

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Neoplasmas mamários e níveis de cálcio e magnésio em
fêmeas caninas**

Isabel Cristina Pereira

Pelotas, 2012

ISABEL CRISTINA PEREIRA

Neoplasmas mamários e níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas- RS, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Ciências Veterinária (área de conhecimento: Sanidade animal – Clínica Médica de Pequenos Animais).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Gevehr Fernandes

Pelotas, 2012

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

P436n Pereira, Isabel Cristina

Neoplasmas mamários e níveis de cálcio em fêmeas caninas / Isabel Cristina Pereira ; orientador Márcia de Oliveira Nobre, co-orientador Cristina Gevehr Fernandes - Pelotas, 2012.-127.-Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012

1.Índice Preditor 2.Prognóstico 3.Tumores mamários
4.Hipercalcemia 5.Hipermagnesemia I.Nobre, Márcia de Oliveira(orientador) II.Título.

CDD 636.7

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Fabiane Borelli Grecco

Prof^a. Dr^a. Cláudia Pinho Hartleben

Prof. Dr. Eduardo Santiago Ventura de Aguiar

Dr. Eduardo Negri Mueller

Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre – UFPel (orientadora)

Prof^a. Dr^a. Cristina Gevehr Fernandes – UFPel (co-orientadora)

ISABEL CRISTINA PEREIRA

NEOPLASMAS MAMÁRIOS E NÍVEIS DE CÁLCIO E MAGNÉSIO EM FÊMEAS
CANINAS

Comissão julgadora da Tese para obtenção do grau de Doutora

Assinaturas da Banca Examinadora

Pelotas, junho de 2012

Pai, Mãe, Gian, minha filha
Laura e meus queridos enteados
Rafael e Luciano
A vocês dedico este trabalho,
com muito amor e carinho, por
perder parte de seu convívio
para que meu sonho fosse
realizado.
Amo vocês!

Agradecimentos

Foi muito difícil a tarefa de agradecer a todos a quem me ajudaram, e a seguir tento reuni-los nesse grupo:

Aos meus Pais que com apenas palavras é impossível expressar todo o sentimento, obrigada por todo amor, pelas orações, preocupações e apoio que sempre me dão, mas acima de tudo pelo carinho e estarem sempre do meu lado e serem muito presentes na minha vida.

À meu amor Gian, meu chão, meu tudo, que sempre me incentiva e me apóia, pela paciência nos momentos de ausência e carinho nos momentos de angústia, além de “decifrar e decodificar” todos os números estatísticos para os resultados deste trabalho.

À Minha pequenina Laura que mudou minha vida neste período e me trouxe uma alegria que eu não conhecia.

Aos meus enteados a quem devo muitas das minhas alegrias e risadas, e que continuam sempre me ensinando a ser alguém melhor.

À família pelo apoio e palavras de força. Em especial aos meus maninhos queridos!!!! Obrigada pelo ombro, incentivo, preocupações e por aliviarem os momentos quando precisei.

À minha orientadora que me proporcionou a possibilidade de crescer profissionalmente e pela paciência e disposição que permitiram o desenvolvimento e execução desta pesquisa.

À Prof. Cristina, minha co-orientadora, por toda ajuda, sem sua atuação não teríamos nesse trabalho incremento científico tão importante nos detalhes de oncologia, além de seu entusiasmo contagiante nos momentos de “pavor”!

À Professora Eliane Diniz que, além de permitir o acompanhamento de seus cães para dados desse trabalho, o fez com todo os cuidados e nos recebeu de braços abertos. Deixo aqui também minha admiração pelo seu trabalho e doação total aos cães.

À minha amiga, colega de substituição, companheira, colega de Pós e “maninha” Grazi por todas as conversas, apoio nos momentos mais difíceis e por todos os conselhos de apoio e estímulo e risadas. Com tuas palavras me fortaleci. Às minhas amigas queridas Carol e Paty, agradeço que no meu caminho tenha realizado o doutorado, pois nele pude conhecer vocês duas, queridas pessoas que firmamos uma amizade verdadeira e sólida e que com o apoio pude contar sempre; à todas experiências vividas e compartilhadas. Adoro vocês Três!!!!

Às minhas amigas de fora do Pós: Ritinha, Priscila, Andréia, Stella, Nessa e Lucielem, por momentos alegres e leves que a amizade de vocês me possibilita.

À minha amiga Patrícia Vives que possibilitou a coleta de meu “N”, pelas palavras de amizade e incentivo e a quem admiro muito pessoal e profissionalmente.

Aos meus colegas de pós-graduação Mariana, Anelize e Eduardo, com a tranquilidade do Eduardo e a força da Anelize, e a calma da Mariana nosso grupo se tornou único, principalmente na época do Projeto Castração. À Patrícia Ferreira quem acompanhou coletas e juntamente com a Ciciane mais recentemente fizeram parte do grupo e se tornaram amigas.

Aos alunos do Grupo ClinPet, as suas dúvidas me fizeram crescer.

Aos meus eternos Mestres e amigos Professor Carapeto e Professor Flávio. A eles tenho também que agradecer aqueles tempos mais difíceis, mas que me ajudaram muito a crescer. Vocês fazem parte de minha segunda família, a família acadêmica!

A Universidade Federal de Pelotas e, em especial, ao Hospital de Clínicas Veterinária, laboratórios de Bioquímica e Patologia Clínica pelo apoio na realização desta pesquisa.

A TODOS que direta ou indiretamente colaboraram para concretização deste projeto.

Obrigada!

Há momentos em que se
sente libertado de seus
próprios limites e
imperfeições humanas

Neste instante agente se
sente um pequeno canto
de um pequeno planeta
com o olhar fixo e
maravilhado na beleza fria
mas contudo profunda e
emocionante do que é
eterno e incompreensível

A vida e a morte se fundem
e não há nem evolução ou
destino, apenas o SER.

Albert Einstein

Resumo

PEREIRA, Isabel Cristina: **Neoplasmas mamários e níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas**. 2012, 127f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

A longevidade dos cães tem aumentado a casuística de neoplasmas, sendo que o neoplasma mamário é um dos mais frequentes diagnosticados nesta espécie. As fêmeas caninas são importantes como população de estudo das neoplasias uma vez que existem similaridades entre os neoplasmas mamários desenvolvidos em humanos e caninos, possibilitando desta forma o uso da patologia comparada, buscando maior entendimento da doença. Alterações nos níveis de cálcio e magnésio podem estar relacionadas a presença e ocorrência de neoplasmas mamários, porém não existe uma padronização definida dessas alterações. O trabalho teve como objetivos analisar dados epidemiológicos em pacientes caninos com neoplasmas mamários e determinar níveis de cálcio e magnésio séricos e após exérese; e associar variação de níveis sanguíneos de cálcio e magnésio com a malignidade dos neoplasmas. O estudo teve uma amostra de 53 fêmeas caninas com tumoração em glândula mamária, das quais foram obtidos dados de características descritivas da amostra referentes a resenha do animal, exposição a fatores de risco e do desenvolvimento tumoral, associado as características morfológicas e localização anatômica. Foi realizada exérese das massas tumorais para análise histopatológica avaliando margem cirúrgica e classificando os pacientes segundo comportamento biológico e diferentes graus de malignidade: alta malignidade (AM), malignidade intermediária (MI), baixa malignidade (BM) e benignos (B). Na continuação do estudo, houve uma perda de 17 cães para o estudo de análise de níveis de minerais no período de 180 dias, sendo estudadas 36 fêmeas com neoplasmas mamários e 28 cães saudáveis sem tumores mamários, como controles. Os cães foram avaliados no dia zero (prévio à cirurgia) em relação à massa tumoral e nessa data foi realizada exérese para encaminhamento de peça tumoral para avaliação anatomopatológica e classificados segundo comportamento biológico. A dosagem sérica de cálcio e magnésio (espectrofotometria de absorbância), foi realizada prévia à exérese dos tumores (no dia zero) e aos 60 e 180 dias após o procedimento cirúrgico, no mesmo intervalo de tempo foram avaliadas as dosagens séricas dos minerais no grupo controle. Das 53 cadelas estudadas, 24 apresentavam tumores de alta malignidade, 12 de malignidade intermediária, 13 de baixa malignidade e quatro eram benignos. Os pacientes idosos foram frequentes no grupo de maior malignidade. Não houve relação entre comportamento biológico quando comparado com: faixa de idade, porte, raça, tempo de aparecimento e desenvolvimento ovariectomia prévia e uso de contraceptivos. Quanto a localização, das 171 mamas acometidas, o desenvolvimento de neoplasma de maior malignidade ocorreu em mamas inguinais e abdominais mediais. Foi demonstrado relação entre comprometimento de margem e desenvolvimento de metástase pulmonar. A mobilidade e consistência neoplásica

foram identificados como fatores prognósticos para cães com neoplasma mamário, enquanto as outras variáveis estudadas não foram relacionadas com o prognóstico. Dados referentes às 36 fêmeas caninas portadoras de neoplasmas mamários, que foram acompanhadas, 13 apresentaram tumores de alta malignidade (AM), nove de malignidade intermediária (MI), 10 de baixa malignidade (BM) e quatro benignos (B). A média dos níveis de Cálcio do grupo controle foi de 10,07mg/dl e do magnésio de 2,04mg/dl. Os níveis médios de cálcio sérico dos pacientes do grupo BM e MI foi respectivamente 8,63mg/dl e 8,77mg/dl, ambos diferindo estatisticamente ($p < 0,001$) do grupo controle. Os pacientes do grupo de AM apresentaram média de cálcio de 12,00mg/dl e diferiram significativamente ($p < 0,001$) dos níveis médios obtidos no grupo controle. Em relação aos níveis séricos de magnésio foi demonstrado diferença estatística entre o grupo controle (2,04mg/dl) e os grupos BM ($p < 0,001$), MI ($p = 0,002$) e AM ($p < 0,001$), com médias de 1,57 mg/dl, 1,67mg/dl e 2,56mg/dl respectivamente. Tanto nos níveis séricos de cálcio quanto de magnésio não foram demonstradas diferenças estatísticas entre o grupo controle e o grupo B. Foi observado que, nos animais com neoplasmas mamários, os valores sanguíneos dos minerais estudados diferiram entre a primeira e última coleta nos grupos BM ($p = 0,0125$) e AM ($p = 0,0087$) quanto aos níveis de cálcio e nos mesmos grupos BM ($p = 0,0124$) e AM ($p = 0,0015$) quanto aos níveis de magnésio. Os resultados permitiram concluir que mobilidade e consistência do neoplasma, foram relacionadas com malignidade e pior prognóstico do paciente além de uma forte relação entre comprometimento de margem e metástase pulmonar. Ainda, cães portadores de neoplasias de baixa malignidade e malignidade intermediária apresentam hipocalcemia e hipomagnesemia, assim como nos casos de neoplasmas de alta malignidade ocorre hipercalcemia e hipermagnesemia, ambos retornando aos níveis fisiológicos após seis meses da exérese cirúrgica.

Palavras chave: índice preditor. prognóstico. tumores mamários. hipercalcemia. hipermagnesemia.

Abstract

PEREIRA, Isabel Cristina: **Mammary neoplasms and calcium and magnesium levels in female dogs**. 2012, 127f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

The longevity of dogs has increased the number of neoplasm cases, and the breast neoplasm is one of the most frequent diagnosed in this species. The female dogs are important as a study population as they present similarities between the breast neoplasms developed in humans and canines, thus allowing the use of the compared pathology in an attempt to have a better understanding of the disease. Changes in calcium and magnesium levels may be related to the presence and occurrence of breast neoplasms, but there is no defined standardization of these changes. The study aimed to analyze epidemiological data in canine patients with breast neoplasms, determine levels of serum calcium and magnesium in dogs with breast neoplasms before and after excision, and associate variation of calcium and magnesium blood levels with the neoplasms malignancy. The study had a sample of 53 females 53 female dogs with tumors in the mammary gland, from which we obtained data of descriptive characteristics of the sample, regarding the review of the animal, exposure to risk factors and tumor development, associated with the morphological characteristics and anatomical location. Excision of tumor masses was performed for histopathological analysis evaluating the surgical margin and classifying the patients according to the biological behavior and malignancy degree: high malignancy (HM), intermediate malignancy (IM), low malignancy (LM) and benign (B). In further study, there was a loss of 17 dogs in the study for the analysis of mineral levels the period of 180 days and analyzed 36 dogs with mammary neoplasms and 28 healthy dogs without breast tumors were studied as controls. Dogs were evaluated on day zero (before surgery) in regard to assessments of tumor mass, and on that date, surgery was carried out in order to send the tumoral part for anatomopathologic evaluation taking into account the classification in biological behavior. Serum calcium and magnesium dosage (absorbance spectrophotometry) was performed prior to the excision of tumors (on day zero) and at 60 and 180 days after surgery, and at the same time interval the serum levels of minerals in the control group were evaluated. Of the 53 dogs studied, 24 showed high malignant tumors, 12 intermediate malignant tumors, 13 low malignancy tumors and four benign tumors. The elderly patients were the most frequent ones in the malignancy group. There was no relationship between biological behavior when compared to: age range, size, breed, time of onset and development, previous ovariohysterectomy and the use of contraceptives. As for location, of the 171 breasts affected, the development of neoplasms of greater malignancy occurred in medial abdominal and inguinal mammary glands. It was demonstrated the relationship between margin involvement and development of pulmonary metastasis. The neoplastic mobility and consistency were identified as prognostic factors for dogs with mammary neoplasms, while the other variables studied were not related to prognosis, while the other studied variables were not

related with the prognosis. Data concerning the 36 females suffering from canine mammary neoplasms, which were observed, 13 had tumors of high malignancy (HM), nine of intermediate malignancy (IM), 10 of low malignancy (LM) and four benign (B). The average of calcium levels in the control group was 10.07 mg / dl and magnesium of 2.04 mg / dl. Mean levels of calcium serum of patients in group LM and IM were respectively 8.63 mg / dl and 8.77 mg / dl, both differing statistically ($p < 0.001$) from the control group. The patients in the HM group had a mean calcium of 12.00 mg / dl and differed significantly ($p < 0.001$) from the mean levels obtained in the control group. Regarding the serum levels of magnesium, it was demonstrated statistical difference between the control group (2.04 mg / dl) and the LM groups ($p < 0.001$), IM groups ($p = 0.002$) and HM groups ($p < 0.001$), with averages of 57 mg / dl, 1.67 mg / dl and 2.56 mg / dl, respectively. Both in the serum levels of calcium and magnesium no statistical differences between control group and group L were shown. It was observed that in animals with mammary neoplasms, the blood values of the studied minerals differed between the first and last collection in the LM groups ($p = 0.0125$) and HM groups ($p = 0,0,0087$) in the levels of calcium and in the same LM groups ($p = 0.0124$) and MA ($p = 0.0015$) in the levels of magnesium. The results showed that neoplasm mobility and consistency were correlated with malignancy and worse prognosis of the patient, and a strong relationship between margin involvement and lung metastases. Also, dogs with tumors of low malignancy and intermediate malignancy have hypocalcemia and hypomagnesemia, as well as in the cases of malignant neoplasms there is high hypercalcemia and hypermagnesemia, both going back to the physiological levels after six months of surgical excision

Key words: index predictor. prognosis. breast tumors. hypercalcemia. hypermagnesemia.

Lista de figuras

Artigo 2 Avaliação de características de fêmeas caninas com neoplasmas mamários

Figura 1	Ocorrência neoplásica por localização da mama e grau de malignidade. Pelotas, RS, Brasil, 2012.....	85
----------	---	----

Artigo 3 Análise dos níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas com neoplasmas mamários.....

Figura 1	Níveis médios sanguíneos de cálcio de cães com neoplasmas mamários considerando comportamento biológico em comparação aos valores médios de cães do grupo controle sem tumorações mamárias e dos níveis fisiológicos.....	107
----------	---	-----

Figura 2	Níveis médios sanguíneos de magnésio de cães com neoplasmas mamários considerando comportamento biológico em comparação aos valores médios de cães do grupo controle e dos níveis fisiológicos.....	108
----------	---	-----

Lista de tabelas

Artigo 2	Avaliação de características de fêmeas caninas com neoplasmas mamários	
Tabela 1	Distribuição dos tipos de neoplasmas, relacionado com o comportamento biológico destes.	81
Tabela 2	Comportamento biológico neoplásico, segundo variáveis descritivas, em fêmeas caninas com neoplasmas mamários. Pelotas-RS, Brasil, 2012.	82
Tabela 3	Comportamento biológico neoplásico, segundo características neoplásicas em fêmeas caninas com neoplasmas mamários. Pelotas-RS, Brasil, 2012.	83
Tabela 4	Associação entre Comprometimento de margem e presença de metástase pulmonar. Pelotas, RS, Brasil, 2012.	84
 Artigo 3	 Análise de variações nos níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas com neoplasmas mamários.....	
Tabela 1	Distribuição dos tipos de neoplasmas, relacionado com o comportamento biológico destes.....	105
Tabela 2	Variação dos níveis de cálcio e magnésio sérico em cães, entre a coleta sanguínea do dia zero (com a presença de neoplasma mamário) e 180 dia após a exérese, de acordo com comportamento biológico.....	108

Lista de abreviaturas

AM - alta malignidade

B - benigno

BM - baixa malignidade

Ca - Cálcio

CRD - com raça definida

Mg - magnésio

Mg - miligrama

MI - malignidade intermediária

Min - minuto

OMS - Organização Mundial da Saúde

PTH-rP - proteína relacionada ao paratohormônio

rpm - rotações por minuto

SRD - sem raça definida

UFPeI - Universidade Federal de Pelotas

Sumário

Agradecimentos	5
Resumo	8
Abstract	10
Lista de figuras	12
Lista de tabelas	13
Lista de abreviaturas	14
1 Introdução	16
2 Revisão de literatura	18
2.1 Neoplasmas mamários	18
2.2 Grupos de risco e indicadores prognósticos	20
2.3 Minerais e neoplasmas mamários	22
2.3.1 Cálcio	233
2.3.2 Magnésio	255
3 Artigos científicos	27
3.1 - ARTIGO 1 Fatores de risco e marcadores prognósticos para neoplasmas mamários de cães	28
3.2 - ARTIGO 2 Perfil Clínico de fêmeas caninas com neoplasmas mamários	67
3.2 - ARTIGO 3 Análise dos níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas com neoplasmas mamários	86
4 Conclusões	109
5 Referências bibliográfica	110

1 Introdução

A elevada incidência de tumores de mama em cadelas (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001), a ocorrência do aumento no atendimento de pacientes que apresentam afecções oncológicas (FONSECA; DALECK, 2000) e a morbidade crescente devido a este tipo de enfermidade (BRONSON, 1982; WITHROW; MACEWEN, 1996) demonstram a necessidade de mais informações sobre os fatores que interferem para seu aparecimento e meios de diagnóstico para detecção precoce.

Alterações nos níveis de cálcio e magnésio parecem estar relacionadas a presença e ocorrência de neoplasmas mamários humanos (STEWART, 2005) e em cães (MARTIN, 1998; LOBO; SILVA et al., 2005). Estudos apontam a hipercalcemia como indicador prognóstico em mulheres com neoplasma de pequenas células de ovário, e a associação entre hipercalcemia e alta malignidade dos casos e baixa sobrevida do paciente (DICKERSIN et al., 1982; YOUNG; OLIVA; SCULLY, 1994).

Trabalhos indicam que o metabolismo do magnésio intraeritrocitário pode estar alterado em processos neoplásicos (DURLACH et al, 1986; PASTERNAK; PRZYSZLAK, 1999). Outros estudos mostram alterações quanto ao seu nível no tecido neoplásico em relação ao tecido normal (RANADE; PANDAY, 1985) e sugerem que um aumento no nível de magnésio no tecido neoplásico e em eritrócitos provoca uma diminuição do conteúdo do elemento no plasma (TANSY; KENDALL, 1981; KOHLI et al., 1989). A sua elevação no tecido neoplásico é sugerida como decorrente de sua ação no metabolismo de biossíntese de proteínas que desempenha um papel importante na intensidade de multiplicação celular (SANYEEV et al, 1993; FLORIAŃCZYK; PASTERNAK, 1994).

A necessidade de estudo relacionando os dados epidemiológicos e as alterações nos minerais séricos é fundamental para que testes possibilitem a identificação de pacientes propensos ao aparecimento de neoplasmas. Também poderá definir se o paciente que foi submetido à procedimento cirúrgico de exérese está livre de metástases que não são visíveis em testes de imagem, possibilitando um estabelecimento mais preciso do prognóstico deste paciente. Somando-se a isso, a pesquisa em oncologia animal, permite um incremento de fatores que possam ser extrapolados para os humanos. Além disso, o fato de testes sorológicos para determinação de níveis de minerais serem simples e de baixo custo, fornece um importante aparato auxiliar na determinação de prognóstico.

Ainda é necessário encontrar uma correlação entre padrões dos resultados sorológicos de minerais e o tipo, malignidade e prognóstico entre os diferentes tipos de tumores, corroborando com a afirmação de que pesquisas por fatores que venham a contribuir para um prognóstico ainda são necessárias (PEREZ-ALENZA et al., 2000; QUEIROGA et al., 2005).

A literatura consultada indica que níveis de cálcio e magnésio alteram-se em pacientes portadores de diferentes tipos de tumores, necessitando ainda de estudos específicos para definir se os níveis séricos de cálcio e magnésio poderão ser utilizados como índice diagnóstico, marcando a presença de metástases, ou como índice prognóstico, com relação à malignidade e sobrevida, e se esses parâmetros poderão ser utilizados de forma geral para pacientes oncológicos ou apenas para determinados tipos neoplásicos. Dessa forma objetivou-se detectar alterações nos níveis séricos de minerais como indicadores de malignidade de neoplasmas mamários e, além disso, determinar níveis de cálcio e magnésio sanguíneos em cães com neoplasmas mamários antes e após exérese, analisar dados epidemiológicos em pacientes com neoplasmas mamários e associar variação de níveis sanguíneos de cálcio e magnésio com a malignidade dos neoplasmas.

2 Revisão de literatura

2.1 Neoplasmas mamários

Há especial interesse no estudo de neoplasmas mamários caninos e sua biopatologia, devido à similaridades histopatológicas e comportamentais com neoplasma mamário humano (GILBERTSON et al., 1983; NERURKAR et al., 1989; PELETEIRO, 1994; MADEWELL; THEILEN, 1987; PIRES, et al., 2003). Além disso, fêmeas caninas são quatro vezes mais afetadas por estes neoplasmas que humanas (CULLEN; PAGE; MISDORP, 2002), e a utilização de estudos das tumorações mamárias em cães permitem um estudo preliminar comparativo para neoplasmas em mulheres (STRANDBERG; GOODMAN, 1974; MISDORP; HARP, 1976; NERURKAR et al., 1989; DESTEXHE et al., 1993; MISDORP, 1996; WHITROW, 1996).

O termo tumor é utilizado para expressar um aumento de volume da pele que pode ter origem hiperplásica, displásica, metaplásica ou neoplásica (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001). Neoplasma designa um crescimento novo, desordenado e independente do controle natural mediado por substâncias endógenas (COTRAN, KUMAR; ROBBINS, 2000; CULLEN; PAGE; MISDORP, 2002; JONES; HUNT; KING, 2000; THOMSON, 1983).

O neoplasma resulta da téttrade que inclui a perda da regulação do ciclo celular, a perda do controle sobre invasão e metástases, falha dos mecanismos apoptóticos e o sobrepujamento do envelhecimento (MATTHEWS; JONES, 2001), o que resulta em crescimento de forma anormal e desordenada, caracterizada por células com alterações genéticas que invadem outros tecidos de forma disseminada havendo perda de suas funções originais (FENECH, 2002). Esta enfermidade é definida como uma doença multifatorial crônica (WCRF, 1997).

Acredita-se que hoje, entre 50% e 75% dos atendimentos veterinários realizados em clínicas e hospitais estejam relacionados com problemas

dermatológicos (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; QUEIROGA; LOPES, 2002; WITHROW; MacEWEN, 1996; PIRES, et al., 2003; PELETEIRO, 1994), onde a frequência de neoplasmas em cães é de 381-1126 casos a cada 100.000 cães (CULLEN, PAGE. & MISDORP, 2002). Dentre as neoplasias, as cutâneas e mamárias, representam importante parcela em cães. Sendo que as glândulas mamárias são locais mais frequentes de neoplasias em fêmeas, perdendo apenas para os localizados em pele quando considerados machos e fêmeas (NIELSEN; COLE, 1960; CONROY, 1983; DORN, et al., 1968). Os neoplasmas malignos representam aproximadamente 50% de todos os tumores mamários caninos (HELLMÉN et al., 2000; SIMON et al., 2001; YAZAWA et al., 2001; OKAMURA et al., 2004).

Todo aumento de tecido mamário deve ser avaliado como possível neoplasias. Aumentos generalizados que não estejam relacionados com pseudociese, lactação ou mastite devem receber atenção especial. De forma semelhante, tumores de origem diversa daquele do tecido mamário podem aparecer com frequência na região das glândulas mamárias, sendo este fato de grande importância, pois diferentes tratamentos podem ser indicados para tumores como linfossarcomas, lipomas e mastocitomas (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001).

A frequência de benignidade e malignidade de tumores mamários em cães varia consideravelmente frente a existência de diferentes métodos de classificação de tumores e a falta de um critério uniforme de diferenciação dos tipos de tumores (PEREIRA et al., 2006).

As características clínicas e histopatológicas dos tumores mamários caninos são extremamente variáveis (PEREZ ALENZA et al., 1997; COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000; CULLEN; PAGE.; MISDORP, 2002; THOMSON, 1983), podendo ocorrer como nódulos solitários ou múltiplos. Tanto tumores benignos quanto malignos podem evidenciar-se como nódulos pequenos, firmes, e bem demarcados. Sabe-se que macroscopicamente, a neoplasia benigna tem tendência a ser bem delimitada, não invasiva e possuir uma evolução lenta, e uma neoplasia maligna ser invasiva, evoluir rapidamente e ser potencialmente metastático (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000; CULLEN; PAGE; MISDORP, 2002; THOMSON, 1983), apesar disso é impossível a diferenciação dos dois tipos apenas pelo exame físico (O'KEEFE, 1997a).

Os neoplasmas mamários malignos são classificados em ordem crescente de malignidade, como: carcinoma não infiltrativo (in situ), carcinoma complexo (com envolvimento de dois tipos celulares: epitélio e mioepitélio), carcinoma simples (com envolvimento de um único tipo celular: epitélio; subtipos tubulopapilar, sólido, e anaplásico), carcinomas de tipos especiais (subtipos de células fusiformes, com diferenciação escamosa, mucinoso e rico em lipídeos), sarcomas (subtipos fibrossarcoma, osteossarcoma, carcinosarcoma e outros sarcomas) e carcinoma ou sarcoma em tumor benigno. Os tumores benignos são classificados em adenoma (subtipos simples, complexo e basalóide), fibroadenoma (subtipos baixa e alta celularidade), tumor benigno misto, papiloma ductal e tumores não classificados. Existem ainda as displasias/hiperplasias mamárias (subtipos hiperplasia ductal, hiperplasia lobular, cistos, ectasia ductal, fibrose focal ou fibroesclerose e ginecomastia), as quais têm sido consideradas alterações pré-neoplásicas (MISDORP, 2002).

Foi documentada alta incidência de tumores mamários malignos em cadelas e destes a maioria são de neoplasmas mistos (36,25%), seguidos por carcinomas (25%) (CASSALI, 2000).

Considerando a localização, mais de 50% dos neoplasmas mamários ocorrem nas mamas inguinais (QUEIROGA; LOPES, 2002) e abdominais (WITHROW; SUSANECK, 1986). A razão das mamas inguinais serem mais afetadas é desconhecida, podendo estar relacionada com o maior volume destas glândulas e com as correspondentes alterações proliferativas em resposta aos estrógenos (QUEIROGA; LOPES, 2002).

2.2 Grupos de risco e indicadores prognósticos

Indicadores prognósticos podem ser definidos como parâmetros possíveis de serem mensurados no momento do diagnóstico e que servem como preditores da sobrevida ou do tempo livre de doença (DONEGAN, 1979). Estes são dependentes de dados clínicos, moleculares ou características patológicas do paciente ou da doença associados como resultado clínico e terapêutico (McSHANE et al., 2005). O conceito de fator de risco, em termos epistemológicos, não é uma causa nem suficiente, nem necessária de uma doença; ele designa, sim, o que amplia as chances de adoecer.

