia Biosfera**. v.9, n.16, p.2077, 2013.

DOBSON, JM; SAMUEL, S; MILSTEIN, H; ROGERS, K; WOOD, JL. 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.

DORN, CR; TAYLOR, DON; SCHNEIDER, R; HIBBARD, HH; KLAUBER, MR. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 40, n. 2, p. 307-318, 1968.

DUPONT, J; LE ROITH, D. Insulin-like growth factor 1 and oestradiol promote cell proliferation of MCF-7 breast cancer cells: new insights into their synergistic effects. **Molecular Pathology**, v. 54, n. 3, p. 149, 2001.

FERNANDES, ERL; COSTA, TM; LEITE, DFS. Uso de fármacos contraceptivos e seus efeitos colaterais em cães e gato: Revisão de literatura. **Revista de Medicina VeterináriaVII**, v. 17, n. 23, p. 1-14, 2020.

FINKEL MJ; BERLINER VR. The extrapolation of experimental findings (animals to man). The dilemma of the systemically administered contraceptives. **The Bulletin of the Society of Pharmacological and Environmental Pathologists**, v. 4, p. 13-21, 1973.

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

GABALDI, SH; LOPES, MD. Hiperplasia e prolapso vaginal em cadelas. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n.13, p.17-18, 1998.

GAMA, A.; ALVES, A.; SCHMITT, F. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. **Virchows Archiv**, v. 453, n. 2, p. 123-132, 2008.

GEORGE, A; STEAD, TS; GANTI, L. What's the risk: differentiating risk ratios, odds ratios, and hazard ratios? **Cureus**, v. 12, n. 8, 2020.

GREENBERG, M; LAWLER, D, ZAWISTOWSKI, S; JÖCHLE, W. Low-dose megestrol acetate revisited: A viable adjunct to surgical sterilization in free roaming cats? - Review. **The**

Veterinary Journal, v. 196, p.304-308, 2013.

GOLDSCHMIDT, M. PEÑA, L.; RASOTTO, R; ZAPPULLI, V. 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.

GOLDSCHMIDT, MH; SHOFER, FS; SMELSTOYS, JA. Neoplastic lesions of the mammary gland. **Pathobiology of Aging Dogs**. 1st ed. ISU Press/ILSI, Ames, Iowa, p. 168-178, 2001.

HAMELERS, IH; VAN SCHAIK, RF; VAN TEEFFELEN, HA; SUSSENBACH, JS; STEENBERGH, PH. Synergistic proliferative action of insulin-like growth factor I and 17 β -estradiol in MCF-7S breast tumor cells. **Experimental cell research**, v. 273, n. 1, p. 107-117, 2002.

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

HONÓRIO, TDF; FONSECA, APB; ARAÚJO, EKD; MOURA, VDM; CHAVES, RAA; RODRIGUES, MC; KLEIN, RP. Pathological implications after contraceptive use in bitches located in Teresina-PI. **PUBVET**, v. 11, n. 2, p. 176-180, 2017.

INIBIDEX. S/D. Inibidex. Disponível em: <https://www.vetsmart.com.br/cg/produto/1803/inibidex>. Acesso em 15 de agosto de 2022.

ITOH, T; UCHIDA, K; ISHIKAWA, K; KUSHIMA, K.; KUSHIMA, E; TAMADA, H; SHII, H. 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.

KOJIMA, H; FUKAZAWA, Y; SATO, T; ENARI, M; MATSUZAWA, A; TSUNODA, S; IGUCHI, T. Apoptosis of pregnancy-dependent mammary tumor and transplantable pregnancy-dependent mammary tumor in mice. **Cancer Lett**, v.110, p.113-121, 1996.

KOCH, H. 10 years' retrospective observation on the use of medroxyprogesterone acetate in small animals, **Kleintierpraxis**, v. 4, p. 185-186, 1989

KWAPLEN, RP; GILES, RC; GELL, RG; CASEY, HW. Malignant mammary tumors in beagle dogs dosed with investigational oral contraceptive steroids. **Journal of the national cancer institute**, v. 65, n. 1, p. 137-144, 1980.

LEE, WM; KOOISTRA, HS; MOL, JA; DIELEMAN, SJ; SCHAEFERS-OKKENS, A. C. Ovariectomy during the luteal phase influences secretion of prolactin, growth hormone, and insulin-like growth factor-I in the bitch. **Theriogenology**, v. 66, n. 2, p. 484-490, 2006.