Entre os indicadores prognósticos em pacientes oncológicos estão o estágio inicial da neoplasia, a idade do paciente, tamanho tumoral, presença de grandes células, tipo de cirurgia realizada e tempo para início do tratamento. Alguns autores citam a presença de hipercalcemia (GUIMARÃES et al., 2001), porém sem uma padronização adequada de seus níveis séricos.

Entre as variáveis prognósticas, o tipo tumoral tem sido apresentado como um fator importante em quase todos os estudos (MONTEIROS et al., 2005). Para a determinação de fatores de prognóstico, dentre as características histológicas, são avaliados diferenciação celular da massa, pleomorfismo nuclear e celular, índice mitótico, presença de nucléolos e quantidade de necrose (EHRHART; POWERS, 2007). Porém a graduação histológica isoladamente não gera informações suficientes para o estabelecimento do prognóstico seja em humanos (CORMIER; POLLOCK, 2004) ou animais (LUONG et al, 2006), além de não haver um consenso para a classificação histológica dos tumores mamários, utilizada em medicina veterinária (QUEIROGA; LOPES, 2002). A classificação mais utilizada é a revisada por Misdorp (2002) e corroborada pela Organização Mundial da Saúde/Instituto de Patologia das Forças Armadas Americanas (OMS/AFIP).

Fatores prognósticos são estudados para que seja possível um melhor direcionamento e manejo com pacientes oncológicos humanos e animais. Exemplos são as características epidemiológicas como: sexo (MADEWELL; THEILEN, 1987; PIRES, et al., 2003) e fatores reprodutivos, como número de gestações, idade na primeira gestação, duração e regularidade do ciclo estral, castração e uso de contraceptivos também têm sido relacionados como fatores prognósticos em cadelas com neoplasmas mamários (HELMÉN et al., 1993; PEREZ ALENZA et al., 1997). Além destes, alguns estudos citam algumas raças mais acometidas por neoplasmas mamários como o teckel, pointer (MOULTON, 1990; YAMAGAMI et al., 1996) e o boxer (PIRES et al., 2003), embora esta relação não possa ser considerada como um pior fator prognóstico (PEREZ ALENZA et al., 1997; MISDORP; HART, 1976).

A adoção de critérios que permitam a padronização do diagnóstico, o entendimento do comportamento biológico e evolução tumoral e a avaliação de fatores prognósticos como morfologia, expressão de oncogenes e alterações gênicas, além de busca por novos parâmetros prognósticos e predisponentes nos pacientes oncológicos são necessários (HELMÉN et. al. (1993); PEREZ ALENZA et al. (1997). O conhecimento e adoção desses parâmetros, na rotina diagnóstica,

são fundamentais para a escolha e sucesso de terapias que comprovam diminuição da recorrência tumoral e aumento da sobrevida (MISDORP; HART, 1976; HELLMÉN et al., 1993; PEREIRA et al., 2006; MISDORP, 2002; ELSTON; ELLIS, 1991).

2.3 Minerais e neoplasmas mamários

Os níveis fisiológicos de cálcio e magnésio para cães, determinados por Meyer et al (1995) e Kaneko et al (1997), são, respectivamente, 9,0 até 11,3mg/dl e 1,8 até 2,4mg/dl. Estudos dos níveis séricos desses minerais, são descritos como fatores associados com malignidade e origem neoplásica, porém, até o momento, não foram estabelecidas estas variações (DURLACH et al., 1986; FLORIAŃCZYK; PASTERNAK, 1994; STEWART, 2005; MATOS et al., 2012).

Hipercalcemia e hipermagnesemia são alterações sorológicas que ocorrem em várias doenças, mas parecem ser infreqüentes em cães e gatos. A hipercalcemia vem sendo relacionada em humanos com a presença de neoplasmas ovarianos, ósseos e pulmonares (DICKERSIN et al., 1982; COGGESHALL et al., 1986; YOUNG; OLIVA; SCULLY, 1994; TAKAI et al., 1996; ROODMAN, 2004). Atualmente, esta alteração vem sendo relacionada com neoplasmas mamários e sua malignidade em humanos (STEWART, 2005) e existem alguns estudos em cães (MARTIN, 1998; LOBO; SILVA et al., 2005) que relacionam a hipercalcemia com maior malignidade neoplásica em decorrência da produção de Pr-PTH (proteína relacionada ao paratohormônio), que promove reabsorção óssea osteoclástica (MARTIN, 1998).

É comum observar níveis aumentados de magnésio em casos em que o cálcio sanguíneo está baixo, devido ao aumento da reabsorção renal de magnésio em resposta ao PTH secretado. Em humanos o mecanismo fisiopatológico da hipercalcemia não foi esclarecido. Foram descritas possíveis correlações com a proteína relacionada ao PTH (PTH-rp) produzido pelas células tumorais (BURTON et al., 1990; MATIAS-GUIU et al., 1994; GUIMARÃES et al., 2001). O Magnésio possui uma correlação com o cálcio em processos biológicos, agindo na regulação de níveis intracelulares de cálcio por bloquear os canais de cálcio sendo considerado uma coenzima para o cálcio-ATPase (FAWCETT et al., 1999).

2.3.1 Cálcio

Os trabalhos existentes são escassos quanto ao nível de cálcio em pacientes oncológicos, e, a maioria, são relatos de casos: Guimarães et al. (2001) estudaram três casos em humanos com neoplasmas mamários; Takahashi et al. (2007) relata um cão com leucemia, onde o cálcio apresentava-se normal; e Chiang et al. (2007) descreve um caso de um cão com carcinoma renal que também apresentava cálcio normal. Entre as neoplasias correlacionadas com hipercalcemia em humanos podem ser citadas: carcinoma severo, carcinoma espinocelular derivado de cisto dermóide e disgerminoma (YOUNG; OLIVA; SCULLY, 1994) e melanoma cutâneo (ATTIA et al., 2003).

Estudos sugerem que alguns tipos neoplásicos, principalmente malignos, tais como melanoma (ATTIA et al., 2003), carcinoma de ovário (BURTON et al., 1990; MATIAS-GUIU et al., 1994) e carcinoma in situ em mama (BAE et al., 2007) liberam PTH-rP (proteína relacionada ao paratohormônio), que tem uma ação semelhante ao PTH (paratohormônio) (ATTIA et al., 2003), e induz ao aumento da reabsorção óssea osteoclástica (MARTIN, 1998) e diminuição da excreção renal de cálcio (BROADUS et al., 1988), conseqüentemente causando hipercalcemia. Esse mecanismo também tem sido atribuído a processos osteolíticos secundários à metástases ósseas e à fatores humorais que, associado à processos osteolíticos secundários, causam aumento da reabsorção óssea e diminuição da excreção renal de cálcio (BROADUS et al., 1988).

Elevações de cálcio são esperadas pela ação do hormônio de crescimento (Gh) e a extensa osteogênese durante a formação dos núcleos de ossificação, crescimento longitudinal e maturação óssea (CASTILLO et al., 1997). Associação de hipercalcemia a neoplasias malignas, descartando-se fatores como metástase óssea e alteração em tireóide, tem sido reportada (ATTIA et al., 2003), e associada a processos osteolíticos secundários, metástases ósseas e à fatores humorais que causam aumento da reabsorção óssea e diminuição de excreção renal de cálcio (Broadus et al., 1988), como a excreção do hormônio PTH q (ATTIA et al., 2003).

Guimarães et al. (2001) observaram hipercalcemia em portadoras humanas de tumor de pequenas células de ovário, conseqüente à produção tumoral de Pr-PTH, onde todas as pacientes apresentavam hipercalcemia e concluíram que dentre os indicadores prognósticos de maior importância encontram-se: o estágio inicial da neoplasia, a idade, a presença de hipercalcemia, tamanho tumoral, presença de

grandes células, tipo de cirurgia realizada e tempo para início do tratamento. A hipercalcemia relacionada a este tipo tumoral foi descrito por Younge et al (1994). A correlação deste tipo tumoral em humanos com associação de hipercalcemia está associada a alta malignidade dos casos e baixa sobrevida (DICKERSIN et AL., 1982; YOUNG; OLIVA; SCULLY, 1994)

Atualmente, o cálcio é apontado como um medidor e marcador da atividade da proteína telomerase, em células epiteliais ovarianas. Sua ausência na fita de DNA e conseqüente ausência no telômero, faz com que a célula entre em apoptose. A telomerase é essencial para a estabilidade, identificação e função dos cromossomas e proporciona uma proteção contra a perda de seqüências de terminal resultante da replicação incompleta de moléculas de DNA linear unidirecional do RNA-primer no DNA polimerase (WATSON, 1972; OLOVNIKOV, 1973). Nas células neoplásicas o número de mitoses e o tempo de vida são superiores, quando comparadas às células normais (SUZUK et al. 2009; YAZAWA et al., 2001). A hipótese proposta quanto à telomerase, em células neoplásicas, é que a sua ativação é necessária para ocorrência de maior tempo de vida e conseqüente aumento da proliferação celular (RHYU, 1995; SHAY et al, 1995).

Níveis baixos de cálcio na espécie canina podem ser decorrentes à baixo níveis desse mineral na dieta, porém, uma dieta com baixo níveis em cálcio não seria responsável por uma hipocalcemia, a menos que esta seja dada por um longo período (BUSH, 1991). Outro fator que infere baixos níveis de cálcio são baixos níveis de albumina sanguínea, pois parte do cálcio circulante é ligado à ela (WILLARD et al., 1993).

Outro fator relacionado à alterações de cálcio é a calcinose circunscrita, também conhecida como calcinose tumoral, gota cálcica, calcinose cística apócrina ou granuloma subcutâneo multiloculado, é uma síndrome clínica caracterizada pela deposição de sais de cálcio formando nódulos subcutâneos semelhantes a neoplasias (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001). Essa condição é incomum em cães e rara em gatos (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; YAGER; SCOTT, 1994; YAGER; WILCOCK, 1994). Embora na maioria dos casos a causa primária da deposição de cálcio seja desconhecida, é muito provável que se trate de uma calcificação distrófica, pois a condição ocorre mais freqüentemente sobre os pontos de pressão ou em locais de trauma anterior (JONES; HUNT; KING, 2000; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; WILKINSON; HARVEY, 1996). Além da calcinose, as calcificações

podem ocorrer associadas à neoplasmas como em casos de neurofibroma e pseudotumores inflamatórios (pneumonia obliterante, histiocitoma fibroso e linfoplasmacítico, todos com ocorrência pulmonar) (MATSUBARA et al., 1988). Neoplasmas ósseos e ocorrência de metastases ósseas são freqüentemente relacionadas com ocorrência de hipercalemia (ROODMAN, 2004), porém esta alteração não foi observada em casos de calcinose circunscrita (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001; YAGER; SCOTT, 1993; YAGER; WILCOCK, 1994), síndrome caracterizada pela deposição de sais de cálcio formando nódulos subcutâneos semelhantes a neoplasias (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001).

2.3.2 Magnésio

O magnésio é um mineral do meio intracelular que apresenta um papel fundamental em várias reações biológicas, cumprindo papel importante em ações fisiológicas, bioquímicas, em processos imunológicos e em processos de formação de radicais livres (DURLACH et al, 1986; PASTERNAK; PRZYSZLAK, 1999), inclusive em humanos (BLADEK et al, 2001). É necessário para qualquer reação que utilize ATP, pois o complexo MgATP é o substrato (REINHART, 1988; SARIS et al., 2000). Este mineral também atua como coenzima para ATPase sódio-potássio, cálcio ATPase e bomba de prótons além de ser fundamental para a síntese de proteínas e ácidos nucléicos (MARTIN; VAN PELT; WINGFIELD, 1995).

O magnésio ativa os sistemas enzimáticos que controlam o metabolismo de carboidratos, lipídeos, proteínas e eletrólitos, influencia a integridade e transporte da membrana celular e media as contrações musculares e transmissões de impulsos nervosos. Os efeitos do magnésio podem ser mediados através de sua ação como um antagonista do cálcio ou por ser cofator de sistemas enzimáticos que envolvem o fluxo de sódio e potássio através da membrana celular (GILBERT D'ANGELO et al, 1992; McLEAN, 1994). É comum observar níveis aumentados de magnésio em casos em que o cálcio sanguíneo está baixo, devido ao aumento da reabsorção renal de magnésio em resposta ao PTH secretado (KANEKO et al., 1997). Porém, em um caminho inverso pode ser ele o desencadeante da liberação do PTH-rP em células neoplásicas com conseqüente elevação do cálcio (ESTEP et al., 1969).

Estudos indicam que o metabolismo do magnésio intra eritrocitário pode estar alterado em processos neoplásicos (DURLACH et al, 1986; PASTERNAK; PRZYSZLAK, 1999). Pesquisas mostram alterações quanto ao seu nível no tecido

neoplásico em relação ao tecido normal (RANADE; PANDAY, 1985) e sugerem que um aumento no nível de magnésio no tecido neoplásico e em eritrócitos provoca uma diminuição do conteúdo do elemento no plasma (TANSY; KENDALL, 1981; KOHLI et al., 1989). Possivelmente a elevação do magnésio no tecido neoplásico seja decorrente de sua ação no metabolismo de biossíntese de proteínas que desempenha um papel importante na intensidade de multiplicação celular (SANYEEV et al, 1993; FLORIAŃCZYK; PASTERNAK, 1994).

A deficiência de magnésio aumenta a concentração intracelular de íon Ca^{2+} , facilitando a produção de ácido úrico e radical hidroxila, produzido na presença de ferro a partir da reação de Fenton. A hidroxila também pode reagir com o óxido nítrico que está em grande concentração, formando peroxinitrito. Com a infiltração de neutrófilos na célula afetada pela deficiência de magnésio, a NAD(P)H oxidase mantém-se ativa, produzindo superóxido. Esses eventos podem desestabilizar as membranas celulares, facilitando o dano tecidual. Na persistência desse quadro, a apoptose pode ocorrer (AMORIM; TIRAPEGUI, 2008). Um estudo em 10 mulheres com neoplasma mamários demonstrou não haver associação entre níveis de magnésio sérico com o nível deste mineral no tecido neoplásico, e nem com aparecimento de metástase pulmonar ou em linfonodos (SELTZER; ROSATO; FLETCHER, 1970).

3 Artigos científicos

3.1 - ARTIGO 1

Fatores de risco e marcadores prognósticos para neoplasmas mamários de cães

Artigo formatado nas normas para encaminhamento do periódico “The Veterinary Journal”

1 **Review**

2

3 **Fatores de risco e marcadores prognósticos para neoplasmas mamários de cães**

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13 * Corresponding author. Tel.: 53- 3275-7472

14 *E-mail address:* isabelvet@hotmail.com (I.C. Pereira).

15

Resumo

Neoplasmas de glândula mamária e cutânea são freqüentes na rotina clínica de pequenos animais. A grande ocorrência de malignidade destes casos oncológicos e conseqüente alta morbidade faz desta uma população de interesse de estudo, associado a aspectos como: a grande proximidade dos cães como parte da família e o aumento da longevidade desses animais, além de semelhanças com neoplasmas na mulher possibilitando o uso da patologia comparada, buscando maior entendimento dos fatores responsáveis pela doença no humano. O presente trabalho tem a proposta de realizar revisão sistemática dos principais fatores de risco, identificando, os grupos mais propensos ao aparecimento de neoplasmas mamários caninos, e de fatores que possam auxiliar a determinação do prognóstico desses. Através dos dados desta revisão foi possível traçar o grupo mais propenso ao aparecimento de neoplasmas mamários, sendo este constituído de fêmeas na faixa etária de 6 a 14 anos de idade, não castradas e que recebem anticoncepcionais. Esta revisão demonstra também que diversos são os fatores de risco e indicadores prognósticos relacionados aos pacientes oncológicos, que podem contribuir para o clínico veterinário prever a condição individual e auxiliar na determinação de um tratamento criterioso e direcionado, porém nenhum destes é definitivo e pode ser utilizado como padrão para todos ou a maioria dos tipos neoplásicos, demonstrando a necessidade de estudos que determinem novos parâmetros nestes pacientes. Podemos concluir com essa revisão que apesar de vários trabalhos e esforços para determinar com maior exatidão grupos propensos ao aparecimento de neoplasmas e seu prognóstico para melhor manejo e condução de cada caso, ainda são necessários parâmetros a serem definidos quanto a biopatogenia dos neoplasmas.

Palavras chave: oncologia, caninos, neoplasmas mamários

Introdução

Os neoplasmas de glândulas mamárias representam mais de 50% dos tumores diagnosticados em cães (Dorn et al., 1968; Allen et al., 1986; Engström et al., 1989; Zuccari et al., 2004; Karayannopoulou et al., 2005). A observação precoce dessas neoplasias permite a procura por auxílio veterinário o que justifica esta alta frequência de diagnóstico (Conceição et al., 2004). Isto está intimamente relacionado a um melhor prognóstico do paciente, buscando um melhor controle e tratamento das neoplasias (Ruau, 1993; Zaidan Dagli, 2008).

A frequência de malignidade nos neoplasmas mamários em cães é relatada em 50% a 86% dos casos (Fantom & Withrow, 1981; Allen et al., 1986; Hellmén, 2005; Zuccari et al., 2008). Apesar da classificação histológica desses tumores em cadelas diferir da espécie humana, modelos experimentais permitem avançar no conhecimento dos diferentes aspectos da carcinogênese mamária, fazendo-se uso da patologia comparada, na busca de maior entendimento dos fatores responsáveis pela doença (Macewen, 1990; Misdorp, 1976). Têm sido estudados diversos fatores de risco e indicadores prognósticos de malignidade para grupos populacionais específicos em relação aos neoplasmas mamários em cães, tais como fatores hormonais (Fonseca & Daleck, 2000), obesidade (Pérez Alenza et al., 1998), alimentares e raciais (Sorenmo, 2003).

O estudo dos neoplasmas mamários em cães é importante devido ao benefício individual, como para outras fêmeas caninas, e também como modelo experimental, uma vez que a espécie é altamente suscetível à ocorrência de tais neoplasmas, sendo duas a três vezes mais frequente do que na espécie humana (Peleteiro, 1994; Schneider, 1970), e pela facilidade na realização das mastectomias parciais ou totais dos segmentos mamários (Luiz et al., 2002). Os neoplasmas mamários caninos possuem semelhanças em diversos aspectos com os

neoplasmas humanos (Strandberg & Goodman, 1974; Misdorp & Hart, 1976), com similaridades histológicas (Luiz et al., 2002) e de marcadores imunoistoquímicos (Gama et al., 2008a). Sendo assim, para um melhor conhecimento e estimular as pesquisas sobre o assunto a proposta deste estudo é reunir em único artigo os conhecimentos gerados em vários anos de pesquisa com os neoplasmas mamários em fêmeas caninas. Neste contexto, observou-se a necessidade de realização de revisão sistemática dos principais fatores de risco, identificando os grupos mais propensos ao aparecimento de neoplasmas mamários, e de fatores que possam auxiliar a determinação do prognóstico dos neoplasmas mamários caninos.

Material e métodos

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura científica publicada, totalizando 384 resumos avaliados. Foram incluídos apenas os artigos encontrados em sua íntegra. Enquanto os dados de base, com conhecimento já consolidado, foram também pesquisados em livros.

Foram excluídos da revisão os artigos cujos principais enfoques eram os tratamentos, diagnósticos ou comportamento neoplásico biológico e relacionado à recidivas, ou ainda os que abordassem outras localizações neoplásicas que não mama. Este artigo concentrou-se em uma revisão de identificação de fatores de risco e prognósticos em pacientes oncológicos.

As palavras-chave foram determinadas através de pesquisa na U. S. National Library Medicine – Medical Subject Headings (MeSH); e a combinação utilizada para a pesquisa inicial realizada no site da PubMed.gov (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), no mês 2 de 2012, em “all databases” o que gerou uma relação de 245 artigos através dos seguintes buscadores (indexes) “dogs neoplasms mammary risk factors OR dogs neoplasms mammary risk OR dogs neoplasms mammary prognosis OR dogs neoplasms breast risk factors OR dogs neoplasms breast risk OR dogs neoplasms breast prognosis OR dogs cancer mammary risk factors OR dogs cancer mammary risk OR dogs cancer mammary prognosis OR dogs cancer breast risk factors OR dogs cancer breast risk OR dogs cancer breast prognosis OR dogs tumors mammary risk factors OR dogs tumors mammary risk OR dogs tumors mammary prognosis OR dogs tumors breast risk factors OR dogs tumors breast risk OR dogs tumors breast prognosis”.

100 Também foram pesquisados trabalhos encontrados nas revisões bibliográficas dos
101 artigos relacionados anteriormente, quando encontrados em sua íntegra em outras fontes:
102 bireme, MEDLINE, scielo, sciencedirect, lilacs, Periódicos Capes, Oxford journals e Google
103 acadêmico. Destes artigos foram selecionados e avaliados 384 títulos, sendo utilizados 133
104 artigos, dos quais 30 obtidos através da busca no Pubmed e 103 a busca foi baseada por
105 citações dos primeiros.

106

Dados da revisão bibliográfica

Neoplasmas da Glândula Mamária

Os neoplasmas correspondem a um grande agregado de células descendentes de uma única célula ou clone “fundador”, por ocorrerem alteração que são incorrigíveis pelo sistema de reparo do DNA, gerando células mutantes. Estas dividem-se rapidamente, gerando bilhões de células alteradas, constituintes da massa tumoral, extremamente agressivas que invadem tecidos e órgãos, e podem causar metástases para todo o organismo (Yu et al., 1999; Perera & Weinstein, 2000).

O rápido desenvolvimento das glândulas mamárias durante a puberdade pode contribuir para a formação de clones de células alteradas que se tornam nódulos hiperplásicos. Tais nódulos, que têm entre 1 e 4 mm de diâmetro e não são detectáveis clinicamente podem, sob ação de fatores carcinogênicos, sofrer transformação neoplásica. O estrógeno tem um papel indireto no desenvolvimento neoplásico, por induzir à proliferação do epitélio ductal das glândulas mamárias, aumentando a atividade mitótica deste tecido propiciando as condições necessárias para que ocorram mutações genéticas, nas diferentes fases do ciclo celular (Pérez et al. 2001).

Os neoplasmas da mama canina se originam de células de revestimento epitelial, ductal ou alveolar, de células mioepiteliais periféricas e do tecido conjuntivo intersticial (Souza, et al., 2001). As neoplasias podem ser classificadas de acordo com o tecido e tipo de célula de origem (Cooper, 2001).

Há uma preocupação em se definir a malignidade neoplásica, havendo trabalhos que tentam padronizar e definir escores, este é possível apenas dentro de tipos neoplásicos específicos (Elston & Ellis, 1991; Misdorp, 2002; Karayannopoulou et al., 2005).

Tumorações de origem variada podem apresentar-se clinicamente com aspecto similar, assim como um mesmo tipo de tumor pode se manifestar sob diversos aspectos, o que dificulta a diferenciação de malignidade somente com as informações obtidas na anamnese e no exame físico; havendo a necessidade do diagnóstico citológico e histológico (Morjello & Rosenthal, 1990).

Todo aumento de tecido mamário deve ser avaliado considerando uma possível neoplasia, havendo necessidade de receber atenção especial aumentos que não estejam relacionados com pseudociese, lactação ou mastite. De forma semelhante, tumores de origem diversa daquele do tecido mamário podem aparecer na região das glândulas mamárias, sendo de grande importância ser realizada a diferenciação, para a indicação de um tratamento específico (Zuccari et al., 2001).

Fatores de Risco e Indicadores Prognósticos

Estudos recentes traçam diretrizes com objetivo de padronizar a forma de observação e manejo dos fatores prognósticos (Webster et al., 2011) assim como de facilitar critérios de abordagem dos trabalhos publicadoda (Matos et al., 2012). Mesmo com os diversos fatores já determinados e associados a fator de risco e ao prognóstico de pacientes oncológicos, os estudos demonstram a necessidade de identificação de novos parâmetros que permitam uma mais rápida e precisa associação de risco e/ou prognóstico, podendo-se aumentar a possibilidade de uma melhor informação, avaliação e determinação de tratamentos aos

pacientes oncológicos. Contribuindo para uma longevidade maior e com maior qualidade de vida do paciente com neoplasia, além de evitar custos desnecessários.

Fatores De Risco

É crescente o número de animais domésticos acometidos anualmente por algum tipo de neoplasma. Apesar da etiologia dos neoplasmas da glândula mamária em cadelas ser ainda desconhecida, há indícios de que múltiplos fatores influenciam o micro ambiente das células susceptíveis do tecido mamário causando neoplasia. Entre estes fatores predisponentes podem ser citados: idade, o estilo de vida da sociedade moderna que pode contribuir para aumentar a exposição da população canina a alguns fatores ambientais, nutricionais (obesidade e dietas ricas em gordura), químicos e principalmente hormonais potencialmente carcinogênicos (Sheen-Chen et al., 1997; Sonnenschein et al., 1991; Pérez Alenza et al., 1998; Zuccari et al., 2001).

Neoplasmas mamários caninos são considerados hormônio dependentes (Silva et al., 2004), porém a etiologia hormonal infere um índice de risco variado (Fonseca & Daleck, 2000). O papel do estrógeno no desenvolvimento neoplásico é indireto, induzindo à proliferação do epitélio ductal das glândulas mamárias e, desta forma, propiciando as condições necessárias para que mutações genéticas ocorram. O estrógeno pode estar envolvido na transição de um neoplasma benigno em maligno pela regulação de muitos protooncogenes nucleares (Perez Alenza et al., 2001; Zuccari et al., 2001). A progesterona atua significativamente sobre as glândulas mamárias das cadelas, e o ciclo estral destes animais promove uma ação prolongada desse hormônio durante o diestro, que retorna ao nível basal cerca de 80 a 100 dias após o início do estro (Gobello et al., 2001; Zuccari et al. 2001). Foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de estrógeno e progesterona

comparados entre cadelas sem alteração mamária e cadelas com neoplasmas benignas e malignas, demonstrando que os níveis destes hormônios eram maiores quando havia lesões mamárias (Queiroga et al., 2005a). A prolactina e somatotrofina têm efeito sobre o crescimento das glândulas mamárias, sendo também estudada sua influência sobre os neoplasmas mamários caninos (Queiroga et al., 2005a).

A administração de hormônios esteróides de longa ação tem sido amplamente utilizada como método de controle do ciclo estral das cadelas (Gobello, 2007). Entre estes hormônios, os esteróides naturais (progesterona e testosterona), além de uma variedade de esteróides sintéticos (acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de melengestrol, proligestona e miborelone) suprimem a atividade ovariana cíclica, através da supressão da secreção de hormônios gonadotróficos. Contudo, a administração prolongada destes progestágenos tende a resultar em hiperplasia endometrial cística e piometra subsequente, além do desenvolvimento de neoplasmas mamários (Oliveira et al., 2003).

Considerando ainda as alterações hormonais, fêmeas da espécie canina que apresentaram regularmente falsas gestações foram as mais propensas às neoplasias de mama, como consequência do desenvolvimento de estase láctea e formação de focos inflamatórios (Tanaka, 2003). Por outro lado, estudos demonstraram que apesar de haver a contribuição da ação de estrógenos endógenos para patogênese das neoplasias mamárias, os ciclos irregulares, a pseudociese e a prenhez não influenciaram no desenvolvimento de tumores mamários (Fergusson, 1985; Withrow, 1992).

De todos os fatores envolvidos no aparecimento de neoplasma, o componente de natureza hormonal tem sido o mais aceito, principalmente devido às diferenças na frequência

de neoplasmas mamárias entre cadelas castradas e não castradas (Donnay et al., 1996). Além dessa diferença é identificado um risco maior em cadelas que são castradas após o decorrer de ciclos. Quando a ovariectomia foi realizada antes do primeiro ciclo estral, resultou em aproximadamente 0,5% de risco de ocorrer neoplasma mamária. Naquelas em que a castração foi realizada após o primeiro ciclo estral esse risco aumentou para 8%, e após dois ou mais ciclos estrais o risco aumentou para 26%. Em animais com mais de 2,5 anos de idade, a castração produziu um escasso efeito profilático para neoplasma mamário, tendo em vista que nesta idade as glândulas mamárias já se desenvolveram plenamente (Schneider et al., 1969 Lana et al., 2007; Morris et al., 1998; Fonseca & Daleck, 2000). Havendo um crescente risco de desenvolvimento de neoplasma com o decorrer de ciclos, logo a castração após 30 meses de idade não é fator de proteção (Queiroga et al., 2005a;).

A interferência do homem nos hábitos alimentares dos animais e no seu ambiente também é citado como fator de risco para o desenvolvimento dessas enfermidades (Landel et al., 1985). Em relação à dieta, os pesquisadores concluíram que o risco de aparecimento de neoplasma mamária pode estar ligado a fatores nutricionais, como dietas ricas em gorduras, alimentação exclusiva com dietas caseiras e a obesidade, interagindo já nos primeiros meses da vida do animal (Sonnenschein et al., 1991; Pérez Alenza et al., 1998). Estudos demonstram maior ocorrência de neoplasmas em cães alimentados com comida caseira (Sorenmo, 1998; Perez Alenza et al., 2000), principalmente com elevada ingestão de carnes bovinas, suínas e gordura animal (Sorenmo, 1998). Estudo de caso-controle com 42 cães saudáveis, 44 com patologias variadas que não neoplasmas e 102 fêmeas com neoplasma mamária sugeriu a relação entre obesidade e sobrepeso como o fator de risco ligado com a alimentação caseira e o aparecimento de neoplasma (Perez Alenza et al., 1998). Assim como o estudo retrospectivo de neoplasmas mamários em cadelas demonstrou que filhotes de até um ano de idade, obesos,

apresentaram maior risco de desenvolvimento destes no decorrer de suas vidas (Pérez Alenza et al., 1998).

Na espécie humana a relação entre obesidade e incidência de neoplasma mamário é explicada através das elevadas concentrações de estrógeno proveniente da transformação da androstenediona em estrona e, posteriormente, em estrógeno no tecido adiposo (Yoo et al., 2001). Em humanos ainda há referência da alimentação com suplementos à base de soja como fator de risco para o desenvolvimento de neoplasma de mama uma vez que estes contém “*isoflavone genistein*” que induzem receptores de estrógeno (MCF-7) e aumentam a expressão de aromatase (catalizador da produção de estrógeno) (Van Duursen et al., 2011). Receptores de estrógeno e progesterona têm sido identificados em tecido mamário normal, em neoplasmas benignos como em neoplásicos (carcinoma) (Cassali et al., 2001; Moulton, 1990). Em neoplasias com maior grau de malignidade, a expressão dos genes que codificam os receptores desses hormônios pode estar diminuída (Peleteiro, 1994).

Outro fator considerado em humanos é o stress (Segerstrom & Miller, 2004). Nos alimentos para cães a soja está sendo integrada nas formulações comerciais (Yamka et al., 2005), mas não foram encontrados estudos específicos relacionando alimentações a base de soja e o desenvolvimento de neoplasias, assim como não foram encontrados estudos que relacionem o estresse como indutor de neoplasias em cães.

Artigos indicam não haver predisposição racial para neoplasmas mamários (Moulton et al., 1970; Peleteiro, 1994), sugerindo que a casuística entre raças varia de acordo com a popularidade delas nos diversos países (Morjello & Rosenthal, 1990). Embora, em geral, cães da raça Boxer estejam sempre bem representados nos diferentes estudos (Morjello &

Rosenthal, 1990). Para cães de médio e pequeno porte a maior ocorrência de neoplasmas mamários é demonstrado nas raças: maltes, yorkshire, teckel (Zuccari et al., 2008) poodle (Zuccari et al., 2008; Zatloukal et al., 2005), dachshunds e cocker spaniel (Zatloukal et al., 2005). Considerando também uma alta frequência em cães sem raça definida (Zuccari et al., 2008). Ainda em relação à raça, estudos que relacionam malignidade, demonstram maior ocorrência dos neoplasmas mamários de maior malignidade em cães de maior porte (Itoh et al., 2005).

Tanto na espécie canina quanto em humanos, o sexo feminino é mais afetado, tendo-se observado, semelhanças histológicas e comportamentais notórias nas duas espécies quando afetadas pelo mesmo tipo neoplásico (Queiroga E Lopes, 2002). Os machos são raramente acometidos por neoplasmas mamárias (Conroy, 1983; Mulligan 1975; Benjamin et al., 1999)

A população de risco, com maior susceptibilidade de desenvolvimento de neoplasmas mamários, considerando faixa etária, está constituída por cadelas de meia idade e idosas (Fanton & Withrow, 1981), entre 6 e 14 anos de idade, sendo que a medida que aumenta a idade aumenta o risco (Peleteiro, 1994; Muto et al., 2000; Er & Sutton, 1989; Morjello & Rosenthal, 1990; Zuccari et al., 2008). Em humanos a incidência reportada como grupo de risco considera pessoas de idade média, entre 50 e 58 anos de idade (Schneider, 1970). Nos trabalhos consultados foi incomum descrição de neoplasmas em animais com mais de 16 anos de idade, o que pode ser explicado pela longevidade destes (Patronek, 1997; LEE, 2011).

Indicadores Prognósticos

Dentre os fatores utilizados como indicadores prognósticos importantes de serem considerados em cães e em humanos com neoplasmas em glândulas mamárias estão: a classificação histológica (Perez Alenza et al., 2000; Van'T Veer et al. 2002;), estadiamento, tamanho neoplásico (Philibert et al., 2003), presença de grandes células e envolvimento de linfonodos (Perez Alenza et al., 2000; Van'T Veer et al. 2002; WHO, 2009).

A OMS estabeleceu um sistema de estadiamento TNM (“tumor-node-metastasis”) para os neoplasmas da glândula mamária de modo a facilitar a determinação do prognóstico dos tumores mamários. Com a avaliação de três parâmetros: 1º - tamanho do tumor primário; 2º - metastização nos linfonodos regionais (inguinais superficiais e axilares); 3º - metastização à distância (Rutteman & Kirpensteijn, 2003).

Foi observada uma associação de malignidade em tumores com tamanho entre 3 a 5 cm enquanto que os benignos apresentam-se inferiores a 3 cm e tiveram uma associação com a sobrevida (Misdorp e Hart, 1976; Yamagami et al, 1996; Itoh et al., 2005). Essa correlação entre malignidade, tamanho tumoral e sobrevida também é descrita em humanos (Chu et al., 1998; Jacquemier et al., 1998; Kato et al., 1999).

A ovariectomia, enquanto influência hormonal, definida como fator de risco para aparecimento de neoplasma, não constitui um fator indicador de prognóstico quando realizada no momento da mastectomia (Moore, 2006).

A mensuração da densidade vascular tem sido investigada como um marcador prognóstico objetivo. Ela é utilizada para medir a capacidade angiogênica das células

tumorais (Turner et al, 2003; Folkman, 2006). A maior densidade de microvascularização e neovasos, está ligada à malignidade e baixa sobrevida do paciente (Saenz et al., 1998; Restucci et al., 2000; Maiolino, 2001; West et al., 2005). Pesquisas da densidade de microvascularização tumoral relacionada com neoplasmas mamários em cães demonstram que este é um fator prognóstico (Restucci et al., 2000), onde a maior densidade está relacionada tanto à malignidade (Goede et al., 1998) quanto à menor sobrevida (Weidner et al., 1991; Bosari et al., 1992; Craft e Harris, 1994; Toi et al., 1995). Na mulher a microvascularização tumoral também está associada ao processo de metastização (Locopo et al., 1998), e mau prognóstico (Weidner et al., 1991; TOI et al., 1995; Charpin et al., 1997b; Jacquemier et al., 1998; Narita et al., 1998). Além de ser bem definido como fator prognóstico independente em pacientes oncológicos com neoplasmas mamários (Horak et al., 1992; Toi et al., 1995; Charpin et al., 1997b; Weidner 1998). Este fator apresenta uma alta aplicabilidade, apesar de modificações e adaptações na metodologia, podendo suplementar o grau histológico em alguns casos (Sharma et al., 2005, Folkman, 2006). Embora a angiogênese não seja fator determinante do crescimento do neoplasma ou da capacidade de metástase (Weidner, 1995, Folkman, 2006) a vascularização está envolvida no crescimento tumoral, pois novos vasos permitem a troca de nutrientes, oxigênio e catabólitos, onde a difusão simples destas substâncias para uma grande população celular não seria possível (Restucci et al., 2000).

Infiltração linfocitária pode ser utilizada como indicador prognóstico por estar correlacionada tanto ao Ki-67 e quanto ao PCNA, que são marcadores celulares, que a alta expressão de cada um está associada ao mau prognóstico oncológico, baixa sobrevida e ao aparecimento de úlceras (Peña et Aal., 1998; Nowak et al., 2006; Moore, 2006; Zuccari et al., 2008). A ulceração cutânea foi constatada como fator exclusivo de pacientes com neoplasmas malignos (Zárate, 1996; Queiroga e Lopes, 2002). A ocorrência de metástases em linfonodos

regionais (axilares e /ou inguinais) e sua associação com malignidade neoplásica é observada em estudos em humanos (Hietanen et al., 1986) e caninos (Parodi, 1983; Yamagami et al., 1996; Pérez Alenza et al., 1997).

A relaxina-2 (RLX-2), hormônio com funções na remodelação do tecido de conexão, é considerada carcinogênica nos tumores mamários humanos, por ser capaz de potencializar, in vitro, a invasão dos tecidos adjacentes à glândula mamária, encontrando-se em concentrações plasmáticas elevadas nos casos de desenvolvimento metastático, relacionando-se, desse modo, com a diminuição da sobrevida das mulheres. Nos cães esse hormônio é relacionado com invasividade e consequente mau prognóstico (Lamp et al., 2009).

As caspases são uma família de enzimas responsáveis pela coordenação do processo apoptótico das células. Entre as caspases, a caspase-3, é a mais prevalentes nas células. Um estudo identificou um pequeno número de tumores mamários benignos e de carcinomas inflamatórios portadores de caspase-3, detectando, no entanto, uma maior expressão de caspase-3 nos carcinomas primários metastáticos e nas metástases pulmonares. Esta disfunção apoptótica ativa uma maior reposição celular e consequente expansão neoplásica (Zimmermann & Green, 2001; Ohashi et al., 2006).

A interleucina-8 está sendo considerada como potencial fator prognóstico de neoplasmas mamários. Em caninos uma menor marcação desta interleucina está sendo associada com angiogênese e processos inflamatórios e consequentemente maior malignidade (Zuccari et al., 2011).

O índice mitótico em humanos (Jacquemier et al., 1998; Biesterfeld et al., 1995) e em cães é um fator prognóstico, onde quanto maior o índice mitótico maior a possibilidade de malignidade (Kumar et al., 2010). Desta mesma forma, o grau histológico de malignidade, que é determinado pela quantificação da anaplasia, formação tubular, atividade mitótica e pleomorfismo nuclear, tem sido utilizado como fator prognóstico para os carcinomas mamários de cadelas e gatas (Misdorp, 2002).

As técnicas de biologia molecular vêm favorecendo o aprofundamento dos conhecimentos genéticos, conduzindo a diagnósticos precoces e precisos (Zuccari, et al., 2001). Diversos marcadores estão sendo correlacionados com o prognóstico neoplásico em cães e gatos. Como alterações genéticas foram consideradas responsáveis pelo aparecimento de muitos tipos tumorais, a expressão de determinados oncogenes e de genes supressores foi determinada em diferentes tipos histológicos de neoplasmas mamários buscando associação entre sua expressão e a malignidade ou o prognóstico.

Embora existam muitas pesquisas, os marcadores moleculares ainda são muito pouco utilizados na rotina clínica na medicina veterinária para pacientes oncológicos, o que não difere muito da medicina humana onde até 2009 eram utilizados na rotina de pacientes oncológicos apenas três marcadores: ER, PR e HER-2 (Geyer et al., 2009). Na Veterinária, também são pouco usados, sendo indicadores de malignidade ou mau prognóstico, o p53, c-yes, BRCA1, TopBP1, COX-2, Ki-67, MUC1, Caveolina-1, proteína HER-2 também conhecida como c-erbB-2 e a maior expressão do receptor do fator de crescimento tumoral (EGFR) pode indicar mau prognóstico (Ahern et al., 1996; Charpin et al., 1997a; Gamblin et al., 1997; Ross & Fletcher, 1998; Rungsipipat et al., 1999; Aziz et al., 2002; Nieto et al., 2003; Lee et al., 2004; Almasri & AL Hamad, 2005; Queiroga et al, 2005b; Millanta et

al.,2006; Scase et al, 2006; Queiroga et al. 2007; Zuccari et al., 2008; Maglennon et al, 2008; de Oliveira et al, 2009; Hsu et al,2009; te Velde et al., 2009; Morris et al., 2009; Dias Pereira et al., 2010; Queiroga et al, 2010).

Marcadores podem também indicar um prognóstico favorável como é o caso da alta expressão de β -catenina (Matos et al., 2006; Gama et al., 2008b) e de e-caderina as quais identificam que a adesão inter-celular está preservada em humanos (Heimann et al., 2000; Pedersen et al. 2002) e em cães (Zuccari et al., 2008; Matos et al., 2006; Gama et al., 2008b). O HER-3 (c-erbB-3) é bastante controverso, havendo estudos que relacionam sua Expressão com pior prognóstico em cadelas (Bieche et al., 2003) assim como em humanos (Witton et al.,2003), porém outros o identificam como fator de proteção demonstrando melhor prognóstico (Lee et al., 2007; Koutras et al., 2008). O trabalho de Kim et al (2011) sugere que a localização de HER-2 e HER-3 são importantes para que se confirme essa correlação entre eles com o prognóstico de neoplasmas mamários em cães.

Várias citoquinas (CK5 , CK5/6, CK5/14, CK8, CK 14, CK18, CK19) estão sendo também estudadas quanto a sua expressão em relação ao prognóstico de pacientes oncológicos (Gama et al., 2010; Laakso et al., 2005; Reis-Filho et al., 2003), porém os trabalhos que encontraram mais forte correlação são direcionados à apenas um tipo tumoral, como o carcinoma (Bhargava et al., 2008).

A uroquinase ativadora de plasminogênio (*uroquinase plasminogen activator - uPA*)” (Santos et al., 2011), por estar envolvida com a proteólise de metaloproteinases (Han et al, 2006) poderia contribuir para a degradação da matriz extracelular e da membrana basal, e desta forma constituir um marcador importante (Andreasen et al., 1997).

O incremento no número de trabalhos sobre marcadores celulares frente aos outros fatores pode ser entendida como uma busca por padrões específicos e sensíveis para pacientes com diferentes neoplasmas mamários.

Além destes fatores, alguns autores citam alterações no perfil de minerais sanguíneos como fator prognóstico. Entre elas, a hipercalcemia, como um fator prognóstico desfavorável, porém ainda sem uma padronização adequada e sem a definição se esta é uma causa ou consequência do aparecimento neoplásico mamário (Guimarães et al., 2001).

Alguns parâmetros prognósticos são úteis apenas para casos específicos de tipos neoplásicos, como é o caso do método de Elston and Ellis (1991) que se mostrou significativo apenas para carcinoma simples (Karayannopoulou et al., 2005) o que dificulta a padronização de um método para ser usado como parâmetro preditor de neoplasmas mamários.

Esta revisão foi capaz de agrupar e atualizar dados sobre diversos fatores de risco e indicadores prognósticos, porém demonstra que não há um padrão bem definido e definitivo. Assim, verifica-se que há necessidade de aprofundamento do estudo dos indicadores e/ou novos indicadores que possam identificar previamente a ocorrência da doença e que auxiliem na determinação do prognóstico clínico, considerando maior sobrevida dos cães e a qualidade de vida para esses pacientes, concordando com diversos outros estudos (Misdorp & Hart, 1976; Hellmén et al., 1993; Pereira et al., 2006; Elston & Ellis, 1991).

Conclusões

Foi possível traçar o grupo mais propenso ao aparecimento de neoplasmas mamários, sendo este constituído de fêmeas na faixa etária de 6 a 14 anos de idade, não castradas, que recebem anticoncepcionais e alimentação caseira.

Esta revisão demonstra que diversos são os fatores de risco e indicadores prognósticos relacionados aos pacientes oncológicos, que podem contribuir para o clínico veterinário prever a condição individual e auxiliar na determinação de um tratamento criterioso e direcionado, porém nenhum destes é definitivo e pode ser utilizado como padrão para todos ou a maioria dos tipos neoplásicos, demonstrando a necessidade de estudos que determinem novos parâmetros nestes pacientes. Além disso, podemos concluir que, ainda são necessários parâmetros a serem definidos quanto a biopatogenia dos neoplasmas para melhor manejo e condução de cada caso.

Referências

- Ahern, T.E., Bird, R.C., Bird, A.E., Wolfe, L.G. 1996. Expression of the oncogene c-erbB2 in canine mammary cancer and tumor-derived cell lines. *American Journal of Veterinary Research* 57, 693–696.
- Allen, S.W., Prasse, K.W., Mahaffey, E.A. 1986. Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology* 23(6), 649-655.
- Almasri, N.M., Al Hamad, M., 2005. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan. *Breast Cancer Research* 7, R598– R604.
- Andreasen, P.A., Kjoller, L., Christense, L., Duffy, M.J., 1997. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *International Journal of Cancer* 72, 1–22.

- Anderson, T. J., 1996. Sarcomas óseos primarios del perro y del gato, diagnóstico y opciones de tratamiento. *Waltham Focus* 6(3), 21-30.
- Aziz, S.A., Pervez, S., Khan, S., Kayani, N., Rahbar, M.H., 2002. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a prognostic marker: an immunohistochemical study on 315 consecutive breast carcinoma patients. *J Pak Med Assoc.* 52(3), 104-10.
- Benjamin, S. A., Lee, A. C., Saunders, W. J., 1999. Classification and Behavior of Canine Mammary Epithelial Neoplasms Based on Life-span Observations in Beagles. *Vet Pathol* 36, 423–436.
- Bhargava, R., Beriwal, S., Mcmanus, K., Dabbs, D.J., 2008. CK5 Is More Sensitive Than CK5/6 in Identifying the “Basal-like” Phenotype of Breast Carcinoma. *American Journal of Clinical Pathology.* 130, 724-730.
- Biesterfeld, S., Noll, I., Md, Noll, E., Wohltmann, D., Bocking, A., 1995. Mitotic Frequency as a Prognostic Factor in Breast Cancer. *Human pathology* 26, (1).
- Bieche, I., Onody, P., Tozlu, S., Driouch, K., Vidaud, M., Lidereau, R., 2003. Prognostic value of ERBB family mRNA expression in breast carcinomas. *Internal Journal of Cancer* 106, 758–765.
- Bosari, S., Lee, A.K., Delellis, R.A., Wiley, B.D., Heatley, G.J., Silverman, M.L., 1992. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Human Pathology*, 23, 755-761.
- Bostock, D.E., 1986. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *Brazilian Veterinary Journal* 142, 1-19.
- Bostock, D.E., 1975. The prognosis following the surgical excision of canine mammary neoplasms. *European Journal of Cancer* 11, 389-396.

- Bronson, R.T., 1982. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. American Journal of Veterinary Research, v.43, n.1, p.2057-2059,.
- Charpin, C., Garcia, S., Bouvier, C., Martini, F., Lavaut, M.N., Allasia, C., Bonnier, P., Andrac, L., 1997a. C-erbB-2 oncoprotein detected by automated quantitative immunocytochemistry in breast carcinomas correlates with patients' overall and disease-free survival. British Journal of Cancer 75,1667–1673.
- Charpin, C., Garcia, S., Bouvier, C., Martini, F., Andrac, L., Bonnier, P., Lavaut, M.N., Allasia, C., 1997b. CD31/PECAM automated and quantitative immunocytochemical assays in breast carcinomas: correlation with patient followup. American Journal of Clinical Pathology, 107, 534-541.
- Chu, J.S., Huang, C.S., Chang, K.J.. 1998. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolabeling as a prognostic factor in invasive ductal carcinoma of the breast in Taiwan. Cancer Letters 131, 145-152.
- Conceição, L.G. et al. 2004. Biópsia e histopatologia da pele: um valioso recurso diagnóstico na dermatologia - revisão - parte 1. Clínica Veterinária 9, 36-44.
- Conroy, J.D., 1983. Canine skin tumors, Journal of the American Animal Hospital Association 19(1), 91-114.
- Cooper, G.M., 2001. A Célula. Uma Abordagem Molecular. Artmed. 2ªEd., 633-74.
- Craft, P.S., Harris, A.L., 1994. Clinical prognostic significance of tumour angiogenesis. Annals of Oncology 5, 305-311
- Dal-Farra, R. A., Representações de animais de companhia na cultural contemporânea: uma análise na mídia impressa. Semiosfera: revista de comunicação e cultura, ano3, n7. Disponível em: <http://www.eco.ufrj.br/semiosfera/anteriores/semiosfera07/conteudo_rep_rdalfarra.htm> Acesso em: 26 jun. 2006.

- De Oliveira, J.T., Pinho, S.S., Matos, A.J.De, Hespanhol, V., Reis, C.A., Gärtner, F. 2009. MUC1 expression in canine malignant mammary tumours and relationship to clinicopathological features. *The Veterinary Journal* 182, 491–493.
- Dias Pereira, P., Lopes, C.C., Matos, A.J.F., Cortez, P.P., Gärtner, F., Medeiros, R., , Lopes C. 2010. Caveolin-1 in Diagnosis and Prognosis of Canine Mammary Tumours: Comparison of Evaluation Systems. *Journal Comp. Pathology.* 142, 87-93. doi:10.1016/j.jcpa.2010.01.002
- Dobson, J. M., Gorman, N. T. 1988. A clinical approach of the management of skin tumors in dogs and cats. *In Practice*, 10(2), 55-68.
- Donegan, W.L. Staging methods, primary treatment options and results In: Donegan WL, Spratt JS, editors. *Cancer of the breast*. 2th ed. Philadelphia: Saunders, 1979. p. 221
- Donnay, I., Devleeschouwer, N., Wouters-Ballman, P., Leclercq, G., Versteegen, J. 1996. Relationship between receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Research in Veterinary Science* 60, 251-254.
- Dorn, C.B., Taylor, D.O.N., Schneider, R., Hibbard, H.H., Klauber, M.R. 1968. Survey of animal neoplasms in alameda and contra costa countries. Calif. II cancer morbidity in dogs and cats from alameda county. *Journal of National Cancer Institute* 40, 307-318,.
- Elston, C. W. & Ellis, I. O. 1991. 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* 19, 403 – 410.
- Engström, W., Möllermark, G., Kängström, Le., Lars-Son, O. 1989. Some molecular characteristic of canine mammary tumors and their relationship to biological malignancy and prognosis. *Zoological Science* 6: 15-18.
- Er, J. C., Sutton, R. H. 1989. A survey of skin neoplasms in dogs from Brisbane region. *Australian Veterinary Journal* 66(7), 225-227,.

- Fanton, J.W. & Withrow, S.J. 1981. Canine mammary neoplasia: an overview. *Cal. Vet* 7, 12-16.
- Fergusson, H.R. 1985. Canine Mammary Gland Tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 15(3), 501-11.
- Fidler, I.J. & Brodey, R.S., 1967. The biological behavior of canine mammary neoplasms. *J.A.V.M.A.* 151, 1311-1318.
- Folkman, J., 2006. Angiogenesis. *Annual Review in Medicine* 57, 1–18.
- Fonseca, C.S., Daleck, C.R., 2000. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. *Ciência Rural* 30(4), 731-735.
- Gama, A., Alves, A., Schmitt, F., 2010. Expression and prognostic significance of CK19 in canine malignant mammary tumours. *The Veterinary Journal* 184, 45–51.
- Gama, A., Alves, A., Schmitt, F., 2008a. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Archive* 453, 123–132.
- Gama, A., Paredes, J., Gartner, F., Alves, A., Schmitt, F. 2008b. Expression of E-cadherin, P-cadherin and b-catenin in canine malignant mammary tumours in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. *The Veterinary Journal* 177(1), 45–53.
- Gamblin, R.M., Sagartz, J.E., Couto, C.G. 1997. Over expression of p53 tumor suppressor protein spontaneous lyarising neoplasms of dogs. *American Journal of Veterinary Research* 58(8), 857–863.
- Geyer, F., Marchio, C., Reis-Filho, J., 2009. The role of molecular analysis in breast cancer. *Pathology* 41, 77–88.

- Gobello, C. 2007. *Animal Reproduction Science*, 100,1–13.
doi:10.1016/j.anireprosci.2006.08.02
- Gobello, C., Concannon, P. W., Verstegen, J. Pseudopreñez canina: Una revisión In: *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, Ithaca: International Veterinary Information Service, 2001. Disponível em
http://www.ivis.org/advances/Concannon/gobello_es/IVIS.pdf. Acesso em 15/02/2012
- Goede, V., Fleckenstein, G., Dietrich, M., Osmers, R.G.W., Kuhn, W., Augustin, H.G., (1998) Prognostic value of angiogenesis in mammary tumors. *Anticancer Research*. 18, 2199-220
- Gonzalez, L.O., Pidal, I., Junquera, S., Corte, M.D., Vazquez, J., Rodriguez, J.C., Lamelas, M.L., Merino, A.M., Garcia-Muniz, J.L., Vizoso, F.J. 2007. Overexpression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in mononuclear inflammatory cells in breast cancer correlates with metastasis-relapse. *Brazilian Journal of Cancer* 97, 957-963.
- Guimarães, G. C., Novik, P. R., Gadelha, A. P., Cruz, S. M. da, Coudry, R de A., Abraão, F. S. 2001 Carcinoma de Pequenas Células Hipercalcêmico do Ovário. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 23(7), 451-455.
- Han, B., Nakamura, M., Zhou, G., Ishii, A., Nakamura, A., Bai, Y., Mori, I., Kakudo, K. 2006. Calcitonin inhibits invasion of breast cancer cells: involvement of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and uPA receptor. *International Journal of Oncology* 28, 807–814.
- Heimann, T., Lan, F.S., McBride, R., Hellman, S., 2000. Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin. *Cancer Research* 60, 298-304.
- Hellmén, E., 2005. Complex mammary tumours in the female dog: a review. *Journal Dairy Research* 72, 90-97.

- Hellmén, E., Bergström, R., Holmberg, L., Spangberg, I. B., Hansson, K., Lindgren, A. 1993. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. *Veterinary Pathology* 30, 20-27.
- Hietanen, P., Miettinen, M., Mäkinen, J., (1986) Survival after first recurrence in breast cancer. *European. Journal Cancer Clin. Oncol.*, 22, 913-919.
- Hojilla, C.V., Wood, G.A., Khokha, R. Metalloproteinases as common effectors of inflammation and extracellular matrix breakdown in breast cancer. *Breast Cancer Research* 2008, 10:205 (doi:10.1186/bcr1980), Available online <http://breast-cancer-research.com/content/10/2/205>
- Horak, E.R., Leek, R., Klenk, N., Lejeune, S., Smith, K., Stuart, N., Greenall, M., Stepniewska, K., Harris, A.L., 1992. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *The Lancet* 340, 1120-1124
- Hsu, W.L., Huang H.M., Liao, Wong, J.W.,M.L., Chang, S.C. 2009. Increased survival in dogs with malignant mammary tumours over expressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. *The Veterinary Journal*. 180, 116–123.
- Itoh, T., Uchida, K., Ishikawa, K. Kushima, K. Kushima, E. Tamada, H. Moritake, T. Nakao, H., Shii, H. 2005. Clinicopathological surgery of 101 canine mammary gland tumors: differences between small-breed dogs and others. *Journal of Veterinary Medical Science, Tokyo* 67(3), 345-347.
- Jacquemier, J.D., Penault-Llorca, F.M., Bertucci, F., Sun, Z.Z., Houvenaeghel, G.F., Geneix, J.A., Puig, B.D., Bardou, V.J., Hassoun, J.A., Birnbaum, D., Viens, P.J. 1998. Angiogenesis as a prognostic marker in breast carcinoma with conventional adjuvant chemotherapy: a multiparametric and immunohistochemical analysis. *Journal of Pathology*, 184: 130-135.