LIM, HY; IM, KS; KIM, NH; KIM, HW; SHIN, JI; SUR, JH. Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. **Veterinary**

Journal, v. 203, n. 3, p. 326–331, 2015.

LIMA, JGP; MACEDO, ATM; ALVES, JDR; AGUIAR FILHO, CR; DE OLIVEIRA, MAL; DE LIMA, PF. "Uso de Anticoncepcional em cadelas: problema ou solução?." **Resumo, IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (IX JEPEX)**, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009.

MERLO DF; ROSSI L; PELLEGRINO C; CEPPI M; CARDELLINO U; CAPURRO C; BOCCHINI, V. 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.

MEUTEN, D.J. Tumors in Domestic Animals. p. 438-508. Fourth edition, **Iowa State Press**, 2002.

MILLANTA F; CALANDRELLA, M; BARI, G; NICCOLINI, M; VANNOZZI, I; POLI, A. Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. **Research in veterinary science**, v. 79, n. 3, p. 225-232, 2005.

MISDORP, W. Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins. **Veterinary Quarterly**, v. 10, n. 1, p. 26-33, 1988.

MISDORP, W.; ELSE, R.W.; HELLMER, N.E.; LIPSCOMB, T.P. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. 2.ed. **Washington: Armed Forces Institute of Pathology**, p. 3-29, 1999.

MUNSELL, MF; SPRAGUE, BL; BERRY, DA; CHISHOLM, G; TRENTAM-DIETZ, A. Body mass index and breast cancer risk according to postmenopausal estrogen-progestin use and hormone receptor status. **Epidemiologic reviews**, v. 36, n. 1, p. 114-136, 2014.

NELSON, LW; WEIKEL JH; RENO, FE. Mammary nodules in dogs during four years' treatment with megestrol acetate or chlormadinone acetate. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 51, n. 4, p. 1303-1311, 1973.

OLIVEIRA, CMD. Afecções do sistema genital da fêmea e glândulas mamárias. In: JERICÓ, MM; NETO, JPA; KOGIKA, MM. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1 ed, p. Roca, Rio de Janeiro. Cap. 175, p. 3645-3678, 2015.

PARADA JR, H; SAHRAI, L; WOLFF, MS; SANTELLA, RM; CHEN, J; NEUGUT, AI; TEITELBAUM, SL. Urinary parabens and breast cancer risk: Modification by LINE-1 and LUMA global DNA methylation, and associations with breast cancer defined by tumor promoter methylation status. **Molecular Carcinogenesis**, 2022.

PATSIKAS, MN; KARAYANNOPOULOU, M; KALDRYMIDOY, E; PAPAZOGLU, LG; PAPADOPOULOU, PL; TZEGAS, SI; DESSIRIS, AK. 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.

PRADO, ME; APPEL, TL; AUGUSTO, IL; MANIERI, AF; FRACÁCIO, CP; BARROS, FS; JARK, PC. Levantamento do uso e riscos terapêuticos de anticoncepcionais em cadelas e gatas. **Ars Veterinaria**, v. 36, n. 1, p. 52-58, 2020.

QUEIROGA, FL; PÉREZ-ALENZA, D; SILVAN, G; PEÑA, L; LOPES, CS; ILLERA, JC. Serum and intratumoural GH and IGF-I concentrations: Prognostic factors in the outcome of canine mammary cancer. **Research in veterinary science**, v. 89, n. 3, p. 396-403, 2010.

QUEIROGA, FL; RAPOSO, T; CARVALHO, MI; PRADA, J; PIRES, I. Canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: most recent findings. **In vivo**, v. 25, n. 3, p. 455-465, 2011.

REHM, S; STANISLAUS, DJ; WILLIAMS, AM. Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. *Birth Defects Research Part B: **Developmental and Reproductive Toxicology***, v. 80, n. 3, p. 233-245, 2007.

RODRIGUES, B.A.; RODRIGUES, J.L. Alternativas contraceptivas em caninos e felinos domésticos. **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, v.16, p.1-12, 2005.

ROMAGNOLI, S. Clinical use of hormones in the control of reproduction in bitches and queens. In: **Veterinary Sciences Congress, Oeiras (Portugal)**, SPCV, p. 10-12, 2002.