- Karayannopoulou, M., Kaaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., Dessiris, A. 2005..
Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a
human grading method. *Journal of Comparative Pathology*, Edinburgh, 133(4) 246-252.
- Kato, T., Kimura, T., Ishii, N., Fujii, A., Yamamoto, K., Kameoka, S., Nishikawa, T.,
Kasajima, T., 1999. The methodology of quantitation of microvessel density and
prognostic value of neovascularization associated with long-term survival in Japanese
patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 53: 19-31.
- Kim, J.H., Im, K.S., Kim, N.H., Yhee, J.Y., Nho, W.G., Sur, J.H. 2011. Expression of HER-2
and nuclear localization of HER-3 protein in canine mammary tumors:
histopathological and immunohistochemical study. *The Veterinary Journal*. 189 (3),
318-22.
- Koutras, A.K., Kalogeras, K.T., Dimopoulos, M.A., Wirtz, R.M., Dafni, U., Briasoulis, E.,
Pectasides, D., Gogas, H., Christodoulou, C., Aravantinos, G., Zografos, G.,
Timotheadou, E., Papakostas, P., Linardou, H., Razis, E., Economopoulos, T.,
Kalofonos, H.P., Fountzilas, G., 2008. Evaluation of the prognostic and predictive value
of HER family mRNA expression in high-risk early breast cancer: a Hellenic
Cooperative Oncology Group (HeCOG) study. *British Journal of Cancer* 99, 1775–1785.
- Kumar, P., Kumar, R. Pawaiya, R.S., Puttaswamy, M.B. 2010. Diagnostic significance of
mitotic index and AgNOR count in canine mammary tumours. *Brazilian Journal of
Veterinary Pathology* 3(1), 41-45.
- Laakso, M., Loman, N., Borg, A., Isola, J. 2005. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true
basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Modern Pathology*, 18, 1321–1328
- Lamp, O., Honscha, K.U., Jakob, J., Lamp, J., Schweizer, S., Reischauer, A., Gottschalk, J.,
Hahn, A., Ebert, M., Rothmund, S., Blaschzik, S., Einspanier, A., 2009. Investigation
of the Local Expression of the Relaxin System in Canine Mammary Tumours. *Reprod
Dom Anim* 44 (Suppl. 2), 224–229. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01385.x

- Lana, S.E., Rutteman, G.R., Withrow, S.J. 2007. Tumors of the mammary gland. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, St. Louis: Saunders, 4th ed., 619-636.
- Landel, A.M., Hammond, W.G., Meguid, M.M. 1985. AMINO ACID METABOLISM IN CANCER-BEARING STATES *CANCER January 1 v. 55, Supplement*
- Lee, C., Kim, W., Lim, J., Kang, M., Kim, D., Kweon, O. 2004. Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. *Journal of Veterinary Science* 5, 63–69.
- Lee, P., 2011. Longevity of the Australian Cattle Dog: Results of a 100-dog survey. *ACD Spotlight* . 4, 96-105.
- Lee, Y., Cho, S., Seo, J.H., Shin, B.K., Kim, H.K., Kim, I., Kim, A., 2007. Correlated expression of erbB-3 with hormone receptor expression and favorable clinical outcome in invasive ductal carcinomas of the breast. *American Journal of Clinical Pathology* 128, 1041–1049.
- Locopo, N., Fanelli, M., Gasparini, G., 1998. Clinical significance of angiogenic factors in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 52,159-173.
- London, C.A., Seguin B., 2003. Mast cell tumors in the dog. *Vet. Clin. North Am. Small An. Pract.*, 33, 473-489.
- Luiz, C. R., Miglino, M. A., Santos, T.C. 2002. Segmentos anatômico-cirúrgicos arteriais da glândula mamária em cães (canis familiaris, Linnaeus, 1758). *Archives of Veterinary Science* v.7(1) 27-36.
- Macewen, E.G. 1990. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer and Metástases Review* 9(1),125-136.
- Maglennon, G.A., Murphy, S., Adams, V., Miller, J., Smith, K., Blunden, A., Scase T. J. 2008. Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology* 6 (4), 268–274.

- 727
- 728 Maiolino, P., Papparella, S. Restucci, B., De Vico, G. 2001. Angiogenesis in Squamous Cell
729 Carcinomas of Canine Skin: An Immunohistochemical and Quantitative Analysis.
730 Journal of Comparative Pathology., 125, 117–121.
731
- 732 Matos, A.J.F., Lopes, C., Carvalheira, J., Santos, M., Rutteman, G.R., Gartner, F., 2006. E-
733 cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other
734 clinico-pathological variables. Journal of Comparative Pathology 134,182–189.
735
- 736 Matos, A.J.F., Baptista, C.S., Gärtner, M.F., Rutteman, G.R. 2012. Prognostic studies of
737 canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. The
738 Veterinary Journal. doi:10.1016/j.tvjl.2011.12.019
739
- 740 Mcshane, L.M., Altman, D.G., Sauerbrei, W., Taube, S.E., Gion, M., Clark, G.M. 2005.
741 Reporting recommendations for tumour Marker prognostic studies (REMARK).
742 Brazilian Journal of Cancer 93, 387–391.
743
- 744 Merlo, D.F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi M, Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A.,
745 Sambucco, P.L., Sestito, V., Tanara, G., Bocchini, V. 2008. Câncer incidence in pet
746 dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. Journal of Veterinary
747 Intern Medecine. 22, 976-984.
748
- 749 Michell, A.R.1999. Longevity of british breeds of dogs and its relationships with sex, size,
750 cardiovascular variables and disease. Veterinary Record, v.145(27), 625-629.
751
- 752 Millanta, F., Citi, S., Dellasanta, D., Porciani, M., Poli, A., 2006. COX-2 expression in canine
753 and feline invasive mammary carcinomas: correlation with clinicopathological features
754 and prognostic markers. Breast Cancer Research and Treatment 98, 115–120.
755
- 756 Misdorp, W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. Tumors in domestic animals.
757 Iowa State Press, 4th ed., 2002, p.575-606.
758
- 759 Misdorp, W., Hart, Aa. 1976. Prognostic factors in caninemammary cancer. Journal of the
760 National Cancer Institute 56 (4), 779-786.

- Misdorp, W., 1976. Histologic classification and further characterization of tumors in domestic animals. Review. *Adv Vet Sci Comp Med.* 20, 191-221.
- Moore, A. (2006). Advances in the treatment of mammary neoplasia. In M. Svoboda (Ed.), *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association, Prague, Czech Republic. Czech Republic: World Small Animal Veterinary Association.*
- Morjello, K. A., Rosenthal, R. C. 1990. Clinical approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20(4) 1163-1191.
- Morris, J.S., Dobson, J.M., Bostock, D.E., O'farrell, E. 1998. Effect of ovariohysterectomy in bitches with mammary neoplasms. *Veterinary Record*, 142, 656-658.
- Morris, J.S., Nixon, C., King, O.J., Morgan, I.M., Philbey, A.W. 2009. Expression of TopBP1 in canine mammary neoplasia in relation to histological type, Ki67, E-cadherin and p53. *The Veterinary Journal* 179, 422-429.
- Moulton, J.E., Taylor, D.O.N., Dorn, C.R., Andersen, A.C. 1970. Canine mammary tumor. *Pathology Veterinary* 7(4), 289-320.
- Mulligan, R.M. 1975 Mammary cancer in the dog: a study of 120 cases. *American Journal Veterinary Research.* 36(9), 1391-6.
- Muto, T., Wakui, S., Takahashi, H., Maekawa, S., Masaoka, T., Ushigome, S., Furusato, M. 2000. P53 gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumor of the dog. *Veterinary Pathology, Washington* 37, 248-243.
- Narita, M., Nakao, K., Nakahara, M., Onishi, A., Tsujimoto, M. 1998. Independent prognostic factors in breast cancer patients. *American Journal of Surgery*, 175 (1), 73-75.

- Nieto, A., Pena, L., Perez-Alenza, D., Delcastillo, N., Tabanera, E., Castano, M., Pena, L. 2003. BRCA1 expression in canine mammary dysplasia and tumours: relationship with prognostic variables. *Journal of Comparative Pathology* 128, 260–268.
- Nowak M., Madej J.A., Dziegiel P. & Kanzawa H. 2006. Immuno-histochemical identification method of tumour cells in the S phase of mitotic cycle and its usefulness in diagnostics of mammary gland adenocarcinomas in bitches. *Pol. Journal Veterinary Science* 9(1), 57-62.
- Ohashi, E., Miyajima, N., Nakagawa, T., Takahashi, T., Kagechika, H., Mochizuki, M., Nishimura, R., Sasaki, N. 2006. Retinoids induce growth inhibition and apoptosis in mast cell tumor cell lines. *Journal of Veterinary Medical Science*, 68 (8), 797-802.
- Oliveira, E. C. S., Marques Júnior, A. P., Neves, M. M. A. 2003. Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela – revisão. *Archives of Veterinary Science, Curitiba*, 8(1), 1-12.
- Parodi, A.L., (1983) Les elements du pronostic des cancers mammaires de la chienne. *Pratique Médical et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie*, 18 (2), 31-36.
- Patronek, G.J., Waters, D.J., Glickman, L.T., 1997. Comparative longevity of pet dogs and humans: implications for gerontology research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 52(3)171-8.
- Pedersen, K.B., Nesland, J.M., Maelandsmo, G.M., 2002. Expression of S100A4, E-cadherin, and catenin in breast cancer biopsies. *British Journal of Cancer* 87, 1281-1286.
- Pereira, F.M., Ferreira, E., Leitão, D.R.A., Cassali, G.D. 2006. Double-staining immunohistochemistry of canine mammary neoplasms. *Communication. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58(4), 681-684.
- Peleteiro, M. C., 1994. Tumores mamários na cadela e na gata. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, Lisboa* 89 (509), 10-34,.

- Peña, L.L., Nieto, A.I., Perez-Alenza, D., Cuesta, P. & Castano, M., 1998. Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathologic variables. *Journal of Veterinary. Diagnosis. Investig.* 10(3), 237-246.
- Perera, F. P., Weinstein, I.B. 2000. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis, Oxford* 21, 517-24.
- Pérez Alenza, M.D., Pena, L., Nieto, A.I., Castaño, M., 1997. Clinical and pathological prognostic factors in canine mammary tumors. *Ann. Ist. Super. Sanità.*, 33(4), 581-585.
- Perez Alenza, M.D., Peña, L., Del Castilho, N., Nieto, A.L. 2000. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *Small Animal Practice.* 41(10), 476.
- Perez Alenza, M.D., Rutteman, G. R., Peña, L., Beynen, A. C., Cuesta, P. 1998. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine, Lawrence* 12(3), 132-9.
- Pérez Alenza, .M.D., Tabanera, E., Peña, L. 2001. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg* 219(15), 1110 –1114.
- Philibert, J.C., Snyder, P.W., Glickman, N., Glickman, L.T., Knapp, D.W., Waters, D.J. 2003. Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17,102-106.
- Proschowsky, H.F., Rugbjerg, H., Ersboll, A. K. 2003. Mortality of purebreed and mixedbreed dogs in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine* 58 (2), 63-74.
- Queiroga, F., Lopes, C.2002. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, Lisboa*, 97, 119-127.

- Queiroga, F. L., Pérez-Alenza, M. D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., Illera, J. C. 2005a. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford 94, 181-187.
- Queiroga, F.L., Perez-Alenza, M.D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., Illera, J.C. 2005b. Cox-2 levels in canine mammary tumors, including inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological features and prognostic significance. *Anticancer Research* 25, 4269–4275.
- Queiroga, F.L., Pires, I., Lobo, L., Lopes, C. S. 2010. The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours. *Research in Veterinary Science* 88, 441–445.
- Queiroga, F.L., Alves, A., Pires, I., Lopes, C., 2007. Expression of Cox-1 and Cox-2 in canine mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology* 136, 177–185.
- Reis-Filho, J.S., Simpson, P.T., Martins, A., Preto, A., Gärtner, F., Schmitt, F.C. 2003. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin 14 in 51 normal and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. *Virchows Archives*, 443, 122-132.
- Restucci, B., De Vico, G., Maiolino, P. 2000. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 37, 297–301.
- Ross, J.S., Fletcher, J.A., 1998. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *The Oncologist* 3, 237–252.
- Ruau, C. 1993. A clinical approach to canine and feline neoplasia. *Australian Veterinary Practitioner*, 23 (1), 44-52.
- Rungsipipat, A., Tateyama, S., Yamaguchi, R., Uchida, K., Miyoshi, N., Hayashi, T. 1999. Immunohistochemical analysis of c-yes and c-erbB2 oncogene products and p53 tumor

suppressor protein in canine mammary tumours. *Journal of Veterinary Medical Science* 61, 27–32.

Rutteman, G. R., & Kirpensteijn, J. 2003. Tumours of the mammary glands. In J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (2nd ed., pp. 234-242). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

Saenz, N.C., Heslin, M.J., Adsay, V., Lewis, J.J., Leung, D.H., Laquaglia, M.P., Brennan, M.F. 1998. Neovascularity and Clinical Outcome in High-Grade Extremity Soft Tissue Sarcomas. *Annals of Surgical Oncology*, 5 (1), 48-53.

Santos, A., Lopes, C., Marques, R.M., Amorim, I., Ribeiro, J., Frias, C., Vicente, C., Gärtner, F., De Matos, A. 2011. Immunohistochemical analysis of urokinase plasminogen activator and its prognostic value in canine mammary tumours. *Vet J.* 189 (1), 43-8.

Scase, T., Edwards, D., Miller, J., Henley, W., Smith, K., Blunden, A. And Murphy S. 2006. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 151–158.

Schneider, R. 1970 Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer, *Cancer*, 26(2), 419-426.

Schneider, R., Dorn, C.R., Taylor, D.O.N. 1969. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal Natl Cancer Institute* 43, 1249–126.

Segerstrom, S.C. & Miller, G.E. 2004. Psychological Stress and the Human Immune System: A MetaAnalytic Study of 30 Years of Inquiry. *Psychol Bull.* 130(4), 601–630.

Sharma, S., Sharma, M.C., Sarkar, C. 2005. Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprognostic perspective and significance of neoangiogenesis. *Histopathology* 46, 481–489.

- Sheen-Chen, S.M., Chen, W.J., Eng, H.L., Cho, F.F.. 1997 Serum concentration of tumor necrosis factor in patients with breast cancer *Breast Cancer Research and Treatment*. 43(3), 211–215.
- Silva, A.E. Da, Serakides, R., Cassali, G.D. 2004. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes - revisão bibliográfica. *Ciência Rural*, Santa Maria, 34 (2), 625-633.
- Sonnenschein, E. G., Glickman L. T., Goldschmidt, M. H., Mckee, L. J. 1991. Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, 133 (7), 694-703.
- Sorenmo, K. 1998. An update on canine mammary gland tumors. *Proc. 16th Acvim Forum*, 387-388.
- Sorenmo, K. 2003. Canine mammary gland tumours. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 33, 573-596.
- Souza, V. T. F., Paraguassu, A. A., Moreira, E. L. T. 2001. Ocorrência de neoplasias em caninos na cidade de Salvador, Bahia (achados de biopsias). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, 2 (2), 53-58.
- Strandberg JD, Goodman DG. 1974. Animal model of breast cancer. *American Journal of Pathology* 75 (1), 225-228.
- Tanaka, N. Tumor de mama: qual a melhor conduta? *Boletim Informativo*, São Paulo, ano VII, n.29, p.6-7, Jan/Mar, 2003. Disponível em <http://www.anclivepa-sp.org.br/rev-7-29-01.htm>.
- Te Velde, E.A., Franke, A.C., Van Hillegersberg, R., Elshof, S.M., De Weger, R.W., Borel Rinkes, I.H., Van Diest, P.J. 2009. HER-family gene amplification and expression in resected pancreatic cancer. *European Journal of Surgery and Oncology*. 35 (10), 1098-104.

- Toi, M., Inada, K., Suzuki, H., Tominaga, T. 1995 Tumor angiogenesis in breast cancer: its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression. *Breast Cancer Res Treat.* 36 (2), 193-204.
- Turner, H.E., Adrian L. Harris, Shlomo Melmed, John A. H. WASS 2003. Angiogenesis in Endocrine Tumors. *Endocrine Reviews* 24 (5), 600–632.
- Van Duursen, M.B., Nijmeijer, S.M., De Morree, E.S., De Jong, P.C., Van Den Berg, M. 2011. Genistein induces breast cancer-associated aromatase and stimulates estrogen-dependent tumor cell growth in in vitro breast cancer model. *Toxicology.* 289, 67-73.
- Van't Veer, L.J., Dai, H., Van De Vijver, M.J., He, Y.D., Hart, A.A., Mao, M., Peterse, H.L., Van Der Kooy, K., Marton, M.J., Witteveen, A.T., Schreiber, G.J., Kerkhoven, R.M., Roberts, C., Linsley, P.S., Bernards R., Friend S.H., 2002. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 415 (31), 530-536.
- Vizoso, F.J., Gonzalez, L.O., Corte, M.D., Rodriguez, J.C., Vazquez, J., Lamelas, M.L., Junquera, S., Merino, A.M., Garcia-Muniz, J.L., 2007. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in breast cancer. *Br J Cancer*, 96, 903-911.
- Webster, J. D., Dennis, M. M., Dervisis, N., Heller, J., Bacon, N.J., Bergman, P. J., Bienzle, D., Cassali, G., Castagnaro, M., Cullen, J., Esplin, D. G., Peña, L., Goldschmidt, M. H., Hahn, K. A., Henry, C. J., Hellmén, E., Kamstock, D., Kirpensteijn, J., Kitchell, B. E., Amorim, R. L., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., McEntee, M., McGill, L. D., McKnight, C. A., McManus, P. M., Moore, A. S., Moore, P. F., Moroff, S. D., Nakayama, H., Northrup, N. C., Sarli, G., Scase, T., Sorenmo, K., Schulman, F. Y., Shoieb, A. M., Smedley, R. C., Spangler, W. L., Teske, E., Thamm, D. H., Valli, V. E., Vernau, W., von Euler, H., Withrow, S. J., Weisbrode, S. E., Yager, J., Kiupel, M. 2011. Recommended Guidelines for the Conduct and Evaluation of Prognostic Studies in Veterinary Oncology. *Veterinary Pathology* 48 (1), 7-18.
- Weidner, N. 1995. Intratumor Microvessel Density as a Prognostic Factor in Cancer. *American Journal of Pathology*, 147 (1), 9-19.

- Weidner, N., 1998. Tumoral vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *Journal of Pathology* 184, 119-122.
- Weidner, N., Semple, J.P., Welch, W.R., Folkman, J., 1991. Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. *N. Engl. J. Med* 324, 1-8.
- West, C.C., Brown, N.J., Mangham, D.C., Grimer, R.J., Reed, M.W.R. 2005. Microvessel density does not predict outcome in high grade soft tissue sarcoma. *European Journal of Surgical Oncology.*, 31, 1198–1205.
- WHO/World Cancer Day. 2009. Cancer is a leading cause of death around the world. WHO estimates that 84 million people will die of cancer between 2005 ... [www.who.int/mediacentre/ events/.../world_cancer.../index.html](http://www.who.int/mediacentre/events/.../world_cancer.../index.html)
- Withrow, S.J. Biopsy principles. WVII WSAVA Word Congress., Roma, 1992. *Anais*, p. 1221-26.
- Witton, C.J., Reeves, J.R., Going, J.J., Cooke, T.G., Bartlett, J.M., 2003. Expression of the HER1–4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer. *The Journal of Pathology* 200, 290–297.
- Yamagami, T., Kobayashi, T., Takahashi, K., Sugiyama, M., 1996. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *J. Vet. Med. Sci.* 58 (11),1079-1083.
- Yamka, R. M., Hetzler, B. M., Harmon, D. L., 2005. Evaluation of low-oligosaccharide, low-phytate whole soybeans and soybean meal in canine foods. *J. ANIM. SCI.*, 83, 393-399.
- Yoo, K., Tajima, K., Park, S.K., Kang, D, Kim, S. U., Hirose, T. T., Miura, S., 2001. Postmenopausal obesity as a breast cancer riskfactor according to estrogen and progesterone receptor status (Japan). *Cancer Lett*, 167, 57-63.
- Yu, Z., Chen, J., Ford, B.N., Brackley, M.E., Glickman, B.W., 1999. Environmental and Molecular Mutagenesis 33, 3-20.

- 1028
- 1029 Zaidan Dagli, M.L., 2008. The search for suitable prognostic markers for canine mammary
1030 tumors: a promising outlook. *The Veterinary Journal* 177, 3–5.
- 1031
- 1032 Zárate, A.N.R., 1996. Factores de Prognóstico en tumores mamários caninos: Fracção de
1033 crescimento tumoral (Ki-67 y PCNA), receptores de estradiol, características clínicas e
1034 histopatológicas. Tese de Doutoramento, Universidade complutense de Madrid.
- 1035
- 1036 Zatloukal, J., Lorenzova, J., Tich, F., Necas, A., Kecova, H., Kohout, P., 2005. Breed and Age
1037 as Risk Factors for Canine Mammary Tumours. *ACTA VET. BRNO*, 74, 103-109.
- 1038
- 1039 Zimmermann, K. C., Green, D. R., 2001. How cells die: Apoptosis pathways. *Journal of*
1040 *Allergy and Clinical Immunology*, 108 (4), 99-103.
- 1041
- 1042 Zuccari, D.A.P.C., Pavam, M.V., Terzian, A.C.B., Pereira, R.S., Ruiz, C.M., Andrade, J.C.,
1043 2008. Immunohistochemical evaluation of e-cadherin, Ki-67 and PCNA in canine
1044 mammary neoplasias: Correlation of prognostic factors and clinical outcome. *Pesquisa*
1045 *Veterinária. Brasileira* 28(4), 207-215.
- 1046
- 1047 Zuccari, D.A.P.C., Santana, A.E., Cury, P.M., Cordeiro, J.A., 2004. Immunocytochemical
1048 study of Ki-67 as a prognostic marker in canine mammary neoplasia. *Vet Clin*
1049 *Pathol.*, 33 (1), 23-8.
- 1050
- 1051 Zuccari, D.A.P.C., Santana, A.E., Rocha, N.S., 2001. Correlação entre a citologia aspirativa
1052 por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. *Brazilian*
1053 *Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, 38 (1), 38-41.
- 1054
- 1055 Zuccari, D.A.P.C., Castro, R., Gelaleti, G.B., Mancini, U.M. 2011. Interleukin-8 expression
1056 associated with canine mammary tumors. *Genetics and Molecular Research* 10 (3),
1057 1522-1532.
- 1058
- 1059

3.2 - ARTIGO 2

Perfil clínico de fêmeas caninas com neoplasmas mamários

Artigo formatado nas normas para encaminhamento do periódico “Revista Brasileira de Medicina Veterinária”

Perfil Clínico de fêmeas caninas com neoplasmas mamários

Título em inglês

Isabel Cristina Pereira^{1*}

Abstract. Pereira, IC ... (Perfil Clínico de fêmeas caninas com neoplasmas mamários) ...

Key words

¹Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil. E-mail de todos os autores: *isabelvet@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, curso de graduação

³ Médico-veterinário, Departamento de Clínicas Veterinária UFPel, Faculdade de Veterinária, Campus Capão do Leão, CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil

Resumo. A conduta clínica, cirúrgica e terapêutica com pacientes oncológicos está intimamente relacionada com o conhecimento de características descritivas e epidemiológicas, e dentre elas dados clínicos e patológicos são utilizados na rotina clínica. A confirmação de prognóstico dessas variáveis é muito importante para o encaminhamento destes pacientes. Com este intuito, objetivou-se analisar dados epidemiológicos de fêmeas caninas com neoplasmas mamários relacionando com grau de malignidade neoplásica. Foram estudadas 53 fêmeas caninas com tumoração em glândula mamária, das quais foram obtidos dados de características descritivas da amostra, referentes à resenha do animal, exposição a fatores de risco e do desenvolvimento tumoral, associado as características morfológicas e localização anatômica. Foi realizada exérese das massas tumorais para análise histopatológica avaliando margem cirúrgica e classificando os pacientes em grau de malignidade: alta malignidade (AM), malignidade intermediária (MI), baixa malignidade (BM) e benignos (B). Das 53 cadelas estudadas, 24 apresentavam tumores de alta malignidade, 12 de malignidade intermediária, 13 de baixa malignidade e quatro benignos. Os pacientes classificados como idosos

prevaleceram na amostra, os cães jovens foram os menos frequentes em todos os graus de malignidade, e no grupo de maior malignidade neoplásica os pacientes idosos foram os mais prevalentes. Não houve relação entre comportamento biológico quando comparado com: faixa de idade ($p=0,387$), porte, raça ($p=0,236$), tempo de aparecimento/desenvolvimento ($p=0,516$), ovariectomia prévia ($p=0,788$) e uso de contraceptivos ($p=0,815$). Quanto a localização, das 171 mamas acometidas, o desenvolvimento de neoplasma de maior malignidade ocorreu em mamas inguinais e abdominais mediais. Quando cruzados os dados de ocorrência de comprometimento de margem e metástase pulmonar, foi possível observar uma relação altamente significativa ($p > 0,0001$). A mobilidade e consistência neoplásica foram identificados como fatores prognósticos para cães com neoplasma mamário, enquanto as outras variáveis estudadas não foram relacionadas com prognóstico. Através dos resultados podemos afirmar que as características que foram relacionadas com malignidade e prognóstico do paciente foram mobilidade e consistência do neoplasma, além de uma forte relação entre comprometimento de margem e metástase pulmonar. Idade, raça, realização de ovariectomia e uso de anticoncepcionais, não demonstraram relação com prognóstico de malignidade nos pacientes. Além disso foi possível agrupar dados de características descritivas de cães com neoplasma mamário, que identificaram mobilidade e consistência neoplásica como fatores prognósticos para estes pacientes, além disso, comprometimento de margem demonstrou ocorrência direta com presença de metástase pulmonar.

Palavras-chave: epidemiologia, tumores, cadelas

INTRODUÇÃO

Para que haja melhor direcionamento e manejo com pacientes oncológicos, dados epidemiológicos de características descritivas, aspectos clínicos e patológicos são utilizados como parâmetros para avaliação prognóstica de neoplasmas mamários de cadelas (MISDORP & HART, 1976; HELLMÉN et al., 1993; PEREZ ALENZA et al., 1997) e mulheres (PHILIBERT et al., 2003; CHU et al., 1998; JACQUEMIER et al., 1998; KATO et al., 1999), que estão diretamente ligados à características de malignidade como proliferação, invasão e diferenciação celular (HAY, 1990; ALBERTS et al., 1997).

Esforços estão sendo realizados para adoção de critérios que permitam a padronização do diagnóstico, o entendimento do comportamento biológico, a evolução tumoral e a avaliação de fatores prognósticos. O conhecimento e adoção desses parâmetros, na rotina diagnóstica, são fundamentais para escolha e sucesso de terapias que comprovam diminuição da recorrência tumoral e aumento da sobrevida (MISDORP & HART, 1976; HELLMÉN et al., 1993; PEREIRA et al., 2006; ELSTON & ELLIS, 1991). Estudos de dados epidemiológicos, são constantes, na busca de grupos de risco (MADEWELL & THEILEN, 1987; PEREZ ALENZA et al., 1997; PIRES et al., 2003; Sorensen, 2003).

Considerando a alta casuística dos neoplasmas mamários em fêmeas caninas e a necessidade da determinação de fatores prognósticos de baixo custo e com fácil aplicabilidade na rotina clínica veterinária, é importante o estudo dos fatores de risco e determinar as características da população mais predisposta a estas tumorações, relacionando com o grau de malignidade dos neoplasmas. Para tanto objetivou-se analisar dados epidemiológicos de fêmeas caninas com neoplasmas mamários relacionando com grau de malignidade neoplásica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram estudados pacientes caninos com tumoração em glândula mamária, e excluídos os que, após exame histopatológico da massa tumoral, não apresentassem confirmação de neoplasma.

Foram obtidas resenha e anamnese sobre a vida pregressa do animal, com as características descritivas da amostra, obtendo-se dados quanto a, idade, raça, porte (pequeno, médio, grande), uso prévio de anticoncepcionais (os que nunca utilizaram, os que utilizavam esporadicamente nunca dois ciclos consecutivos) e

aqueles que utilizavam frequentemente (cios consecutivos). A variável anticoncepcional também foi avaliada separando em 2 grupos (sim e não), tempo de aparecimento dos neoplasmas e se tinha sido submetida a procedimento de esterilização através de cirurgia prévia ao aparecimento dos neoplasmas (sim ou não).

Quanto as faixas etárias os animais foram considerados jovens de zero até 5 anos e 11 meses, adulto de 6 à 9 anos e 11 meses e idoso os de 10 anos ou mais. E quanto ao tempo de aparecimento/desenvolvimento os neoplasmas foram separados em três grupos (aparecimento até 6 meses, entre 7 e 12 meses e mais de um ano). Em relação a raça foram considerados sem raça definida (SRD) e com raça definida (CRD) e estas foram descritas individualmente.

Através do exame clínico das massas tumorais, foram obtidas informações quanto a características morfológicas e localização anatômica (glândulas mamárias torácicas, abdominais craniais, abdominais mediais ou caudais e glândulas inguinais) e a presença de linfonodos reativos. A descrição neoplásica foi determinada mediante característica (nodular, pendular, plana ou outra), mobilidade (móvel ou fixo) e consistência (macia, firme ou mista).

A avaliação da presença de metástases em locais adjacentes e em linfonodos foi realizada por palpação e realizado exame radiológico torácico para avaliação de metástases pulmonares. A avaliação de tamanho foi realizada através da medição por paquímetro (altura, largura, comprimento). Os tumores foram classificados em três grupos, de acordo com o tamanho dos nódulos: T1($\leq$ 3cm) T2,(3 a 5cm); e T3 ($\geq$ 5cm), seguindo o sistema de classificação TNM (OWEN, 1980).

Os cães foram submetidos à procedimento cirúrgico de exereses total das massas tumoral, por procedimento de nodulectomia, mastectomia regional ou radical uni ou bilateral, sendo coletado as massas tumorais para a análise histopatológica.

Para a caracterização das margens cirúrgicas, as peças eram pintadas com nanquim e fixadas com solução de ácido acético e formol na proporção de 2:8, respectivamente e avaliadas quanto à presença ou ausência de células neoplásicas malignas, sendo consideradas livres quando não havia células invadindo a margem cirúrgica e comprometidas quando havia invasão da linha preta formada pela impregnação com tinta nanquim. Os tumores eram clivados e encaminhados para o processamento histológico.

Na avaliação histológica, os fragmentos eram processados para inclusão em parafina, cortados a 5µm e corados pela hematoxilina-eosina. As amostras foram avaliadas por microscopia de luz. Os cortes corados pela hematoxilina-eosina foram classificados quanto ao comportamento biológico em benigno e maligno e categorizados de acordo com a classificação preconizada pela AFIP/OMS (MISDORP, 2002), considerando a morfologia dos tumores mediante características de histogênese, graus de diferenciação (observado pela morfologia celular, onde quanto mais diferenciado mais benigno), índice mitótico (avaliado através de número de mitoses por campo, onde os benignos possuíam índice muito baixo de mitose e os de alta malignidade apresentavam altos índices de mitose) e grau de invasividade (avalia o grau de invasão desde os que não apresentam invasão estromal (benignos), apresentaram invasão estromal adjacente sem invasão de vasos linfáticos ou sanguíneos até os altamente malignos que apresentaram invasão para vasos sanguíneos ou linfáticos e/ou metástases para linfonodos regionais). Utilizando a classificação descrita, os neoplasmas foram agrupados em: benignos (Grupo B), baixa malignidade (Grupo BM), malignidade intermediária (Grupo MI) e alta malignidade (Grupo AM).

Para análise estatística foi construindo banco de dados e a partir deste realizados Teste Exato de Fisher para heterogeneidade de proporções das variáveis em relação ao comportamento biológico.

RESULTADOS

Foram estudadas 53 fêmeas caninas, das quais 24 apresentavam tumores de alta malignidade, 12 de malignidade intermediária, 13 de baixa malignidade e 4 benignos (Tabela 1), não houveram casos em machos.

O grupo foi heterogêneo quanto à idade, os pacientes classificados como idosos prevaleceram na amostra, seguido dos pacientes adultos e jovens. A mais nova tendo um ano e a mais velha com 18 anos a média de idade foi 9,3 anos com desvio padrão de 3,1 anos. Foi observado que os cães jovens foram os menos frequentes em todos os graus de malignidade, e no grupo de maior malignidade neoplásica os pacientes idosos foram os mais prevalentes, inclusive quando comparado aos outros grupos, porém, não foi significativo a relação entre comportamento biológico e faixa de idade de ocorrência ($p=0,387$) (Tabela 2).

A distribuição dos pacientes quanto ao porte foi bastante homogêneo, observando-se uma ocorrência de cães de pequeno 16 (30,8%), médio 18 (34%) e grande porte 19 (35,2%). O porte não influenciou no prognóstico quando relacionado com malignidade (Tabela 2). A ocorrência dos tumores em cães com e sem raça definida foi semelhante, 50,9% e 49,1% respectivamente. Dentre os pacientes com raça definida destacaram-se os cães da raça teckel (14,8%), com ocorrência de igual percentual entre terrier brasileiro, cocker spaniel inglês, pastor alemão, rottweiler e collie (11,1%) seguidos das raças labrador e poodle (7,4%), e com ocorrência de apenas um caso (3,7%) nas raças border collie, boxer, pinscher e dinamarquês. Em relação ao grau de malignidade, entre os cães com raça definida não houve diferença significativa ($p=0,236$).

Não foi possível obter informação de todos os pacientes quanto ao intervalo entre identificação do tumor e procura por tratamento, pois cinco proprietários não souberam informar ou os cães foram adotados já com a presença de neoplasmas. Quando este dado era conhecido (48), a média do tempo de aparecimento/desenvolvimento foi de 12,9 meses, $dp=13,1$. Destes, em 19 (39,6%) os proprietários relataram aparecimento até 6 meses, em 16 (33,3%) o aparecimento ocorreu de 7 a 12 meses e em 13 (27,1%) de mais de um ano. O tempo de aparecimento não apresentaram relação com a malignidade neoplásica ($p=0,516$).

Os dados referentes à vida reprodutiva demonstraram que apenas 11,3% (6) destas fêmeas tinham sido esterilizadas previamente ao aparecimento dos neoplasmas. Das que haviam sido submetidas à ovariectomia, 50% (3) desenvolveram neoplasma de alta malignidade. Entre as que não haviam sido submetidas à ovariectomia, prévio ao aparecimento de neoplasma, a prevalência também foi maior 21(44,7%) no grupo de alta malignidade. A ovariectomia prévia não mostrou ser um fator prognóstico ($p=0,788$) (Tabela 2).

O uso de contraceptivos foi detectado em 27 (50,9%) das fêmeas estudadas. Esse fator não demonstrou ser um fator prognóstico de neoplasmas ($p=0,815$) (Tabela 2), mesmo quando considerado apenas 2 grupos (os que já haviam recebido e os que nunca haviam recebido contraceptivos) ($p= 0,815$).

Quanto as características dos neoplasmas à palpação, a maioria dos cães apresentaram neoplasmas de característica nodular (46) e de consistência firme (49) e estes tiveram diferentes graus de malignidade (Tabela 3), assim como a maioria foi

classificado como fixo, também com diferentes classificações de malignidade (tabela 3). Quanto a localização, das 171 mamas acometidas, podemos observar na Figura 1 o desenvolvimento de neoplasma de maior malignidade ocorreu em mamas inguinais e abdominais mediais.

Das 53 fêmeas com neoplasma mamário, oito (15,1%) apresentaram comprometimento de margem; destas, sete (87,5%) apresentavam neoplasma de alta malignidade e uma (12,5%) pertencia ao grupo de malignidade intermediária.

Metástase pulmonar foi identificada em nove (17%) cadelas, do grupo benigno nenhuma apresentou metástase, do grupo de baixa malignidade uma (7,7%), do grupo de malignidade intermediária três (25%) e dos de alta malignidade cinco (20,8%). Já metástase em linfonodos foi presente em três paciente, das quais dois pertencentes ao grupo MI e uma do AM.

Quando cruzados os dados de ocorrência de comprometimento de margem e metástase pulmonar (tabela 4), foi possível observar uma relação altamente significativa ($p > 0,0001$), sendo que os tipos neoplásicos que cursaram com metástase pulmonar foram: carcinosarcoma de mama, carcinoma de células fisioniformes e carcinoma anaplásico, carcinoma tubulopapilar de mama, carcinoma sólido de mama e carcinoma complexo de mama.

A mobilidade e consistência neoplásica foram identificados como fatores prognósticos para cães com neoplasma mamário, enquanto as outras variáveis estudadas não foram relacionadas com prognóstico.

DISCUSSÃO

Apesar do sexo não ser um fator de exclusão da amostra deste trabalho, foram observados apenas casos em fêmeas caninas, havendo uma continuidade dessa informação da literatura que demonstra que indivíduos do sexo masculino são raramente acometidos por neoplasmas mamários (MADEWELL & THEILEN, 1987; PIRES, et al., 2003).

Na população estudada o grupo de idosos foi o mais afetado sendo o paciente de mais idade com 18 anos. Na literatura a população de risco, com maior susceptibilidade de desenvolvimento de neoplasmas mamários está constituída por cadelas de meia idade e idosas (FANTON & WITHROW, 1981), entre seis e 14 anos de idade, sendo que a medida que aumenta a idade aumenta o risco de

desenvolvimento (PELETEIRO, 1994; MUTO et al., 2000; ER & SUTTON, 1989; MORJELLO & ROSENTHAL, 1990; ZUCCARI et al., 2008). Porém quanto ao prognóstico e sobrevida os dados são controversos onde vários estudos veterinários relatam que a idade avançada no momento do diagnóstico não interferiu na sobrevida dos animais acometidos (MISDORP & HART, 1976; KURZMAN & GILBERTSON, 1986; QUEIROGA & LOPES, 2002; PHILIBERT et al., 2003; SONTAS et al., 2009). No entanto, foi demonstrada significância prognóstica para idade no momento da mastectomia (HELLMÉN et al., 1993; PÉREZ-ALENZA et al., 1997). A confirmação desta relação é difícil, por se tratar de uma população de idade avançada o que também vem a confirmar que o aumento da prevalência de neoplasmas em cães, considerado por alguns autores como a maior causa de morte (BRONSON, 1982; WITHROW & MacEWEN, 1996), pode estar associado ao aumento de longevidade observada nessa espécie (DE NARDI et al., 2002).

Dentre os cães com raça definida a de raça com maior prevalência neste estudo foi o teckel, porém não foi demonstrada relação com prognóstico. Alguns estudos citam algumas raças mais acometidas por neoplasmas mamários como o teckel, pointer (MOULTON, 1990; YAMAGAMI et al., 1996) e o boxer (PIRES et al., 2003), alguns autores defendem uma maior incidência em cães de caça (pointer, setter, Cocker spaniel) (MADEWELL & THEILEN, 1987) embora esta relação não possa ser considerada como um pior fator prognóstico (PEREZ ALENZA et al., 1997; MISDORP & HART, 1976).

Os fatores reprodutivos, como número de gestações, idade na primeira gestação, duração e regularidade do ciclo estral, castração e uso de contraceptivos têm sido relacionados como fatores prognósticos em cadelas com neoplasmas mamários (HELLMÉN et al., 1993; PEREZ ALENZA et al., 1997). Neste estudo foi possível observar que quase metade dos pacientes haviam recebido contraceptivos, porém seu uso não foi relacionado com pior prognóstico.

De todos os fatores envolvidos no aparecimento de neoplasma, o componente de natureza hormonal tem sido o mais aceito, principalmente devido às diferenças na classificação de neoplasmas mamárias entre cadelas castradas e não castradas (DONNAY et al., 1996; FONSECA & DALECK, 2000) demonstrando que neoplasmas mamários caninos são hormônio dependentes (SILVA et al., 2004). Os resultados desta pesquisa não detectou diferença de prognóstico quanto à malignidade entre as fêmeas castradas antes do procedimento de mastectomia.

O intervalo entre a identificação do tumor pelo proprietário e a procura por diagnóstico e tratamento não demonstrou relação com malignidade neoplásica. Este intervalo geralmente é grande, vários proprietários relatam ter observado o tumor há meses ou anos e buscam atendimento após crescimento excessivo ou ulceração. O diagnóstico e tratamento precoce dos tumores de mama proporcionariam um melhor prognóstico para os pacientes, além da redução de custos com o tratamento (JUNIOR, 2001).

Os dados de características macroscópicas dos neoplasmas demonstram que mobilidade e consistência neoplásica estão ligadas à malignidade, corroborando com dados da literatura, determina várias características que diferenciam os neoplasmas benignos e malignos, e mesmo que macroscopicamente, a neoplasia benigna tenha tendência de ser pequenos nódulos, bem delimitada, não invasiva e possuir uma evolução lenta, e uma neoplasia maligna ser de maior tamanho, invasiva, evoluir rapidamente e ser potencialmente metastático não torna o exame macroscópico possível de confirmar a diferenciação da malignidade apenas pelo exame físico (COTRAN et al., 2000; CULLEN et al., 2002).

Todas as neoplasias malignas da glândula mamária possuem potencial metastático (SORENMO, 2003). A severidade dos sinais clínicos decorrentes das metástases está na dependência de sua extensão e localização. O risco de metástase está correlacionado ao tipo tumoral, diferenciação histológica e vários fatores clínicos de prognóstico. Os principais órgãos acometidos pelas lesões metastáticas são os linfonodos regionais (inguinais e axilares) e pulmões (CAVALCANTI & CASSALI, 2006; SORENMO, 2003; LANGENBACH et al., 2001).

A mensuração microscópica em milímetros de distância da célula maligna da margem cirúrgica avaliada pode influenciar na terapia adjuvante considerada, além de estimar o risco de recidiva do quadro (BAKER et al., 1989; DERNELL & WITHROW, 1998).

Através dos resultados podemos confirmar que isoladamente dados epidemiológicos e de exame clínico não devem ser considerados como índices prognósticos e mesmo em conjunto servem apenas como uma ferramenta auxiliar ao prognóstico destes pacientes, por demonstrarem resultados distintos entre a literatura, havendo a necessidade de análises e parâmetros com maior sensibilidade e especificidade.

CONCLUSÕES

As características descritivas de cães com neoplasma mamário que foram relacionadas com malignidade e prognóstico do paciente foram mobilidade e consistência do neoplasma, além disso, comprometimento de margem demonstrou ocorrência direta com presença de metástase pulmonar. Os outros parâmetros estudados (idade, raça, realização de ovariectomia e uso de anticoncepcionais) não demonstraram relação com prognóstico de malignidade nos pacientes.

Agradecimentos:

Hospital de Clínicas Veterinária-UFPEL (HCV-UFPEL), Laboratório de Bioquímica da UFPEL, Grupo de oncologia veterinária – UFPEL pelo desenvolvimento dos estudos e a CAPES, pela concessão de bolsa e auxílio financeiro

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D. A mecânica da divisão celular. In: *Biologia molecular da célula*. São Paulo: Artes Médicas Sul, 1997. Cap. 18, p. 911 – 946
- Baker, D.G.; Masterson, T.M.; Pace, R.; Constable, W.C.; Wanebo, H. The influence of the surgical wound on local tumor recurrence. *Surgery*, 106:525-532, 1989.
- Bronson, R.T. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *American Journal of Veterinary Research*, 43(11):2057-2059, 1982.
- Cavalcanti, M.F.; Cassali, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas – revisão. *Clínica Veterinária*, 61:56-64, 2006.
- Chu JS, Huang CS, Chang KJ. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolabeling as a prognostic factor in invasive ductal carcinoma of the breast in Taiwan. *Cancer Letters*, 131:145-152, 1998.
- Cotran, R.S.; Kumar, V.; Robbins, S.L. Patologia estrutural e funcional. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000. 1400p.
- Cullen, J. M.; Page, R. & Misdorp, W. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In: MEUTEN, D. J. Tumors in domestic animals. 4. Ed. Ames Blackwell Publishing Company : Iowa State Press, USA 2002. P. 3-43.
- DE Nardi, A. B.; Rodaski, S.; Sousa, R. S.; Costa, T. A.; Macedo, T. R.; Rodighieri, S. M.; Rios, A.; Piekarz, C. H. Prevalência de neoplasias e modalidades de

- tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. *Archives of Veterinary Science* 7:15 – 26, 2002.
- Dernell, W.S.; Withrow, S.J. Preoperative patient planning and margin evaluation. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 13(1):17-21, 1998.
- Donnay, I.; Devleeschouwer, N.; Wouters-Ballman, P.; Leclercq, G.; VERSTEGEN, J. Relationship between receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Research in Veterinary Science*, London, v. 60, p. 251-254, 1996.
- 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* 19:403 – 410, 1991.
- Er, J. C.; Sutton, R. H. A survey of skin neoplasms in dogs from Brisbane region. *Australian Veterinary Journal*, 66 (7):225-227, 1989.
- Fanton, J.W.; Whithrow, S. J. Canine mammary neoplasia: an overview. *Cal. Vet*, 7:12-16, 1981.
- Fonseca, C.S.; Daleck, C.R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. *Ciência Rural*, 30(4):731-735, 2000.
- Hay, E.D. Role of cell matrix contacts in cell-migration and epithelial-mesenchymal transformation. *Cell Differ Dev.*, 32(3):367-376, 1990.
- Hellmén, E.; Bergström, R.; Holmberg, L.; Spanberg, I.B.; Hansson, K. Lindgren, A. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. *Veterinary Pathology*, 30:20-27, 1993.
- Jacquemier Jd, Penault-Llorca Fm, Bertucci F, Sun Zz, Houvenaeghel Gf, Geneix Ja, Puig Bd, Bardou Vj, Hassoun Ja, Birnbaum D, Viens PJ. Angiogenesis as a prognostic marker in breast carcinoma with conventional adjuvant chemotherapy: a multiparametric and immunohistochemical analysis. *Journal of Pathology*, 184: 130-135, 1998.
- Junior, O.P.C. Fatores prognósticos clínicos, anatomopatológicos e biomoleculares do câncer de mama estágio clínico II. 2001. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP- SP.
- Kato T, Kimura T, Ishii N, Fujii A, Yamamoto K, Kameoka S, Nishikawa T, Kasajima T. The classification of quantitation of microvessel density and prognostic value of neovascularization associated with long-term survival in breast cancer patients with breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 53: 19-31, 1999
- Kurzman, I.D.; Gilbertson, S.D. Prognostic factors in canine mammary tumors. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 1:25-32, 1986.
- Langenbach, A.; Mcmanus, P.; Hendrick, M.; Shofer, F.S.; Sorenmo, K.U. Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218 (9):1424-1428, 2001.
- Madewell, B.R. & Theilen G.H.. Tumors of the mammary gland. *Veterinary Cancer Medicine Lea & Febiger*; p.327-341, 1987.

- Misdorp, W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. Tumors in domestic animals. Iowa State Press, 4th ed., 2002, p.575-606.
- Misdorp, W.; Hart AA. Prognostic factors in canine mammary cancer. *Journal of the National Cancer Institute*; 56 (4): 779-786, 1976.
- Morjello, K. A.; Rosenthal, R. C. Clinical approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(4):1163-1191, 1990.
- Moulton, J. E. Tumors of the mammary gland. In: MOULTON, J.E. *Tumors in domestic animals*. Berkley: University of California, 3^a ed., 1990, p.518 – 552.
- Muto, T.; Wakui, S.; Takahashi, H.; Maekawa, S.; Masaoka, T.; Ushigome, S.; Furusato, M. P53 gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumor of the dog. *Veterinary Pathology*, Washington, 37: 248-243, 2000.
- Owen, L.N. The TNM Classification of Tumors in Domestic Animals. 1st Ed., Word Health Organization, Geneva, p. 26-32, 1980.
- Peleteiro, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 89 (509):10- 29, 1994.
- Pereira, F.M.; Ferreira, E.; Leitão, D.R.A.; Cassali, G.D. Double-staining immunohistochemistry of canine mammary neoplasms. Communication. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 58(4):681-684, 2006.
- Perez Alenza, M.D.; Peña, L.; Nieto, A.I.; Castaño, M. Clinical and pathological prognostic factors in canine mammary tumors. *Annali dell Istituto Superiore di Sanita*, 33(4):581-585, 1997.
- Philibert, J.C.; Snyder, P.W.; Glickman, N.; Glickman, L.T.; Knapp, D.W.; Waters, D.J. Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17:102-106, 2003.
- Pires, M. Dos A.; Travassos, F. S; Pires, I. Neoplasias em canídeos – Um estudo descritivo de 6 anos, *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 98:111-118, 2003.
- Queiroga, F.; Lopes, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97:2119-2127, 2002.
- Silva, A.E.; Serakides, R.; Cassali, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio dependentes. *Ciência Rural*, 34(2):625-633, 2004.
- Sontas, B.H.; Ozyogurtcu, H.; Gurel, A.; Ekici, H. Evaluation of clinical and pathological characteristics of 155 canines with mammary tumours: a retrospective study. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41:53-59, 2009.
- Sorenmo, K. Canine mammary gland tumours. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 33:573-596, 2003.
- Withrow, S.J.; MacEwen, E.G. Tumors of the mammary gland. In: WITHOW, S. J.; MacEWEN, E. G. *Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2nd ed., 1996, p.356-372

- Yamagami, T.; Kobayashi, T.; Takahashi, K.; Sugiyama, M. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *J. Vet. Med. Sci.*; 58 (11): 1079-1083, 1996.
- Zuccari, D.A.P.C.; Pavam, M.V.; Terzian, A.C.B.; Pereira, R.S.; Ruiz, C.M.; Andrade, J.C. Immunohistochemical evaluation of e-cadherin, Ki-67 and PCNA in canine mammary neoplasias: Correlation of prognostic factors and clinical outcome. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28(4):207-215, 2008.

Tabela 1. Distribuição dos tipos de neoplasmas, relacionada a comportamento biológico.

Tipo Histológico	N	Comportamento biológico
Lipoma	2	Benigno
Adenoma simples	2	
Total	4	
Carcinoma complexo de mama	12	Baixa Malignidade
Carcinoma in situ	1	
Total	13	
Carcinoma tubulopapilar de mama	6	Malignidade Intermediária
Carcinoma Sólido de Mama	6	
Total	12	
Carcinossarcoma de mama	16	Alta Malignidade
Carcinoma em tumor misto de mama	3	
Carcinoma de células fusiformes de mama	1	
Carcinoma anaplásico de mama	4	
Total	24	
Total Geral	53	

Tabela 2. Comportamento biológico neoplásico, segundo variáveis descritivas, em fêmeas caninas com neoplasmas mamários. Pelotas-RS, Brasil, 2012.

Variável	Comportamento biológico				Total	Valor p*
	B N (%)	BM N (%)	MI N (%)	AM N (%)	N (%)	
Idade (meses)						0,387
Jovem	-	3 (42,9)	-	4 (57,1)	7 (100)	
Adulto	2 (12,5)	3 (18,8)	6 (37,5)	5 (31,3)	16(100)	
Idoso	2 (6,7)	7 (23,3)	6 (20,0)	15 (50,0)	30(100)	
Total	4 (7,6)	13 (24,4)	12 (22,6)	24 (45,4)	53 (100)	
Porte						0,334
Pequeno	-	3 (18,8)	5 (31,2)	8 (50,0)	16 (100)	
Médio	2 (11,1)	5 (27,8)	1 (5,6)	10 (55,6)	18 (100)	
Grande	2 (10,5)	5 (26,3)	6 (31,6)	6 (31,6)	19 (100)	
Total	4 (7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	
Ovariohisterectomia						0,788
Sim	-	1 (16,7)	2 (33,3)	3 (50,0)	6 (100)	
Não	4 (8,5)	12 (25,5)	10 (21,3)	21 (44,7)	47 (100)	
Total	4 (7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	
Uso de contraceptivo						0,815
Não	1 (3,9)	6 (23,1)	6 (23,1)	13 (50,0)		
Esporádico	-	5 (41,7)	3 (25,0)	4 (33,3)		
Frequente	3 (20,0)	2 (13,3)	3 (20,0)	7 (46,7)		
Total	4 (7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	

*Teste para heterogeneidade de proporções - Teste Exato de Fisher

Tabela 3. Comportamento biológico neoplásico, segundo características neoplásicas em fêmeas caninas com neoplasmas mamários. Pelotas-RS, Brasil, 2012.

Variável	Comportamento biológico				Total	Valor p*
	B N (%)	BM N (%)	MI N (%)	AM N (%)	N (%)	
Padrão do neoplasma						0,759
Nodular	4 (8,7)	11 (23,9)	11 (23,9)	20 (43,5)	46 (100)	
Pendulado	-	2 (66,7)	-	1 (33,3)	3 (100)	
Irregular	-	-	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (100)	
Plano	-	-	-	2 (100,0)	2 (100)	
Total	4	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,2)	53 (100)	
Mobilidade neoplásica						0,018
Móvel	-	3 (33,3)	5 (55,6)	1 (11,1)	9 (100)	
Fixo	4 (9,1)	10 (22,7)	7 (15,9)	23 (52,3)	44 (100)	
Total	4 (7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	
Consistência neoplásica						0,029
Macio	1 (33,3)	-	-	2 (66,7)	3 (100)	
Firme	2 (4,1)	13 (26,5)	12 (24,5)	22 (44,9)	49 (100)	
Misto	1 (100,0)	-	-	-	1 (100)	
Total	4(7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	
Margens comprometidas						0,083
Não	4 (8,9)	13 (28,9)	11 (24,4)	17 (37,8)	45 (100)	
Sim	-	-	1 (12,5)	7 (87,5)	8 (100)	
Total	4 (7,6)	13 (24,5)	12 (22,6)	24 (45,3)	53 (100)	

*Teste Exato de Fisher

Tabela 4. Associação entre comprometimento de margem e presença de metástase pulmonar. Pelotas, RS, Brasil, 2012.

Comprometimento de Margem	Presença de metástase pulmonar		Total n (%)
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Comprometida	5 (62,5)	3 (37,5)	8 (100)
Não comprometida	4 (8,9)	41 (91,1)	45 (100)
Total	9 (8,3)	44 (17,0)	53 (100)

Teste Exato de Fisher (p=0,002)

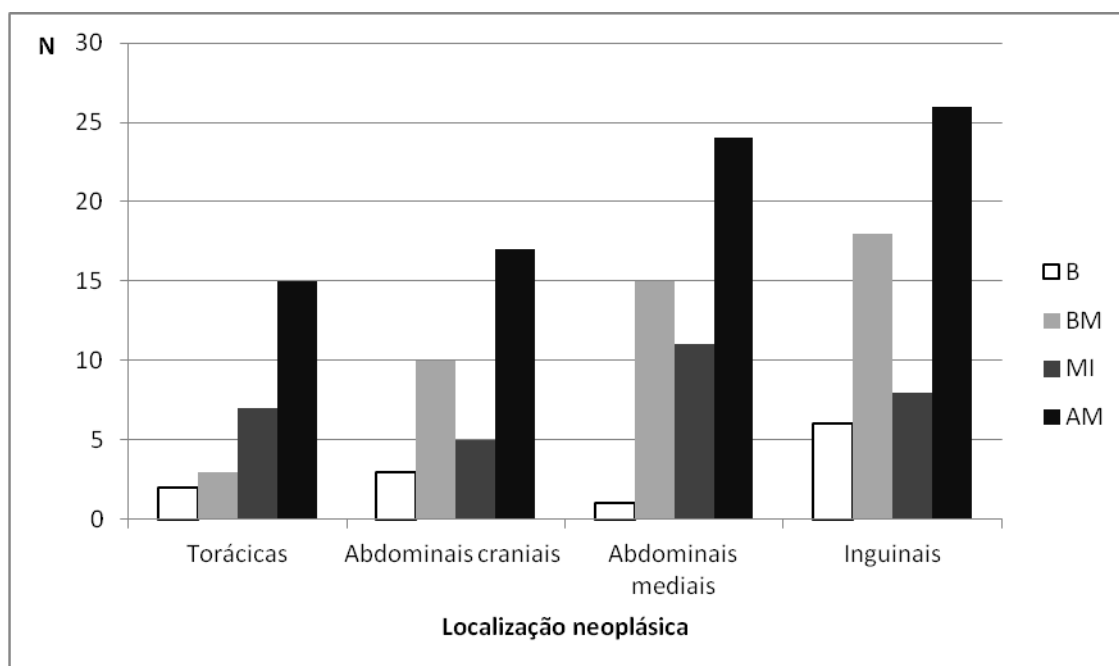


Figura 1: Ocorrência neoplásica por localização da mama e grau de malignidade. Pelotas, RS, Brasil, 2012.

3.2 - ARTIGO 3

Análise dos níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas com neoplasmas mamários

Artigo formatado nas normas para encaminhamento do periódico "Cancer Research"

**Análise dos níveis de cálcio e magnésio em fêmeas caninas com
neoplasmas mamários**

Isabel Cristina Pereira

Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Pelotas, RS,
Brasil

Running title: Cálcio e magnésio em fêmeas caninas com neoplasmas
mamários

Palavras chave - minerais, oncologia, prognóstico, glândula mamária,
malignidade

Isabel Cristina Pereira, mailing address: Rua Tenente Rouget Peres Wrege,
407, phone: 53- 3321-4016, e-mail address: isabelvet@hotmail.com

Conflict of interest statement

None of the authors of this paper has a financial or personal relationship
with other people or organisations that could inappropriately influence or bias
the content of the paper.