RUSSO, J; RUSSO, IH. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 102, n. 1-5, p. 89-96, 2006.

SALA, PL; ASSIS, MMQ; RIBEIRO, RCL; SÁ, TC; ROCHA, AGP; MAIA, LT; QUESSADA, AM. Does a single application of contraceptive cause pathological changes in bitches? **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, p. 752-756, 2021.

SANTOS, M; MARCOS, R; FAUSTINO, AMR. Histological study of canine mammary gland during the oestrous cycle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 5, p. e146-e154, 2010.

SCHNEIDER, R. Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer. **Cancer**, n.26, p.419-426, 1970.

SILVA, TPD; SILVA, FL; Hiperplasia mamária felina: um relato de caso. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.14, p. 634-640, 2012.

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.

SIMON D; SCHOENROCK D; NOLTE I, Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome, **Veterinary clinical pathology**. v.38, p.521-528, 2009.

SLEECKX, N; DE ROOSTER, H; VAN GINNEKEN, C; VAN BRANTEGEM. Canine mammary tumours, an overview. **Reproduction in domestic animals=Zuchthygiene**, v. 46, n. 6, p. 1112-1131, 2011.

SORENMO, KU; SHOFER, FS; GOLDSCHMIDT, MH. Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 14, n. 3, p. 266-270, 2000.

SORENMO KU; KRISTIANSEN VM; COFONE MA; SHOFER, FS; BREEN, AM; LANGELAND, M; GOLDSCHMIDT, MH. Canine mammary gland tumours: a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence, **Veterinary and comparative oncology**, v.7, p.162–172, 2009.

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, p.538–556, 2012.

SORENMO, KU; DURHAM, AC; KRISTIANSEN, V; PENA, L; GOLDSCHMIDT, MH; STEFANOVSKI, D. 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, KU; RASOTTO, R; ZAPPULLI, V; GOLDSCHMIDT, M. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. **Veterinary Pathology**, 2011.

SORENMO, KU; WORLEY, DR.; ZAPPULLI, V. Tumors of the mammary gland. In: **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology** 6 ed, p. 604-625, 2020.

STØOVRING, M; MOE, L; GLATTRE, E. A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. **APMIS. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica.**, v. 105, n. 7-12, p. 590-596, 1997.

TAVASOLY, A. GOLSHAHI, H; REZAIE, A; FARHADI, M. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. In: **Veterinary research forum: an international quarterly journal**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. p. 25, 2013.

TAYLOR, GN; SHABESTARI, L; WILLIAMS, J; MAYS, CW.; ANGUS, W; McFARLAND, S. Mammary neoplasia in a closed beagle colony. **Cancer Research**. August, v.36, n.8, p.2740-743, 1976.

VAN GARDEREN, E; SCHALKEN, JA. Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 197, n. 1-2, p. 153-165, 2002.

VAN OS, JL; VAN LAAR, PH; OLDENKAMP, EP; VERSCHOOR, JSC. Oestrus control and the incidence of mammary nodules in bitches, a clinical study with two progestogens. **Veterinary Quarterly**, v. 3, n. 1, p. 46-56, 1981.

VASCELLARI, M; CAPELLO, K; CARMINATO, A; ZANARDELLO, C; BAIONI, E; MUTINELLI, F. 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.

VASCELLARI, M; BAIONI, E; RU, G; CARMINATO, A; MUTINELLI, F. Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. **BMC veterinary research**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2009.

VON AU, A; SHENCORU, S; UHLMANN, L; MAYER, L; MICHEL, L; WALLWIENER, M; DOMSCHKE, C. Predictive value of neutrophil-to-lymphocyte-ratio in neoadjuvant-treated patients with breast cancer. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, p. 1-9, 2022.

WEIKEL JH; NELSON, LW. Problems in evaluating chronic toxicity of contraceptive steroids in dogs. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues**, v. 3, n. 1-2, p. 167-177, 1977.

YANG, WY. LIU, CH., CHANG, CJ; LEE, CC; CHANG, KJ; LIN, CT. Proliferative activity, apoptosis and expression of oestrogen receptor and Bcl-2 oncoprotein in canine mammary gland tumours. **Journal of comparative pathology**, v. 134, n. 1, p. 70-79, 2006.