Word count (excluding references): 3.802

Total number of figures: 2

Total number of tables: 2

Resumo

Em humanos trabalhos demonstram que 20 a 30% dos casos de neoplasma cursam com hipercalcemia em algum momento do processo, porém não demonstram se este é causa ou efeito do neoplasma. O magnésio é um mineral que possui uma correlação biológica antagonista com o cálcio. O objetivo desse estudo foi correlacionar os níveis de cálcio e magnésio associados à presença de neoplasma mamário em cães analisando níveis pré e pós cirúrgicos e comparar com animais sem tumorações mamárias, tendo por hipótese inicial a ocorrência de hipercalcemia e hipomagnesemia nos pacientes com presença de neoplasmas mamários malignos. Para isso foram estudadas 36 cadelas com neoplasma mamário e acompanhados 28 cães saudáveis sem tumores mamários, como controles. Os cães foram avaliados no dia zero (prévio à cirurgia) com relação à avaliações da massa tumoral Além de serem avaliados prévio à exérese tumoral (dia zero), aos 60 e 180 dias após o procedimento cirúrgico para dosagem sérica de cálcio e magnésio, através da técnica de espectrofotometria de absorbância e no grupo controle estas dosagens foram também realizadas no mesmo período. Após a cirurgia, foi realizada avaliação anatomopatológica e foi considerada a classificação em grupos de malignidade conforme descrito anteriormente. Das 36 fêmeas caninas portadoras de neoplasmas mamários, quatro apresentaram tumores benignos (B), 10 de baixa malignidade (BM), nove de malignidade intermediária (MI) e 13 de alta malignidade (AM). A média dos níveis fisiológicos de Cálcio (10,15mg/dl) foi muito próxima à média das coletas do grupo controle (10,07mg/dl). Enquanto os níveis médios de cálcio sérico dos pacientes do grupo com baixa malignidade (BM) e malignidade intermediária (MI)

apresentaram-se com hipocalcemia ambos diferindo estatisticamente ($p < 0,001$) do grupo controle. Os pacientes do grupo de alta malignidade (AM) apresentaram hipercalcemia e diferiram significativamente ($p < 0,001$) dos níveis médios obtidos no grupo controle. Não foi demonstrado diferença estatística entre o grupo de neoplasmas benignos (B) e o grupo controle. Resultado semelhante foi obtido quando comparada a média dos níveis fisiológicos de Magnésio (2,1mg/dl) em relação a média do grupo controle (2,04mg/dl). Havendo diferença estatística entre o grupo controle e os grupos BM ($p < 0,001$), MI ($p = 0,002$) e AM ($p < 0,001$), sendo que nos dois primeiros foi observado hipomagnesemia e no último com hipermagnesemia. Novamente não foi demonstrada diferença estatística entre o grupo controle e o grupo B. Em relação a análise realizada comparando os valores sanguíneos dos minerais estudados no grupo de cães com neoplasma mamário foi demonstrado que houve significância na variação de cálcio e magnésio entre a primeira e última coleta nos grupos BM e AM. Os resultados sorológicos permitiram concluir que cães portadores de neoplasias apresentam alterações na dosagem sérica de cálcio e magnésio quando na presença de neoplasmas, retornando aos níveis fisiológicos após seis meses da exérese cirúrgica de forma significativa, o que indica que essa alteração é efeito da presença do neoplasma.

Introdução

O aumento da ocorrência das afecções oncológicas em pacientes caninos (^{1,2}), gera necessidade de mais informações sobre os fatores que

interferem no aparecimento, nos meios de diagnóstico e na determinação de prognóstico.

Em humanos, estudos demonstram que hipercalcemia ocorre em 20 a 30% dos casos de neoplasmas (^{3,4}), e relacionam essa alteração com neoplasmas de diversos tipos e localizações (^{5,6,7, 8, 9, 10, 11, 12, 13}). Porém estes estudos não fazem uma comparação com comportamento biológico por tratarem apenas tipos específicos de neoplasmas. A elevação deste mineral foi registrada também em casos de neoplasmas mamários e sua malignidade e baixa sobrevida em humanos (^{10, 7, 3}), além de existirem alguns relatos em cães (^{14,15}).

Essa desordem ainda não é bem entendida, mas alguns trabalhos relacionam a hipercalcemia com maior malignidade neoplásica em decorrência da produção e elevação de PTH-rP (proteína relacionada ao paratormônio) (^{14, 16, 14, 8;}) que é um peptídeo, produzido por células tumorais e apresenta efeito similar ao do paratormônio (^{17, 8, 18}), onde receptores para PTH-rP podem ser um potencial inibidor de ação osteoclástica (¹⁹) e cursar com aumento da reabsorção óssea e diminuição de excreção renal de cálcio (⁶). Atualmente, o cálcio é apontado como um medidor e marcador da atividade da proteína telomerase, em células epiteliais ovarianas. Sua ausência na fita de DNA e conseqüente ausência no telômero, faz com que a célula entre em apoptose (^{20, 21}). Nas células neoplásicas o número de mitoses e o tempo de vida são superiores, quando comparadas às células normais (^{22, 23}). Sendo assim, a ativação da telomerase nas neoplasias, resulta em aumento da proliferação celular (^{24, 25}).

É esperado que a deficiência de magnésio aumente a concentração intracelular de íon Ca^{2+} , facilitando a produção de ácido úrico e radical hidroxila, podendo haver a formação de peroxinitrito. Além disso, deficiência de magnésio, aumenta a atividade basal de neutrófilos e sua infiltração em tecidos afetados pela deficiência de magnésio, a NAD(P)H oxidase mantém-se ativa, produzindo superóxido. Esses eventos podem desestabilizar as membranas celulares, facilitando o dano tecidual. Na persistência desse quadro, a apoptose pode ocorrer ⁽²⁶⁾. Apesar de haver a observação de que a deficiência de magnésio não tenha levado à dano tecidual direto, demonstram perda significativa de antioxidantes ⁽²⁷⁾ e aumento da infiltração de neutrófilos e da permeabilidade vascular ⁽²⁸⁾.

Os efeitos do magnésio podem ser mediados através de sua ação como um antagonista do cálcio ou por ser cofator de sistemas enzimáticos que envolvem o fluxo de sódio e potássio através da membrana celular ^(29; 30). É comum observar níveis aumentados de magnésio em casos em que o cálcio sanguíneo está baixo, devido ao aumento da reabsorção renal de magnésio em resposta ao PTH secretado ⁽³¹⁾. Porém, em um caminho inverso pode ser ele o desencadeante da liberação do PTH-rP em células neoplásicas com conseqüente elevação do cálcio ⁽³²⁾.

A casuística de tumores mamários em fêmeas caninas é cada vez maior, e devido a similaridade com os neoplasmas mamários humanos são considerados modelos propícios para estudos destes neoplasmas. A determinação da alteração dos níveis séricos de cálcio e magnésio em pacientes com tumorações mamárias deve auxiliar como um meio rápido de custo baixo para a triagem destes pacientes, indicando o grau de malignidade

do neoplasma. O objetivo desse estudo foi correlacionar os níveis de cálcio e magnésio associados à presença de neoplasma mamário em cães analisando níveis pré e pós cirúrgicos e comparar com animais sem tumorações mamárias.

Material e métodos

Para compor a amostra do trabalho, foram estudados 36 cães portadores de tumorações mamárias, submetidos a procedimento de exereses dos mesmos e cães saudáveis sem tumores mamários, como controles. Eram necessários 28 pacientes para que a amostra fosse suficiente para detectar diferenças de médias de 0,7 mg/dl de Cálcio e 0,4 mg/dl de Magnésio para mais ou para menos, nos valores obtidos do soro sanguíneo, nos períodos antes e depois, a um nível de confiança de 95% e poder de 80%

O grupo controle foi constituído por 28 cães, todas fêmeas, com idade entre 1 e 16 anos, que se alimentavam com alimento comercial, todos foram examinados clinicamente e descartado a presença de nódulos mamários e sem alterações no exame radiológico torácico.

No grupo de cães com neoplasmas mamários, foram incluídos animais que recebiam alimentação comercial balanceada, sem presença de metástase pulmonar e que após análise histopatológica da peça cirúrgica foi confirmado neoplasma mamário. Foram excluídos da amostra cães que foram tratados com quimioterapia no decorrer do estudo, e pacientes que apresentassem metástase pulmonar, comprometimento de margem cirúrgica, ocorrência de novos nódulos ou recidivas nos retornos. Todos pacientes foram submetidos à

exame radiológico torácico para avaliação da possível presença de metástases pulmonares.

Os cães foram avaliados no dia zero (prévio à cirurgia) com relação à avaliações da massa tumoral e avaliação anatomopatológica. Além de serem avaliados no dia zero, aos 60 e 180 dias após o procedimento cirúrgico para dosagem sérica de cálcio e magnésio.

Através da palpação da(s) massas tumorais foram obtidas informações quanto a características morfológicas e avaliação da possibilidade de metástases em locais adjacentes e em linfonodos. Os cães foram anestesiados e submetidos a procedimento cirúrgico de exérese total das massas tumorais, por procedimento de nodulectomia, mastectomia regional ou radical uni ou bilateral. Em caso de linfonodo reativo era realizada exérese do mesmo na ocasião da cirurgia. Pacientes que necessitaram intervenção cirúrgica em etapas para exérese total dos neoplasmas somente foram admitidos na amostra posteriormente a exérese total.

As peças tumorais foram enviadas, imersas em formol a 10% e com identificação da extremidade cranial, para realização da avaliação anatomopatológica, que contou com avaliação macroscópica com determinação do tamanho (altura, largura, comprimento) através de medição com paquímetro. A microscopia iniciou com a caracterização das margens cirúrgicas, onde as peças eram pintadas com nanquim e fixadas com solução de ácido acético e formol na proporção de 2:8, respectivamente e avaliadas quanto à presença ou ausência de células neoplásicas malignas, sendo consideradas livres quando não havia células invadindo a margem cirúrgica e comprometidas quando havia invasão da linha preta formada pela impregnação

com tinta nanquim. Os tumores eram clivados e encaminhados para o processamento histológico.

Na avaliação histológica, os fragmentos eram processados para inclusão em parafina, cortados a 5 μ m e corados pela hematoxilina-eosina. As amostras foram avaliadas por microscopia de luz. Os cortes corados pela hematoxilina-eosina foram classificados quanto ao comportamento biológico em benigno e maligno e categorizados de acordo com a classificação preconizada pela AFIP/OMS ⁽³³⁾, considerando a morfologia dos tumores mediante características de histogênese, graus de diferenciação, índice mitótico e grau de invasividade. Os graus de diferenciação foram observados pela morfologia celular, onde quanto mais diferenciado mais benigno. O índice mitótico foi avaliado através de número de mitoses por campo, onde os benignos possuíam índice mitótico muito baixo até os de alta malignidade apresentavam altos índices de mitose. O grau de invasividade avaliou como tumores benignos e de baixa malignidade aqueles cujo grau de invasão não apresentassem invasão em tecido adjacente, os de malignidade intermediária quando apresentavam invasão adjacente sem invasão de vasos linfáticos ou sanguíneos e os altamente malignos quando apresentaram invasão para vasos sanguíneos ou linfáticos e/ou metástases para linfonodos regionais. Utilizando a classificação descrita, os neoplasmas foram agrupados em: benignos (Grupo B), baixa malignidade (Grupo BM), malignidade intermediária (Grupo MI) e alta malignidade (Grupo AM). Quando mais de um tumor de mesma classificação histológica ocorria em uma mesma cadela, ele era considerado apenas uma vez.

As dosagem sérica de cálcio e magnésio dos pacientes com neoplasma foi realizada prévia à exérese dos tumores (dia zero), aos 60 e 180 dias. No grupo controle estas dosagens foram também realizadas em três períodos, no dia zero e 60 e 180 dias após a primeira coleta. As amostras sanguíneas foram obtidas por punção venosa, na veia cefálica, utilizando-se seringa e agulha descartáveis. As amostras foram identificadas e acondicionadas em tubos sem anticoagulante, centrifugadas, 3000rpm durante 15min, e conservadas em *ependorfs* em temperatura de 2^o à 8^oC por, no máximo 5 dias. A avaliação de dosagem dos níveis de Ca e Mg foi realizada através da técnica de espectrofotometria de absorbância (Espectrofotômetro 700plus - Fento[®]). Para análise do nível sérico de cálcio foi utilizado o Kit Cálcio ArsenazoLiquiform[®] (Labtest Diagnóstica S.A) e de magnésio pelo Kit Magnésio sérico (Labtest Diagnóstica S.A). Para essas análises foram considerados como níveis fisiológicos padrões de cálcio (9,0 a 11,3mg/dl) e de magnésio (1,8 a 2,4mg/dl) (³⁴, ³¹).

Os resultados foram codificados em relação aos níveis dos minerais e em graus de malignidade de neoplasmas. Para comparação de médias dos valores dos minerais analisados pré e pós retirada do tumor foi utilizado o Teste de Wilcoxon pareado e o Teste T para detectar diferença de médias dos minerais com relação ao comportamento biológico.

Resultados

Foram acompanhadas 36 fêmeas caninas portadoras de neoplasmas mamários, de uma população inicial de 53 animais, havendo uma perda total de 17 pacientes devido à ocorrência de novos nódulos, recidivas, metástase

pulmonar, comprometimento de margem, órbito ou não aceitaram participar do estudo. A idade média dos cães estudados foi de 9,5 anos (+ ou - 3,0).

Segundo as características biológicas dos tumores quatro animais apresentaram tumores benignos (B), 10 de baixa malignidade (BM), nove de malignidade intermediária (MI) e 13 de alta malignidade (AM) totalizando 36 animais estudados no grupo com neoplasma mamário e 28 no grupo controle.

A média dos níveis fisiológicos de Cálcio (10,15mg/dl) foi muito próxima à média das coletas do grupo controle (10,07mg/dl). Enquanto os níveis médios de cálcio sérico dos pacientes do grupo com baixa malignidade (BM) e malignidade intermediária (MI) apresentaram-se com hipocalcemia ambos diferindo estatisticamente ($p < 0,001$) do grupo controle. Os pacientes do grupo de alta malignidade (AM) apresentaram hipercalcemia e diferiram significativamente ($p < 0,001$) dos níveis médios obtidos no grupo controle. Não foi demonstrado diferença estatística entre o grupo de neoplasmas benignos (B) e o grupo controle (Figura 1).

Resultado semelhante foi obtido quando comparada a média dos níveis fisiológicos de Magnésio (2,1mg/dl) em relação a media do grupo controle (2,04mg/dl). Havendo diferença estatística entre o grupo controle e os grupos BM ($p < 0,001$), MI ($p = 0,002$) e AM ($p < 0,001$), sendo que nos dois primeiros foi observado hipomagnesemia e no último com hipermagnesemia. Novamente não foi demonstrada diferença estatística ente o grupo controle e o grupo B. (Figura 2).

No grupo controle a variação do cálcio e do magnésio se manteve em 100% da população dentro dos limites fisiológicos nos três períodos de coleta (0, 60 e 180 dias). No grupo BM a maioria da população estudada (80%)

apresentava limite de cálcio abaixo do fisiológico, e ao final do período, 100% da população estava com a calcemia dentro do fisiológico. Semelhante achado foi encontrado na mesma população quanto ao magnésio, onde 80% também estava com limites abaixo do fisiológico na primeira coleta (com a presença do neoplasma) e na coleta aos 180 dias após a exeresse a mesma proporção da população tinha seus limites sorológicos dentro do limite fisiológico. Essa variação se repetiu no grupo MI, onde a maioria da população (66,7%) na primeira coleta tinha os limites de cálcio e magnésio abaixo do fisiológico, e ao final do período, na terceira coleta, a maioria da população (77,8%) estava dentro dos limites fisiológicos de cálcio e magnésio.

Resultado observado na população da amostra do grupo AM mostrou-se diferente, onde a maioria da população na coleta com a presença de neoplasma apresentava-se com níveis acima dos limites fisiológico do cálcio (84,6% da população) e de magnésio (69,2%). E ao final do período pós exérese neoplásica a maioria da população da amostra tinham seus limites de cálcio (61,5%) e de magnésio (84,6%) dentro dos limites fisiológicos.

Em relação a análise realizada comparando os valores sanguíneos dos minerais estudados no grupo de cães com neoplasma mamário foi demonstrado que houve significância na variação de cálcio e magnésio entre a primeira e última coleta nos grupos BM e AM (Tabela 2).

Discussão

Estudos sugerem que alguns tipos neoplásicos, principalmente malignos, tais como melanoma (⁸), carcinoma de ovário (¹⁷; ¹⁸) e carcinoma in situ em mama (³⁵) liberam PTH-rP (proteína relacionada ao paratohormônio)

que tem uma ação semelhante ao PTH (paratohormônio) (⁸). O PTH-rP induz ao aumento da reabsorção óssea osteoclástica (¹⁴) e diminuição da excreção renal de cálcio, conseqüentemente causando hipercalcemia. Esse mecanismo também tem sido atribuído a processos osteolíticos secundários à metástases ósseas e à fatores humorais que, associado à processos osteolíticos secundários, causam aumento da reabsorção óssea e diminuição da excreção renal de cálcio (⁶).

Os resultados deste trabalho demonstram haver uma influência primária de magnésio seguida da alteração de cálcio em animais portadores de neoplasmas de alta malignidade uma vez que apresentaram hipercalcemia e hipermagnesemia. Os níveis de magnésio apresentaram-se muito semelhante aos de cálcio, podemos explicar este fato pois, pode ser o magnésio, o desencadeante da liberação do PTH-rP em células neoplásicas com conseqüente elevação do cálcio (³²). Se considerarmos, conforme a literatura, a possibilidade da influência primária do paratormônio, cursando com aumento da reabsorção óssea e diminuição de excreção renal de cálcio, com conseqüente ocorrência de hipercalcemia (^{17; 8; 18; 19; 6; 16; 14}), o esperado seria que os níveis de magnésio estivessem diminuídos nos casos de maior malignidade neoplásica, onde a hipercalcemia foi presente (³²).

Trabalhos indicam que o metabolismo do magnésio intra eritrocitário pode estar alterado em processos neoplásicos (³⁶). Outros autores mostram alterações quanto ao seu nível no tecido neoplásico em relação ao tecido normal (³⁷) e sugerem que um aumento no nível de magnésio no tecido neoplásico e em eritrócitos provoca uma diminuição do conteúdo do elemento no plasma (^{38; 39}), mas também não fazem uma correlação com malignidade.

Estudo em 10 mulheres com neoplasma mamários relata não haver associação entre níveis de magnésio sérico com o nível deste mineral no tecido neoplásico, e nem com aparecimento de metástase pulmonar ou em linfonodos ⁽⁴⁰⁾.

Em cães existem poucos estudos que observaram hipercalcemia em casos de neoplasma mamário ^(14, 15). Com relação ao nível de cálcio após exérese neoplásica, apenas um artigo refere essa relação em relato de caso em um cão com neoplasma mamário que após a exérese cirúrgica teve seu nível de cálcio normalizado ⁽³⁵⁾. Estudos apontam que há elevação do magnésio no tecido neoplásico e sugerem que seja decorrente de sua ação no metabolismo de biossíntese de proteínas que desempenha um papel importante na intensidade de multiplicação celular ⁽⁴¹⁾. Os trabalhos citam um caso em mulher com neoplasma mamário sem identificar o tipo ⁽³⁾, 11 casos de neoplasmas de carcinoma de pequenas células do ovário ⁽¹⁰⁾ e 49 mulheres com carcinoma de pequenas células do ovário, representando 62% dos casos que o cálcio foi mensurado ⁽⁷⁾. Nos trabalhos de cães foram estudadas 17 cadelas com neoplasma mamário, porém sem identificar o tipo neoplásico, onde apenas duas apresentaram cálcio elevado. Esse baixo índice de hipercalcemia concorda com resultados obtidos no trabalho de SOUTHBY et al. (1990)⁴² que não detectaram hipercalcemia em 102 casos de neoplasma invasivo mamário, mesmo quando presente PTH-rP no tecido neoplásico.

Elevações de cálcio são esperadas pela ação do hormônio de crescimento (Gh) e a extensa osteogênese durante a formação dos núcleos de ossificação, crescimento longitudinal e maturação óssea ⁽⁴³⁾. Nos cães

estudados nenhuma fêmea encontrava-se em fase de crescimento, sendo a mais nova da amostra com 4 anos.

Trabalhos demonstram também que, em casos onde o cálcio sanguíneo está abaixo o de magnésio estaria elevado, devido ao aumento da reabsorção renal de magnésio em resposta ao PTH secretado, ⁽³¹⁾, nesses casos os resultados desse trabalho também diferiram, pois os animais portadores de neoplasmas de baixa malignidade e malignidade intermediária foi demonstrado hipocalcemia e hipomagnesemia, o que mantém a dúvida quanto à elevação do cálcio por envolvimento primário do PTH e sim indicando a causa primária uma alteração de magnésio circulante. Por outro lado, os trabalhos que estudam síndrome paraneoplásica, apesar de citarem que há déficit nutricional nos pacientes oncológicos ⁽⁴⁴⁾, não estudam nesses casos os níveis de magnésio e cálcio e provavelmente, esta debilidade orgânica pela síndrome paraneoplásica, pode estar relacionada aos baixos níveis de cálcio.

Nos tumores benignos não houveram alterações nos valores dos minerais estudados possivelmente por estas células não possuírem receptores para a PTH-rp. Sendo esta também a provável explicação dos níveis sanguíneos dos minerais estudados durante o desenvolvimento neoplásico voltam aos valores fisiológicos a medida que ocorre a retirada das massas neoplásicas, tanto no caso de aumento quanto na diminuição. Essa influência da presença de neoplasma com alteração do cálcio e seu retorno ao fisiológico pode ser explicada pela retirada das células alteradas que possuiriam receptores para PTH-rP ^(17, 8, 18, 19, 16, 14) e desta forma não haver a reabsorção óssea e diminuição de excreção renal de cálcio ⁽⁶⁾ indicando que a

presença das células neoplásicas são necessárias para que o mineral magnésio ative o PTH-rp e desta forma curse com hipercalcemia.

Novos estudos podem ser necessários para verificar se estes indicadores podem ser utilizados como ferramenta de diagnóstico neoplásico e mesmo de metástases presentes. Além disso, há necessidade de estudos que confirmem a influência do magnésio sobre o cálcio, conforme os resultados deste trabalho sugerem haver uma influência primária de magnésio seguida da de cálcio.

Conclusão

Os resultados permitiram concluir que cães portadores de neoplasias mamárias de baixa malignidade e malignidade intermediária apresentam alterações de hipocalcemia e hipomagnesemia, retornando aos níveis fisiológicos após seis meses da exérese cirúrgica. Assim como casos de neoplasmas de alta malignidade apresentam hipercalcemia e hipermagnesemia quando na presença de neoplasmas, também retornando aos níveis fisiológicos após seis meses da exérese cirúrgica.

Acknowledgments

Ao Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPEL). Ao Grupo de oncologia veterinária – UFPel. Ao Laboratório do Bioquímica da UFPel

Órgãos financiadores

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa e recurso.

Referências

- 1- Fonseca CS, Daleck CR. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovário-histerectomia como terapia adjuvante. *Ciência Rural* 2000; 30 (4):731-735.
- 2- Withrow SJ, Macewen EG. Tumors Of The Mammary Gland. In: WITHOW, S. J.; Macewen, E. G. *Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2nd ed., 1996, p.356-372.
- 3- Stewart AF. Hypercalcemia associated with cancer. *New England Journal of Medicine*, 2005; 352:373-9.
- 4- Clines GA, Guise TA. Hypercalcemia in hematologic malignancies and in solid tumors associated with extensive localized bone destruction. In: Favus MJ, ed. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 5th ed. Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research, 2003:251-6
- 5- Burt ME, Brennan MF. Hypercalcemia and malignant melanoma. Case reports. *American Journal of Surgery* 1977;137:790–794. [PubMed: 453473]
- 6- Broadus AE, Mangin M, Ileda K, Insogna KL, Weir EC, Burtis WJ, Stewart AF. Humoral hypercalcemia of cancer. Identification of a novel parathyroid hormone-like peptide. *New England Journal of Medicine* 1988; 319:556–563.
- 7- Young RH, Oliva E, Scully RE. Small Cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. A clinicopathological analysis of 150 cases. *American Journal Surgery and Pathology*. 1994; 18:1102-1116.
- 8- Attia P, Phan GQ, Duray P, Rosenberg SA. Parathyroid Hormone- Related Protein and Hypercalcemia in Patients With Metastatic Melanoma: Case Report and Review. *American Journal of Clinical Oncology* 2003; 26(1):42-45.
- 9- Guimarães GC, Novik PR, Gadelha AP. Cruz, S. M. da, Coudry, R de A., Abraão, F. S. Carcinoma de Pequenas Células Hipercalcêmico do Ovário. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2001; 23 (7):451-455.
- 10- Dickersin GR, Kline IW, Scully RE. Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia: a report of eleven cases. *Cancer* 1982; 49:188-97.
- 11- Coggeshall J, Merrill W, Hande K, Prez RD. Implications of hypercalcemia with respect to diagnosis and treatment of lung cancer. *American Journal Medicine* 1986;80:325–8.
- 12- Takai E, Yano T, Iguchi H, Fukuyama Y, Yokoyama H, Asoh H, Ichinose Y. Tumor-Induced Hypercalcemia and Parathyroid Hormone-Related Protein in Lung Carcinoma. *Cancer* 1996;78 (7).
- 13- Roodman GD. Mechanisms of Bone Metastasis. *New England Journal of Medicine* 2004; 350: 1655-1664.
- 14- Martin LF. Hypercalcemia and hypermagnesemia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1998; 28 (3):565 – 585.
- 15- Lobo E, Silva MAM, Manzan RM, Doretto JS, Tavares ABMM, Cavalcanti JN. Níveis de cálcio sérico de cadelas portadoras de tumor de mama. *Boletim*

Medico Veterinário UNIPINHAL-Espírito Santo do Pinhal - SP, v. 01, n. 01, jan./dez. 2005.

16- Elliott J, Dobson JM, Dunn JK, Herrtage ME, Jackson KF. Hypercalcaemia in the dog: A study of 40 cases. *Journal of Small Animal Practice* 1991;32:564-571.

17- Burton PB, Knight DE, Quirke P, Smith R, Moniz C. Parathyroid hormone related peptide in ovarian carcinoma. *Journal of Clinical Pathology* 1990; 43:784.

18- Matias-Guiu X, Prat J, Young RH, Capen CC, Rosol TJ, Delellis RA, Scully RE. Human parathyroid hormone-related protein in ovarian small cell carcinoma: an immunohistochemical study. *Cancer* 1994; 73: 1878-81.

19- Fenton AJ, Kemp BE, Hammonds RG, Mitchelbill K, Mose-Ley JM, Martin TJ, Nicholson GC. A potent inhibitor of osteoclastic bone resorption within a highly conserved pentapeptide region of parathyroid hormone-related protein; PTHrP (107-III). *Endocrinology* 1991;129: 3424-3426.

20- Watson J. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nature New Biol.* 1972; 239:197-201.

21- Olovnikov AM. A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *Journal Theor. Biol.* 1973; 41: 181-190.

22- Suzuk Y, Oka K, Ohno T, Kato S, Tsujii H, Nakano T. Prognostic Impact of Mitotic Index of Proliferating Cell Population sin Cervical Cancer Patients Treated With Carbon Ion Beam. *Cancer*, 2009; 1.

23- Yazawa M, Okuda M, Setoguchi A, Iwabuchi S, Nishimura R, Sasaki N, Masuda K, Ohno K, Tsujimoto H. Telomere length and telomerase activity in canine mammary gland tumors. *American Journal of Veterinary Research* 2001; 62:1539 – 1543.

24- Rhyu MS. Telomeres, telomerase, and immortality. *Journal of the National Cancer Institute* 1995; 87: 884-894

25- Shay JW, Werbin H, Wright WE. You haven't heard the end of it: telomere loss may link human aging with cancer. *Cancer Journal Aging* 1995; 14: 511-524.

26- Amorim AG, Tirapegui J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. *Revista Nutrição.* 2008;.21(5): 563-575.

28- Scanlan BJ, Tuft B, Elfrey JE, Smith A, Zhao A, Morimoto M, et al. Intestinal inflammation caused by magnesium deficiency alters basal and oxidative stress-induced intestinal function. *Mol Cell Biochem* 2007, 306(1-2):59-69, DOI: 10.1007/s11010-007-9554-y

29- Gilbert D'angelo et al. Magnesium relaxes arterial smooth muscle by decreasing intracellular Ca²⁺ without changing intracellular Mg²⁺. *Journal of Clinical Invest*, v.89, p.1988-1994, 1992.

30- McLEAN R.M. Magnesium and its therapeutic uses: a review.. *The American Journal of Medicine*, 1994, v.96.

- 31- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M.L. 1997. (Eds.) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Press, 932p.
- 33- Misdorp W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. Tumors in domestic animals. Iowa State Press, 4th ed., 2002, p.575-606.
- 34- Meyer DJ, Coles EH, Rich LJ. 1995. Medicina de Laboratório Veterinária. Interpretação e Diagnóstico. São Paulo: Editorial Roca. 308p.
- 35- Bae BK, Kim CW, Choi U, Choi E, Jee H, Kim D, Lee C. Hypercalcemia and high parathyroid hormone-related peptide concentration in a dog with a complex mammary carcinoma. Veterinary Clinical Pathology 2007, 36(4): 376-378.
- 36- Durlach J., Bara M., Guet-Bara A., Collery P.: Relationship between magnesium, cancer and carcinogenic or anticancer metals. Anticancer Research 1986, 6, 1535-1561.
- 37- Ranade SS, Panday VK. Major metals in human cancer: calcium, magnesium, sodium and potassium. Science Total Environment. 1985; 41: 79-89.
- 38- Tansy M.F., Kendall M.F.: Mg and the gastrointestinal tract. Magnesium Bull 1981, 3, 55-66.
- 39- Kohli G.S., Bhargava A., Goel H., Yadav S.P., Saini A.S., Singh G.P., Lal H.: Serum magnesium levels in patients with head and neck cancer. Magnesium 1989, 8, 77-86.
- 40- Seltzer, M.H.; Rosato, F.E.; Fletcher, M.J. Serum and tissue magnesium levels in human breast carcinoma. Journal of Surgical Research Volume 10, Issue 4, April 1970, 159-162
- 41- Sanyeev K., Gupta K., Vijay K., Madho P.: Serum and tissue. Trace elements in colorectal cancer. Journal of Surgery and Oncology 1993, 52, 172-175
- 42- Southby J, Kissin MW, Danks JA, Ilayman JA, Moseley JM, Henderson MA, Bennett RC, Martin TJ. Immunohistochemical Localization of Parathyroid Hormone-related Protein in Human Breast Cancer. Cancer Research 1990; 50:7710-7716.
- 43- Castillo V, Marquez A, Rodriguez M, Lalia J. Parámetros bioquímico-endocrinos de utilidad en la etapa del crecimiento y desarrollo Del Ovejero Alemán, Doberman y Gran Danés. Archives of medicine veterinary. 1997;29(1)
- 44- Torosian MH, Daly JM. Nutritional Support in the Cancer-Bearing Host Effects On Host and Tumor. Cancer 1986; 58 (15):1915-1929.

Tabela 1. Distribuição dos tipos de neoplasmas, relacionado com o comportamento biológico destes.

Tipo Histológico	N	Comportamento biológico
Lipoma	2	Benigno
Adenoma simples	2	
Total	4	
Carcinoma complexo de mama	9	Baixa Malignidade
Carcinoma in situ	1	
Total	10	
Carcinoma tubulopapilar de mama	4	Malignidade Intermediária
Carcinoma Sólido de Mama	5	
Total	9	
Carcinossarcoma de mama	11	Alta Malignidade
Carcinoma em tumor misto de mama	2	
Total	13	
Total geral	36	

TABELA 2- Variação dos níveis de cálcio e magnésio sérico em cães, entre a coleta sanguínea do dia zero (com a presença de neoplasma mamário) e 180 dia após a exérese, de acordo com comportamento biológico.

Comportamento biológico	Minerais	
	Cálcio (p*)	Magnésio (p*)
Benigno	0,1441	0,2733
Baixa Malignidade	0,0125	0,0124
Malignidade Intermediária	0,0502	0,0853
Alta Malignidade	0,0087	0,0015

*Teste de Wilcoxon pareado

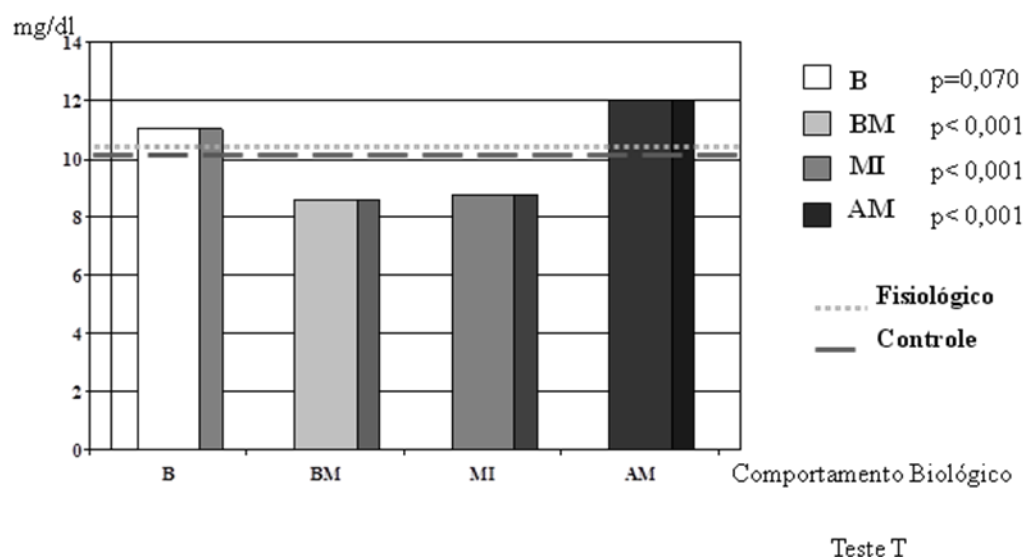
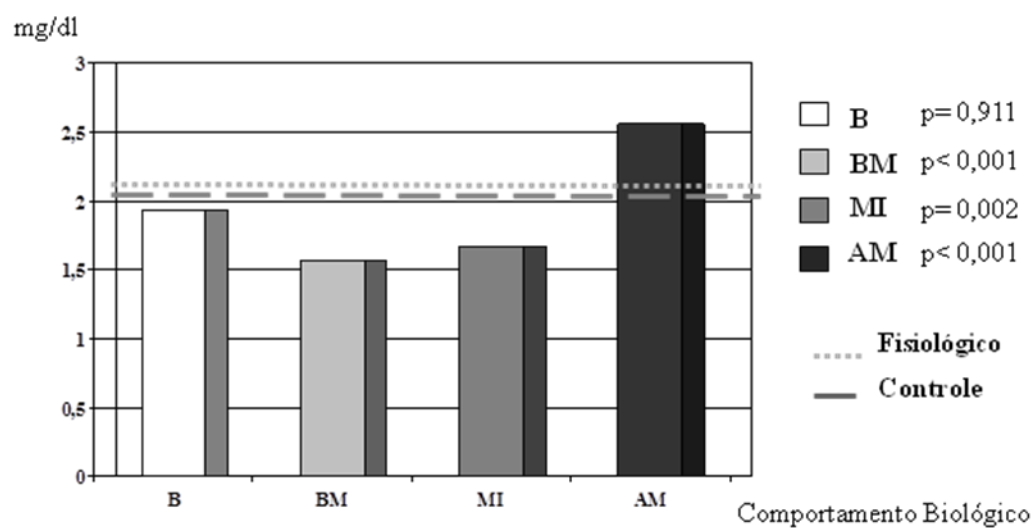


Figura 1 - Níveis médios sanguíneos de cálcio de cães com neoplasmas mamários considerando comportamento biológico em comparação aos valores médios de cães do grupo controle sem tumorações mamárias e dos níveis fisiológicos



Teste T

Figura 2 – Níveis médios sanguíneos de magnésio de cães com neoplasmas mamários considerando comportamento biológico em comparação aos valores médios de cães do grupo controle e dos níveis fisiológicos

4 Conclusões

Os resultados permitiram concluir que:

- a mobilidade e consistência neoplásica estão relacionadas com malignidade e prognóstico do paciente;
- comprometimento de margem demonstra ocorrência direta com presença de metástase pulmonar;
- idade, raça, realização de ovariectomia e uso de anticoncepcionais não demonstram relação com prognóstico de malignidade;
- cães portadores de neoplasmas mamários de baixa malignidade e malignidade intermediária apresentam alterações de hipocalcemia e hipomagnesemia quando na presença de neoplasmas;
- cães que apresentam neoplasmas mamários de alta malignidade apresentam hipercalcemia e hipermagnesemia;
- após seis meses da exérese dos neoplasmas mamários, os níveis de cálcio e magnésio de pacientes retornam aos níveis fisiológicos.

5 Referências bibliográfica

- AHERN, T.E., BIRD, R.C., BIRD, A.E., WOLFE, L.G. 1996. Expression of the onco gene c-erbB2 in canine mammary cancer and tumor-derived cell lines. **American Journal of Veterinary Research** 57, 693–696.
- ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. A mecânica da divisão celular. In: **Biologia molecular da célula**. São Paulo: Artes Médicas Sul, 1997. Cap. 18, p. 911 – 946
- ALLEN, S.W., PRASSE, K.W., MAHAFFEY, E.A.. Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. **Veterinary Pathology** 23(6), 649-655. 1986
- ALMASRI, N.M., AL HAMAD, M., Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan. **Breast Cancer Research** 7, R598– R604. 2005
- AMORIM AG, TIRAPÉGUI J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. **Revista de Nutrição**, 21(5): 563-575. 2008
- ANDREASEN, P.A., KJOLLER, L., CHRISTENSE, L., DUFFY, M.J., The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. **International Journal of Cancer** 72, 1–22. 1997
- ANDERSON, T. J., Sarcomas ósseos primários do cão e do gato, diagnóstico e opções de tratamento. **Waltham Focus** 6(3), 21-30. 1996
- ATTIA, P.; PHAN, G. Q.; DURAY, P.; ROSENBERG, S.A. Parathyroid Hormone-Related Protein and Hypercalcemia in Patients With Metastatic Melanoma: Case Report and Review. **American Journal of Clinical Oncology**, v.26, n.1, p.42-45, 2003.
- AZIZ, S.A., PERVEZ, S., KHAN, S., KAYANI, N., RAHBAR, M.H., 2002. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a prognostic marker: an immunohistochemical study on 315 consecutive breast carcinoma patients. **Journal Pak Medical Assoc.** 52(3), 104-110.
- BAE BK, KIM CW, CHOI U, CHOI E, JEE H, KIM D, LEE C. Hypercalcemia and high parathyroid hormone-related peptide concentration in a dog with a complex mammary carcinoma. **Veterinary Clinical Pathology** 2007, 36(4): 376-378.
- BAKER, D.G.; MASTERSON, T.M.; PACE, R.; CONSTABLE, W.C.; WANEBO, H. The influence of the surgical wound on local tumor recurrence. **Surgery**, 106:525-532, 1989.

- 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** 36, 423–436. 1999
- BHARGAVA, R., BERIWAL, S., MCMANUS, K., DABBS, D.J., CK5 Is More Sensitive Than CK5/6 in Identifying the “Basal-like” Phenotype of Breast Carcinoma. **American Journal of Clinical Pathology**. 130, 724-730. 2008.
- BIESTERFELD, S., NOLL, I., MD, NOLL, E., WOHLTMANN, D., BOCKING, A., Mitotic Frequency as a Prognostic Factor in Breast Cancer. **Human pathology** 26, (1). 1995
- BIECHE, I., ONODY, P., TOZLU, S., DRIOUCH, K., VIDAUD, M., LIDEREAU, R., Prognostic value of ERBB family mRNA expression in breast carcinomas. **Internal Journal of Cancer** 106, 758–765. 2003
- BOSARI, S., LEE, A.K., DELELLIS, R.A., WILEY, B.D., HEATLEY, G.J., SILVERMAN, M.L., Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. **Human Pathology**, 23, 755-761. 1992
- BOSTOCK, D.E., Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **Brazilian Veterinary Journal** 142, 1-19. 1986
- BOSTOCK, D.E., The prognosis following the surgical excision of canine mammary neoplasms. **European Journal Cancer** 11, 389-396. 1975
- BROADUS AE, MANGIN M, IKEDA K, INSOGNA KL, WEIR EC, BURTIS WJ, STEWART AF. Humoral hypercalcemia of cancer. Identification of a novel parathyroid hormone-like peptide. **New England Journal of Medicine** 319:566–563, 1988.
- BRONSON, R.T. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. **American Journal of Veterinary Research**, v.43, n.11, p.2057-2059, 1982.
- BURT ME, BRENNAN MF. Hypercalcemia and malignant melanoma. Case reports. **American Journal Surgery**;137:790–794. 1977
- BURTON PB, KNIGHT DE, QUIRKE P, SMITH R, MONIZ C. Parathyroid hormone related peptide in ovarian carcinoma. **Journal of Clinical Pathology**, 1990; 43:784.
- BUSH, B.M. Interpretation of laboratory results for small animal clinicians. 1.ed. London: **Blackwell Scientific Publications**, 1991. p.350-386
- CASSALI, G.D., Estudo morfológico, imuno-histoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – Aspectos comparativos com neoplasias da mama humana. 2000. 80f. **Tese (Doutorado)**. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte
- CASTILLO V, MARQUEZ A, RODRIGUEZ M, LALIA J. Parámetros bioquímico-endocrinos de utilidad em la etapa del crecimiento y desarrollo Del Ovejero Alemán, Doberman y GranDanés. **Archives medicine veterinary**, 1997;29
- CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas – revisão. **Clínica Veterinária**, 61:56-64, 2006.
- CHARPIN, C., GARCIA, S., BOUVIER, C., MARTINI, F., LAVAUT, M.N., ALLASIA, C., BONNIER, P., ANDRAC, L., C-erbB-2 oncoprotein detected by automated

quantitative immunocytochemistry in breast carcinomas correlates with patients' overall and disease-free survival. **British Journal of Cancer** 75,1667–1673. 1997a

CHARPIN, C., GARCIA, S., BOUVIER, C., MARTINI, F., ANDRAC, L., BONNIER, P., LAVAUT, M.N., ALLASIA, C.,. CD31/PECAM automated and quantitative immunocytochemical assays in breast carcinomas: correlation with patient followup. **American Journal Clinical Pathology**, 107, 534-541. 1997b

CHIANG,YU-CHING; LIU, CHEN-HSUAN; HO, SHENG-YU; LIN, CHUNG-TIEN; YE, LIH-SENG. Hypertrophic osteopathy associated with disseminated metastases of renal cell carcinoma in the dog: a case report. **The Journal of veterinary medical science** (2007) Volume: 69, Issue: 2, Pages: 209-212

CHU JS, HUANG CS, CHANG KJ. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolabeling as a prognostic factor in invasive ductal carcinoma of the breast in Taiwan. **Cancer Letters**, 131:145-152, 1998.

CLINES GA, GUISE TA. Hypercalcemia in hematologic malignancies and in solid tumors associated with extensive localized bone destruction. In: Favus MJ, ed. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5th ed. Washington D.C.: **American Society for Bone and Mineral Research**,p.251-6, 2003

COGGESHALL J, MERRILL W, HANDE K, PREZ RD. Implications of hypercalcemia with respect to diagnosis and treatment of lung cancer. **American Journal Medicine** 1986;80:325–8.

CONCEIÇÃO, L.G. et al.. Biópsia e histopatologia da pele: um valioso recurso diagnóstico na dermatologia - revisão - parte 1. **Clínica Veterinária** 9, 36-44. 2004

CONROY, J.D. Canine Skin Tumors, Journal Of **The American Animal Hospital Association** 19(1), 91-114. 1983.

Cooper, G.M., 2001. A Célula. **Uma Abordagem Molecular**. Artmed. 2ªEd., 633-74.

CORMIER, J.N.; POLLOCK, R.E. Soft Tissue Sarcomas. **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 54, p. 94-109, 2004

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000. 1400p.

CRAFT, P.S., Harris, A.L.,. Clinical prognostic significance of tumour angiogenesis. **Annals of Oncology** 5, 305-311, 1994

CULLEN, J. M.; PAGE, R. & MISDORP, W. An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Ames Blackwell Publishing Company : Iowa State Press, USA 2002. p. 3-43.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUSA, R. S.; COSTA, T. A.; MACEDO, T. R.; RODIGHERI, S. M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C. H. Prevalência de neoplasias em modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science** v. 7, p.15 – 26, 2002.

DERNELL, W.S.; WITHROW, S.J. Preoperative patient planning and margin evaluation. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, 13(1):17-21, 1998.

DESTEXHE E, LESPAGNARD L, DEGEYTER M, HEYMAN R, COIGNOUL F. Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial, and connective tissue cells in canine mammary tumors. **Veterinary Pathology**; 30: 146-154, 1993.

DICKERSIN GR, KLINE IW, SCULLY RE. Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia: a report of eleven cases. **Cancer** 1982; 49:188-97.

DONNAY, I.; DEVLEESCHOUWER, N.; WOUTERS-BALLMAN, P.; LECLERCQ, G.; VERSTEGEN, J. Relationship between receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues. **Research in Veterinary Science**, London, v. 60, p. 251-254, 1996.

DONEGAN, W.L. Staging methods, primary treatment options and results In: Donegan WL, Spratt JS, editors. **Cancer of the breast**. 2th ed. Philadelphia: Saunders, 1979. p. 221

DURLACH J., BARA M., GUIET-BARA A., COLLERY P. Relationship between magnesium, cancer and carcinogenic or anticancer metals. **Anticancer Research**, v. 6, p.1535-1561. 1986.

EHRHART, E.J.; POWERS, B.E. The Pathology of Neoplasia In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. Withrow & MacEwen's **Small Animal Clinical Oncology**. Saint Louis: Elsevier Saunders, 4 ed.. 2007, p 425-454.

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, p.403 – 410, 1991.

ELLIOTT J, DOBSON JM, DUNN JK, HERRTAGE ME, JACKSON KF. Hypercalcaemia in the dog: A study of 40 cases. **Journal of Small Animal Practice**;32:564-571. 1991

ENGSTRÖM, W., MÖLLERMARK, G., KÄNGSTRÖM, LE., LARS-SON, O.. Some molecular characteristic of canine mammary tumors and their relationship to biological malignancy and prognosis. **Zoological Science** 6: 15-18. 1989

ER, J. C.; SUTTON, R. H. A survey of skin neoplasms in dogs from Brisbane region. **Australian Veterinary Journal**,66 (7):225-227, 1989.

ESTEP, H.; SHAW, W. A.; WATLINGTON, C.; HOBE, R.; HOLLAND, W.; TUCKER, St. G.. Hypocalcemia due to hypomagnesemia and reversible parathyroid hormone unresponsiveness. **Journal Clinical Endocrinology Aletab**. 29: 842. 1969

FANTON, J.W.; WHITHROW, S. J. Canine mammary neoplasia: an overview. **Cal. Veterinary**, 7:12-16, 1981.

FAWCETT WJ, HAXBY EJ, MALE DA: Magnesium: Physiology and pharmacology.**Br Journal of Anaesthesia** 83:302–320, 1999.

FENECH M. Chromosomal biomarkers og genomic instability relevant to cancer. **DDIT**; v.7, p.1128-37, 2002.

FENTON AJ, KEMP BE, HAMMONDS RG, MITCHELBILL K, MOSE-LEY JM, MARTIN TJ, NICHOLSON GC. A potent inhibitor of osteoclastic bone resorption within a highly conserved pentapeptide region of parathyroid hormone-related protein; PTHrP (107-III). **Endocrinology**;129: 3424-3426. 1991

FERGUSON, H.R.. Canine Mammary Gland Tumors. **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice** 15(3), 501-11. 1985

- FERNANDEZ, L. L.; FORNARI, L. H. T.; BARBOSA, M.V.; SCHRODER, N. Ferro e neurodegeneração. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 17, n. 4, p. 218-224, out./dez. 2007
- FIDLER, I.J. & BRODEY, R.S.,. The biological behavior of canine mammary neoplasms. **Journal A.Veterinary M.A.** 151, 1311-1318. 1967
- FLORIAŃCZYK B., PASTERNAK K.: Concentration of magnesium and zinc in mammary tumors. **Biul Magnezol**, v.4, p.54-57, 1994.
- FOLKMAN, J.,. Angiogenesis. **Annual Review in Medicine** 57, 1–18. 2006
- FONSECA, C.S.; DALECK, C.R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural**,v.30, n.4, p.731-735, 2000.
- GAMA, A., ALVES, A., SCHMITT, F.,. Expression and prognostic significance of CK19 in canine malignant mammary tumours. **The Veterinary Journal** 184, 45–51. 2010
- GAMA, A., ALVES, A., SCHMITT, F.,. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. **Virchows Archive** 453, 123–132. 2008a
- GAMA, A., PAREDES, J., GARTNER, F., ALVES, A., SCHMITT, F.. Expression of E-cadherin, P-cadherin and b-catenin in canine malignant mammary tumours in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. **The Veterinary Journal** 177(1), 45–53. 2008b
- GAMBLIN, R.M., SAGARTZ, J.E., COUTO, C.G..Over expression of p53 tumor suppressor protein spontaneous lyarising neoplasms of dogs. **American Journal of Veterinary Research** 58(8), 857–863. 1997
- GEYER, F., MARCHIO, C., REIS-FILHO, J.,. The role of molecular analysis in breast cancer. **Pathology** 41, 77–88. 2009
- GILBERT D'ANGELO ET AL. Magnesium relaxes arterial smooth muscle by decreasing intracellular Ca^{+2} without changing intracellular Mg^{+2} . **Journal of Clinical Invest**, v.89, p.1988-1994, 1992.
- GILBERTSON, S. R. Kurzman, ID; Zachrau, RE Hurvitz, AI Black MM Canine mammary epithelial neoplasms biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 20, p. 127. 142, 1983.
- GOBELLO, C. 2007. **Animal Reproduction Science**, 100,1–13. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.08.02
- GOBELLO, C., CONCANNON, P. W., VERSTEGEN, J. Pseudopreñez canina: Una revisión In: Recent Advances in Small Animal Reproduction, Ithaca: **International Veterinary Information Service**, 2001. Disponível em http://www.ivis.org/advances/Concannon/gobello_es/IVIS.pdf. Acesso em 15/02/2012
- GOEDE, V., FLECKENSTEIN, G., DIETRICH, M., OSMERS, R.G.W., KUHN, W., AUGUSTIN, H.G. Prognostic value of angiogenesis in mammary tumors. **Anticancer Research**. 18, 2199-220, 1998.
- GONZALEZ, L.O., PIDAL, I., JUNQUERA, S., CORTE, M.D., VAZQUEZ, J., RODRIGUEZ, J.C., LAMELAS, M.L., MERINO, A.M., GARCIA-MUNIZ, J.L.,

VIZOSO, F.J.. Overexpression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in mononuclear inflammatory cells in breast cancer correlates with metastasis-relapse. **British Journal of Cancer** 97, 957-963. 2007

GUIMARAES, G. C., NOVIK, P. R., GADELHA, A. P. *et al.* Carcinoma de Pequenas Células Hipercalcêmico do Ovário. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.23, n.7, p.451-455, 2001.

HAN, B., NAKAMURA, M., ZHOU, G., ISHII, A., NAKAMURA, A., BAI, Y., MORI, I., KAKUDO, K. 2006. Calcitonin inhibits invasion of breast cancer cells: involvement of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and uPA receptor. **International Journal of Oncology** 28, 807–814.

HAY, E.D. Role of cell matrix contacts in cell-migration and epithelial-mesenchymal transformation. **Cell Differ Dev.**, 32(3):367-376, 1990.

HEIMANN, T., LAN, F.S., MCBRIDE, R., HELLMAN, S.,. Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin. **Cancer Research** 60, 298-304. 2000

HELLMÉN, E.,. Complex mammary tumours in the female dog: a review. **Journal Dairy Research** 72, 90-97. 2005

HELLMÉN, E.; BERGSTRÖM, R.; HOLMBERG, L.; SPANGBERG, I. B.; HANSSON, K.; LINDGREN, A. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. **Veterinary Pathology**. v. 30, p.20 – 27, 1993.

HELLMÉN, E.; MOLLER, M.; BLANKESTEIN, M.A.; ANDERSON, L.; WESTERMARK, B. Expression of different phenotypes in cell lines from canine mammary spindle-cell tumours and osteosarcomas indicating a pluripotent mammary stem cell origin. **Breast Cancer Research and Treatment**, v.61, p.197-210, 2000.

HIETANEN, P., MIETTINEN, M., MÄKINEN, J. Survival after first recurrence in breast cancer. **European Journal Cancer Clinical Oncology**, 22, 913-919. 1986

HOJILLA, C.V., WOOD, G.A., KHOKHA, R. Metalloproteinases as common effectors of inflammation and extracellular matrix breakdown in breast cancer. **Breast Cancer Research** 2008, 10:205 (doi:10.1186/bcr1980), Available online <http://breast-cancer-research.com/content/10/2/205>

HORAK, E.R., LEEK, R., KLENK, N., LEJEUNE, S., SMITH, K., STUART, N., GREENALL, M., STEPNIIEWSKA, K., HARRIS, A.L.,. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. **The Lancet** 340, 1120-1124, 1992

HSU, W.L., HUANG H.M., LIAO, WONG, J.W.,M.L., CHANG, S.C.. Increased survival in dogs with malignant mammary tumours over expressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. **The Veterinary Journal**. 180, 116–123. 2009

ITOH, T., UCHIDA, K., ISHIKAWA, K. KUSHIMA, K. KUSHIMA, E. TAMADA, H. MORITAKE, T. NAKAO, H., SHII, H.. Clinicopathological study of 101 canine mammary gland tumors: differences between small-breed dogs and others. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo 67(3), 345-347. 2005

JACQUEMIER JD, PENAULT-LLORCA FM, BERTUCCI F, SUN ZZ, HOUVENAEGHEL GF, GENEIX JA, PUIG BD, BARDOU VJ, HASSOUN JA,

BIRNBAUM D, VIENS PJ. Angiogenesis as a prognostic marker in breast carcinoma with conventional adjuvant chemotherapy: a multiparametric and immunohistochemical analysis. **Journal of Pathology**; 184: 130-135, 1998.

JONES, T. C.; HUNT, R. D. & KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo : Manole, 2000. 1415p.

JUNIOR, O.P.C. Fatores prognósticos clínicos, anatomopatológicos e biomoleculares do câncer de mama estágio clínico II. 2001. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP- SP.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L.1997. (Eds.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 932p.

KARAYANNOPOULOU, M., KAALDRYMIDOU, E., CONSTANTINIDIS, T. C., DESSIRIS, A.... Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, 133(4) 246-252. 2005

KATO T, KIMURA T, ISHII N, FUJII A, YAMAMOTO K, KAMEOKA S, NISHIKAWA T, KASAJIMA T. The 116classificat of quantitation of microvessel density and prognostic value of neovascularization associated with long-term survival in classifi patients with breast cancer. **Breast Cancer Research and. Treatment**, 53: 19-31, 1999.

KIM, J.H., IM, K.S., KIM, N.H., YHEE, J.Y., NHO, W.G., SUR, J.H.. Expression of HER-2 and nuclear localization of HER-3 protein in canine mammary tumors: histopathological and immunohistochemical study. **The Veterinary Journal**. 189 (3), 318-22. 2011

KOHLI G.S., BHARGAVA A., GOEL H., YADAW S.P., SAINI A.S., SINGH G.P., LAL H.: Serum magnesium levels in patients with head and neck cancer. **Magnesium** 1989, 8, 77-86.

KOUTRAS, A.K., KALOGERAS, K.T., DIMOPOULOS, M.A., WIRTZ, R.M., DAFNI, U., BRIASOULIS, E., PECTASIDES, D., GOGAS, H., CHRISTODOULOU, C., ARAVANTINOS, G., ZOGRAFOS, G., TIMOTHEADOU, E., PAPAKOSTAS, P., LINARDOU, H., RAZIS, E., ECONOMOPOULOS, T., KALOFONOS, H.P., FOUNTZILAS, G.,. Evaluation of the prognostic and predictive value of HER family mRNA expression in high-risk early breast cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) study. **British Journal of Cancer** 99, 1775–1785. 2008

KUMAR, P., KUMAR, R. PAWAIYA, R.S., PUTTASWAMY, M.B.. Diagnostic significance of mitotic index and AgNOR count in canine mammary tumours. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology** 3(1), 41-45. 2010

KURZMAN, I.D.; GILBERTSON, S.D. Prognostic factors in canine mammary tumors. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, 1:25-32, 1986.

LAAKSO, M., LOMAN, N., BORG, A., ISOLA, J.. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. **Modern Pathology**, 18, 1321–1328, 2005.

LAMP, O., HONSCHA, K.U., JAKOB, J., LAMP, J., SCHWEIZER, S., REISCHAUER, A., GOTTSCHALK, J., HAHN, A., EBERT, M., ROTHEMUND, S., BLASCHZIK, S., EINSPANIER, A.,. Investigation of the Local Expression of the Relaxin System in Canine Mammary Tumours. **Reproductive Dom Animal** 44 (Suppl. 2), 224–229. 2009. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01385.x

- LANA, S.E., RUTTEMAN, G.R., WITHROW, S.J. 2007. Tumors of the mammary gland. In: Withrow and MacEwen's **Small Animal Clinical Oncology**, St. Louis: Saunders, 4th ed., 619-636.
- LANDEL, A.M., HAMMOND, W.G., MEGUID, M.M.. Amino acid metabolism in cancer-bearing states. **Cancer January 1 v. 55, 1985Supplement**
- LANGENBACH, A.; McMANUS, P.; HENDRICK, M.; SHOFR, F.S.; SORENMO, K.U. Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 218 (9):1424-1428, 2001.
- LEE, C., KIM, W., LIM, J., KANG, M., KIM, D., KWEON, O.. Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. **Journal of Veterinary Science** 5, 63–69. 2004
- LEE, P., 2011. Longevity of the Australian Cattle Dog: Results of a 100-dog survey. **ACD Spotlight** . 4, 96-105.
- LEE, Y., CHO, S., SEO, J.H., SHIN, B.K., KIM, H.K., KIM, I., KIM, A.,. Correlated expression of erbB-3 with hormone receptor expression and favorable clinical outcome in invasive ductal carcinomas of the breast. **American Journal of Clinical Pathology** 128, 1041–1049. 2007
- LOBO E SILVA, MAM, MANZAN RM, DORETTO JS, TAVARES ABMM, CAVALCANTI JN. Níveis de cálcio sérico de cadelas portadoras de tumor de mama. **Boletim Médico Veterinário**. UNIPINHAL-Espírito Santo do Pinhal - SP, v. 01, n. 01, jan./dez. 2005.
- LOCOPO, N., FANELLI, M., GASPARINI, G.,. Clinical significance of angiogenic factors in breast cancer. **Breast Cancer Research**. Treat. 52,159-173. 1998
- LONDON, C.A., SEGUIN B.,. Mast cell tumors in the dog. **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice**, 33, 473-489. 2003
- LUIZ, C. R., MIGLINO, M. A., SANTOS, T.C.. Segmentos anatômico-cirúrgicos arteriais da glândula mamária em cães (canis familiaris, Linnaeus, 1758). **Archives of Veterinary Science** v.7(1) 27-36. 2002
- LUONG, R. H.; BAER, K. E.; CRAFT, D.M.; ETTINGER, S. N.; SCASE, T. J.; BERGMAN, P. J. Prognostic Significance of Intratumoral Microvessel Density in Canine Soft-Tissue Sarcomas. **Veterinary Pathology**, v. 43, p. 622–631, 2006.
- LUSTOZA, M.D.; KOGIKA, M.M; LAZARETTI, P.; MIRANDOLA, R.M.S. Avaliação dos valores séricos de cálcio ionizado pelo método eletrodo íon seletivo em cães hígidos. **Arquivo Brasileirp de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.177-180, 2005.
- MACEWEN, E.G.. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. **Cancer and Metástases Review** 9(1),125-136. 1990
- MADEWELL, B.R. & THEILEN G.H.. Tumors of the mammary gland. **Veterinary Cancer Medicine Lea & Febiger**; p.327-341, 1987.
- MAGLENNON, G.A., MURPHY, S., ADAMS, V., MILLER, J., SMITH, K., BLUNDEN, A., SCASE T. J.. Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology** 6 (4), 268–274. 2008

- MAIOLINO, P., PAPPARELLA, S. RESTUCCI, B., DE VICO, G. 2001. Angiogenesis in Squamous Cell Carcinomas of Canine Skin: An Immunohistochemical and Quantitative Analysis. **Journal of Comparative Pathology**, 125, 117–121.
- MARTIN, L.F. Hypercalcemia and hypermagnesemia. **Vet.Clin.North.Am.; Small Anim. Pract.**, v. 28, n. 3, may, 1998. p. 565 – 585.
- MARTIN LG, VAN PELT DR, WINGFIELD WE. Magnesium and the critically ill patient. In: Kirk R, ed. **Kirk's Current Veterinary Therapy XII**. 12th ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders, 1995:128–131.
- MATIAS-GUIU X, PRAT J, YOUNG RH, et al. Human parathyroid hormone-related protein in ovarian small cell carcinoma: an immunohistochemical study. **Cancer** 1994; 73:1878-81.
- MATOS, A.J.F., BAPTISTA, C.S., GÄRTNER, M.F., RUTTEMAN, G.R. Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. **The Veterinary Journal**. 2012
- MATOS, A.J.F., LOPES, C., CARVALHEIRA, J., SANTOS, M., RUTTEMAN, G.R., GÄRTNER, F.. E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables. **Journal of Comparative Pathology** 134,182–189. 2006
- MATSUBARA, O.; TAN-LIU, N. S.; KENNEY, R. M.; AND MARK, E. J.: Inflammatory pseudotumors of the lung: progression from organizing pneumonia to fibrous histiocytoma or to plasma cell granuloma in 32 cases. **Human Pathology**, v.19: p.807-814, 1988.
- MATTHEWS, P; JONES J. Clinical implications of telomerase detection. **Histopathology** 2001;38:485-98.
- McLEAN R.M. Magnesium and its therapeutic uses: a review.. **The American Journal of Medicine**, 1994, v.96.
- McSHANE, L.M., ALTMAN, D.G., SAUERBREI, W., TAUBE, S.E., GION, M., CLARK, G.M. 2005. Reporting recommendations for tumour Marker prognostic studies (REMARK). **British Journal of Cancer** 93, 387–391.
- MERLO, D.F., ROSSI, L., PELLEGRINO, C., CEPPI M, CARDELLINO, U., CAPURRO, C., RATTO, A., SAMBUCCO, P.L., SESTITO, V., TANARA, G., BOCCHINI, V. 2008. Câncer incidence in pet dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. 22, 976-984.
- MEYER DJ, COLES EH, RICH LJ. Medicina de Laboratório **Veterinária. Interpretação e Diagnóstico**. São Paulo: Editorial Roca. 308p. 1995.
- MICHELL, A.R.. Longevity of british breeds of dogs and its relationships with sex, size, cardiovascular variables and disease. **Veterinary Record**, v.145(27), 625-629. 1999
- MILLANTA, F., CITI, S., DELLASANTA, D., PORCIANI, M., POLI, A. COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: correlation with clinicopathological features and prognostic markers. **Breast Cancer Research and Treatment** 98, 115–120. 2006

MISDORP, W. Histologic classification and further characterization of tumors in domestic animals. Review. **Adv Veterinary Science Comp Medicine**. 20, 191-221. 1976

MISDORP, W. Tumors of the Mammary Gland. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. Iowa: Editora Iowa State Press, 4^o ed., 2002, p. 575-606

MISDORP W. Veterinary cancer epidemiology. **Vet. Quart.**; 18: 32-36. 1996.

MISDORP, W.; HART AA. Prognostic factors in canine mammary cancer. **Journal of the National Cancer Institute**; 56 (4): 779-786. 1976.

MONTEIROS, A. E. de los; MILLÁN, M. Y.; RAMÍREZ, G. A.; ORDÁS, J.; REYMUNDO, C.; MULAS, J. M. de las. Expresion of maspin in mammary gland tumors of the dog. **Veterinary Pathology** v. 42, p.205 – 207, 2005.

MOORE, A. (2006). Advances in the treatment of mammary neoplasia. In M. Svoboda (Ed.), **Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association**, Prague, Czech Republic. Czech Republic: World Small Animal Veterinary Association.

MORJELLO, K. A.; ROSENTHAL, R. C. Clinicaí approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 20(4):1163-1191, 1990.

MORRIS, J.S., DOBSON, J.M., BOSTOCK, D.E., O'FARRELL, E.. Effect of ovariectomy in bitches with mammary neoplasms. **Veterinary Record**, 142, 656-658. 1998

MORRIS, J.S., NIXON, C., KING, O.J., MORGAN, I.M., PHILBEY, A.W.. Expression of TopBP1 in canine mammary neoplasia in relation to histological type, Ki67, Era and p53. **The Veterinary Journal** 179, 422–429. 2009

MOULTON, J. E. Tumors of the mammary gland. In: MOULTON, J.E. **Tumors in domestic animals**. Berkley: University of California, 3^a ed., 1990, p.518 – 552.

MOULTON, J.E., TAYLOR, D.O.N., DORN, C.R., ANDERSEN, A.C.. Canine mammary tumor. **Pathology Veterinary** 7(4), 289-320,. 1970

MULLIGAN, R.M. Mammary cancer in the dog: a study of 120 cases. **American Journal of Veterinary Research**. 36(9), 1391-6. 1975

MUTO, T.; WAKUI, S.; TAKAHASHI, H.; MAEKAWA, S.; MASAOKA, T.; USHIGOME, S.; FURUSATO, M. P53 gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumor of the dog. **Veterinary Pathology**, Washington, 37: 248-243, 2000.

NARITA, M., NAKAO, K., NAKAHARA, M., ONISHI, A., TSUJIMOTO, M.. Independente prognostic factors in breast cancer patients. **American Journal of Surgery**, 175 (1), 73-75. 1998

NERURKAR VR, CHITALE AR, JALNAPURKAR BV, NAIK SN, LALITHA VS. Comparative pathology of canine mammary tumors. **Journal Comparative Pathology**; v.101, p. 388-397, 1989.

NIELSEN, S.W.; COLE, C. R. Cutaneous epithelial neoplasm of the dog: a report of 153 cases. **Amerinan. Journal of Veterinary Research**, v.21, p. 931-948,1960.

NIETO, A., PENA, L., PEREZ-ALENZA, D., DELCASTILLO, N., TABANERA, E., CASTANO, M., PENA, L. BRCA1 expression in canine mammary dysplasia and tumours: relationship with prognostic variables. **Journal of Comparative Pathology** 128, 260–268. 2003

NOWAK M., MADEJ J.A., DZIEGIEL P. & KANZAWA H.. Immuno-histochemical identification method of tumour cells in the S phase of mitotic cycle and its usefulness in diagnostics of mammary gland adenocarcinomas in bitches. **Pol. Journal Veterinary Science**. 9(1), 57-62. 2006.

OHASHI, E., MIYAJIMA, N., NAKAGAWA, T., TAKAHASHI, T., KAGECHIKA, H., MOCHIZUKI, M., NISHIMURA, R., SASAKI, N. Retinoids induce growth inhibition and apoptosis in mast cell tumor cell lines. **Journal of Veterinary Medical Science**, 68 (8), 797-802. 2006

OKAMURA, Y.; HARAGUCHI, T.; MORIMOTO, M.; OKURA, M.; UNE, S.; NAKAICHI, M.; TAURA, Y. Expression of a tumor-associated antigen, RCAS1, in canine mammary tumors. **Journal of Veterinary Medical Science** v. 66, p.651-658, 2004.

O'KEEFE, D.A. Sistema reprodutivo. In: ETTINGER, S. J. & FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Editora Manole LTDA, 4ª ed., 1997, p.2348 – 2351

OLIVEIRA, E. C. S., MARQUES JÚNIOR, A. P., NEVES, M. M. A.. Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela – revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, 8(1), 1-12. 2003

OLOVNIKOV AM. A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. **Journal Theor. Biology**. 41: 181-190. 1973

OWEN, L.N. The TNM Classification of Tumors in Domestic Animals. 1st Ed., **Word Health Organization**, Geneva, p. 26-32, 1980.

PARODI, A.L. Les elements du pronostic des cancers mammaires de la chienne. **Pratique Médical et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie**, 18 (2), 31-36. 1983.

PATRONEK, G.J., WATERS, D.J., GLICKMAN, L.T., 1997. Comparative longevity of pet dogs and humans: implications for gerontology research. **Journal of Gerontology A Biol Sci Medicine Science**. 52(3)171-8.

PASTERNAK K., PRZYSZLAK W.: Magnesium in stomach cancer. **Magnesium Research**, 12, 139-143, 1999

PEDERSEN, K.B., NESLAND, J.M., MAELANDSMO, G.M. Expression of S100A4, E-cadherin, and catenin in breast cancer biopsies. **British Journal of Cancer** 87, 1281-1286. 2002

PELETEIRO, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 89, n. 509, p. 10. 29, 1994.

PEÑA, L.L., NIETO, A.I., PEREZ-ALENZA, D., CUESTA, P. & CASTANO, M. Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathologic variables. **Journal Veterinary. Diagnosis. Invest.** 10(3), 237-246. 1998

PEREIRA, F.M.; FERREIRA, E.; LEITÃO, D.R.A.; CASSALI, G.D. Double-staining immunohistochemistry of canine mammary neoplasms. Communication. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.681-684, 2006.

PERERA, F. P., WEINSTEIN, I.B. 2000. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. **Carcinogenesis**, Oxford 21, 517-24.

PEREZ-ALENZA, M.D., PEÑA, L., DEL CASTILLO, N., NIETO, A.I. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice** v. 41, p. 287–291, 2000.

PEREZ ALENZA, M.D.; PEÑA, L.; NIETO, A.I.; CASTAÑO, M. Clinical and pathological prognostic factors in canine mammary tumors. **Annali dell Istituto Superiore di Sanita**, v.33, n.4, p.581-585, 1997.

PEREZ ALENZA, M.D., PEÑA, L., DEL CASTILHO, N., NIETO, A.L.. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. **Small Animal Practice** 41(10), 476. 2000

PEREZ ALENZA, M.D., RUTTEMAN, G. R., PEÑA, L., BEYNEN, A. C., CUESTA, P. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence 12(3), 132-9. 1998

PÉREZ ALENZA, .M.D., TABANERA, E., PEÑA, L. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg 219(15), 1110 –1114. 2001

PHILIBERT, J.C.; SNYDER, P.W.; GLICKMAN, N.; GLICKMAN, L.T.; KNAPP, D.W.; WATERS, D.J. Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 17:102-106, 2003.

PIRES, M. DOS A.; TRAVASSOS, F. S; PIRES, I. Neoplasias em canídeos - Um estudo descritivo de 6 anos, **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, p.111-118, 2003.

PROSCHOWSKY, H.F., RUGBJERG, H., ERSBOLL, A. K. Mortality of purebred and mixedbreed dogs in Denmark. **Preventive Veterinary Medicine** 58 (2), 63-74. 2003

QUEIROGA, F.; LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.97, p.2119-2127, 2002.

QUEIROGA, F.L., ALVES, A., PIRES, I., LOPES, C. Expression of Cox-1 and Cox-2 in canine mammary tumours. **Journal of Comparative Pathology**. V. 136, p. 177–185, 2007.

QUEIROGA, F. L., PÉREZ-ALENZA, M. D., SILVAN, G., PEÑA, L., LOPES, C., ILLERA, J. C.. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford 94, 181-187. 2005a

QUEIROGA, F.L., PEREZ-ALENZA, M.D., SILVAN, G., PEÑA, L., LOPES, C., ILLERA, J.C.. Cox-2 levels in canine mammary tumors, including inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological features and prognostic significance. **Anticancer Research** 25, 4269–4275. 2005b

- QUEIROGA , F.L., PIRES, I., LOBO,L., LOPES, C. S.. The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours. **Research in Veterinary Science** 88, 441–445. 2010
- RANADE SS, PANDAY VK. Major metals in human cancer: calcium, magnesium, sodium and potassium. **Science Total Environment**. 1985; 41: 79-89.
- REINHART RA. Magnesium metabolism: a review with special reference to the relationship between intracellular content and serum levels. **Archive of Internal Medicine** 1988;148:2415–2420.
- REIS-FILHO, J.S., SIMPSON, P.T., MARTINS, A., PRETO, A., GÄRTNER, F, SCHMITT, F.C.. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin 14 in 51 normal and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. **Archives**. 443,122-132. 2003
- RESTUCCI, B., DE VICO, G., MAIOLINO, P.. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, 37, 297–301. 2000
- RHYU MS. Telomeres, telomerase, and immortality. **Journal Natl Cancer Inst**; 87: 884-894 1995
- ROODMAN GD. Mechanisms of Bone Metastasis. **N Engl Journal Medicine** 2004; 350: 1655-1664.
- ROSS, J.S., FLETCHER, J.A.,. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. **The Oncologist** 3, 237–252. 1998
- RUAUX, C.. A clinical approach to canine and feline neoplasia. **Australian Veterinary Practitioner**, 23 (1), 44-52. 1993
- RUNGSIPAT, A., TATEYAMA, S., YAMAGUCHI, R., UCHIDA, K., MIYOSHI, N., HAYASHI, T.. Immunohistochemical analysis of c-yes and c-erbB2 oncogene products and p53 tumor suppressor protein in canine mammary tumours. **Journal of Veterinary Medical Science** 61, 27–32. 1999
- RUTTEMAN, G. R., & KIRPENSTEIJN, J. 2003. Tumours of the mammary glands. In J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology** (2nd ed., pp. 234-242). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- SAENZ, N.C., HESLIN, M.J., ADSAY, V., LEWIS, J.J., LEUNG, D.H., LAQUAGLIA, M.P., BRENNAN, M.F.. Neovascularity and Clinical Outcome in High-Grade Extremity Soft Tissue Sarcomas. **Annals of Surgical Oncology**, 5 (1), 48-53. 1998
- SANTOS, A., LOPES, C., MARQUES, R.M., AMORIM, I., RIBEIRO, J., FRIAS, C., VICENTE, C., GÄRTNER, F., DE MATOS, A.. Immunohistochemical analysis of urokinase plasminogen activator and its prognostic value in canine mammary tumours. **Veterinary Journal**. 189 (1), 43-8. 2011
- SANYEEV K., GUPTA K., VIJAY K., MADHO P.: Serum and tissue. Trace elements in colorectal cancer. **Journal Surgical Oncology**, 52, 172-175, 1993.
- SARIS N-EL, MERVAALA E, KARPPANEN H, KHAWAJA JA, LEWENSTAM A. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. **Clinical Chim Acta**; 294:1–26. 2000

SCANLAN BJ, TUFT B, ELFREY JE, SMITH A, ZHAO A, MORIMOTO M, ET al. Intestinal inflammation caused by magnesium deficiency alters basal and oxidative stress-induced intestinal function. **Mol Cell Biochem** 2007, 306(1-2):59-69, DOI: 10.1007/s11010-007-9554-y

SCASE, T., EDWARDS, D., MILLER, J., HENLEY, W., SMITH, K., BLUNDEN, A.; MURPHY S. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 20, 151–158. 2006.

SCHNEIDER, R. Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer, **Cancer**, 26(2), 419-426. 1970

SCHNEIDER, R., DORN, C.R., TAYLOR, D.O.N.. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **Journal Natl Cancer Instute** 43, 1249–126. 1969

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Muller & Kirk - Dermatologia dos pequenos animais**. 6. ed. Philadelphia : Saunders Company, 2001. 1528 p.

SEGERSTROM, S.C. & MILLER, G.E.. Psychological Stress and the Human Immune System: A MetaAnalytic Study of 30 Years of Inquiry. **Psychol Bull.** 130(4), 601–630. 2004

SELTZER, M.H.; ROSATO, F.E.; FLETCHER, M.J. Serum and tissue magnesium levels in human breast carcinoma. **Journal of Surgical Research** Volume 10, Issue 4, p.159-162, 1970.

SHARIFI, N. Commentary: Antioxidants for Cancer: New Tricks for na Old Dog? **The Oncologist**, vol 14, p.213–215, 2009.

SHARMA, S., SHARMA, M.C., SARKAR, C.. Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprognostic perspective and significance of neoangiogenesis. **Histopathology** 46, 481–489. 2005

SHAY JW, WERBIN H, WRIGHT WE. You haven't heard the end of it: telomere loss may link human aging with cancer. **Can Journal Aging**; v.14:p. 511-524. 1995

SHEEN-CHEN, S.M., CHEN, W.J., ENG, H.L., CHO, F.F.. Serum concentration of tumor necrosis factor in patients with breast cancer **Breast Cancer Research and Treatment**. 43(3), 211–215. 1997

SILVA, A.E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio dependentes. **Ciência Rural**, 34(2):625-633, 2004.

SIMON, D.; KNEBEL, J. W.; BAUMGÄRTNER, W.; AUFDERHEIDE, M.; MEYER-LINDENBERG, A.; NOLTE, I. In vitro efficacy of chemotherapeutics as determined by 50% inhibitory concentrations in cell cultures of mammary gland tumors obtained from dogs. **American Journal of Veterinary Research** v. 62, p. 1825 - 1830, 2001

SONNENSCHN, E. G., GLICKMAN L. T., GOLDSCHMIDT, M. H., MCKEE, L. J..Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, 133 (7), 694-703. 1991

SONTAS, B.H.; OZYOGURTCU, H.; GUREL, A.; EKICI, H. Evaluation of clinical and pathological characteristics of 155 canines with mammary tumours: a retrospective study. **Archivos de Medicina Veterinaria**,41:53-59, 2009.

- SORENMO, K. An update on canine mammary gland tumors. Proc. 16th **Acvim Forum**, 387-388. 1998
- SORENMO, K. Canine mammary gland tumours. **The Veterinary Clinics Small Animall Practice**, v.33, p.573-596, 2003.
- SOUTHBY J, KISSIN MW, DANKS JA, ILAYMAN JA, MOSELEY JM, HENDERSON MA, BENNETT RC, MARTIN TJ. Immunohistochemical Localization of Parathyroid Hormone-related Protein in Human Breast Cancer. **Cancer Research**; 50:7710-7716, 1990.
- SOUZA, V. T. F., Paraguassu, A. A., Moreira, E. L. T.. Ocorrência de neoplasias em caninos na cidade de Salvador, Bahia (achados de biopsias). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, 2 (2), 53-58. 2001
- STEWART AF. Hypercalcemia associated with cancer. **N Engl Journal Medicine**; v.352, p. 373-9. 2005.
- STRANDBERG, J.D.; GOODMAN, D.G. Animal model of breast cancer. **American Journal of Pathology**; 75 (1): 225-228. 1974.
- SUZUK Y, OKA K, OHNO T, KATO S, TSUJII H, NAKANO T. Prognostic Impact of Mitotic Índex of Proliferating Cell Population sin Cervical Cancer Patients Treated With Carbon Ion Beam. **CANCER**,v.1, 2009.
- TAKAHASHI T, OTANI I, OKUDA M, INOUE M, ITO K, SAKAI M, KOIE H, YAMAYA Y, WATARI T, SATO T, KANAYAMA K, TOKURIKI M. Malignant transformation of T-cell large granular lymphocyte leukemia in a dog. **Journal of Veterinary Medical Science**. Jun;69(6):677-81. 2007
- TAKAI E, YANO T, IGUCHI H, FUKUYAMA Y, YOKOYARNA H, ASOH H, ICHINOSE Y. Tumor-Induced Hypercalcemia and Parathyroid Hormone-Related Protein in Lung Carcinoma. **CANCER** 1996;78 (7).
- TANAKA, N. Tumor de mama: qual a melhor conduta? Boletim Informativo, São Paulo, ano VII, n.29, p.6-7, Jan/Mar, 2003. Disponível em <http://www.anclivepa-sp.org.br/rev-7-29-01.htm>.
- TANSY M.F., KENDALL M.F.: Mg and the gastrointestinal tract. **Magnesium Bull** 1981, 3, 55-66.
- TE VELDE, E.A., FRANKE, A.C., VAN HILLEGERSBERG, R., ELSHOF, S.M., DE WEGER, R.W., BOREL RINKES, I.H., VAN DIEST, P.J.. HER-family gene amplification and expression in resected pancreatic cancer. **European Journal Surgical Oncology**. 35 (10), 1098-104. 2009
- THOMSON, R. G. **Patologia geral veterinária**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1983. p. 251-286
- TOROSIAN MH, DALY JM. Nutritional Support in the Cancer-Bearing Host Effects On Host and Tumor. **Cancer** 1986; 58 (15):1915-1929
- TOI, M., INADA, K., SUZUKI, H., TOMINAGA, T.. Tumor angiogenesis in breast cancer: its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression. **Breast Cancer Research Treatment**. 36 (2), 193-204. 1995
- TURNER, H.E., ADRIAN L. HARRIS, SHLOMO MELMED, JOHN A. H. WASS. Angiogenesis in Endocrine Tumors. **Endocrine Reviews** 24 (5), 600–632. 2003

VAN DUURSEN, M.B., NIJMEIJER, S.M., DE MORREE, E.S., DE JONG, P.C., VAN DEN BERG, M. Genistein induces breast cancer-associated aromatase and stimulates estrogen-dependent tumor cell growth in in vitro breast cancer model. **Toxicology**. 289, 67-73. 2011

VAN'T VEER, L.J., DAI, H., VAN DE VIJVER, M.J., HE, Y.D., HART, A.A., MAO, M., PETERSE, H.L., VAN DER KOOY, K., MARTON, M.J., WITTEVEEN, A.T., SCHREIBER, G.J., KERKHOVEN, R.M., ROBERTS, C., LINSLEY, P.S., BERNARDS R., FRIEND S.H. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. **Nature** 415 (31), 530-536. 2002.

VIZOSO, F.J., GONZALEZ, L.O., CORTE, M.D., RODRIGUEZ, J.C., VAZQUEZ, J., LAMELAS, M.L., JUNQUERA, S., MERINO, A.M., GARCIA-MUNIZ, J.L. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in breast cancer. *Brasilian Journal Cancer*, 96, 903-911. 2007

WATSON J. Origin of concatemeric T7 DNA. **Nature New Biology**; 239:197-201. 1972

WEBSTER, J. D., DENNIS, M. M., DERVISIS, N., HELLER, J., BACON, N.J., BERGMAN, P. J., BIENZLE, D., CASSALI, G., CASTAGNARO, M., CULLEN, J., ESPLIN, D. G., PEÑA, L., GOLDSCHMIDT, M. H., HAHN, K. A., HENRY, C. J., HELLMÉN, E., KAMSTOCK, D., KIRPENSTEIJN, J., KITCHELL, B. E., AMORIM, R. L., LENZ, S. D., LIPSCOMB, T. P., MCENTEE, M., MCGILL, L. D., MCKNIGHT, C. A., MCMANUS, P. M., MOORE, A. S., MOORE, P. F., MOROFF, S. D., NAKAYAMA, H., NORTHRUP, N. C., SARLI, G., SCASE, T. , SORENMO, K., SCHULMAN, F. Y., SHOIEB, A. M., SMEDLEY, R. C., SPANGLER, W. L., TESKE, E., THAMM, D. H., VALLI, V. E., VERNAU, W. , VON EULER, H., WITHROW, S. J., WEISBRODE, S. E., YAGER, J., KIUPEL, M.. Recommended Guidelines for the Conduct and Evaluation of Prognostic Studies in Veterinary Oncology. **Veterinary Pathology** 48 (1), 7-18. 2011

WEIDNER, N. Intratumor Microvessel Density as a Prognostic Factor in Cancer. **American Journal of Pathology**, 147 (1), 9-19. 1995

WEIDNER, N. Tumoral vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. **Journal of Pathology** 184, 119-122. 1998

WEIDNER, N., SEMPLE, J.P., WELCH, W.R., FOLKMAN, J., Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. **N. Engl Journal Medicine** 324, 1-8. 1991

WEST, C.C., BROWN, N.J., MANGHAM, D.C., GRIMER, R.J., REED, M.W.R.. Microvessel density does not predict outcome in high grade soft tissue sarcoma. **European Journal of Surgical Oncology**., 31, 1198–1205. 2005

WHO/World Cancer Day. 2009. Cancer is a leading cause of death around the world. WHO estimates that 84 million people will die of cancer between 2005. [www.who.int/mediacentre/ events/.../world_cancer.../index.html](http://www.who.int/mediacentre/events/.../world_cancer.../index.html)

WILKINSON, G. T. & HARVEY, R. G. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais: guia para o diagnóstico**. 2. ed. São Paulo : Manole, 1996. 304 p.

WITHROW, S.J. Biopsy principles. WVII WSAVA Word Congress., Roma, 1992. Anais, p. 1221-26.

- WHITROW, S.J. Whay worry about cancer in pet animals? **IN:** Whitrow & MacEwwen, E. Gregory. **Small Animal Clinical Oncology**. 2a Ed. Sthephen J. Whitrou, 1996a
- WITHROW, S.J.; MacEWEN, E.G. Tumors of the mammary gland. **In:** WITHOW, S. J.; MacEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2nd ed., 1996, p.356-372
- WITHROW, S.J., SUSANECK, S.J. Tumors of the canine female reproductive tract. **In:** MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia : Saunders, 1986. p.521-523
- WITTON, C.J., REEVES, J.R., GOING, J.J., COOKE, T.G., BARTLETT, J.M. Expression of the HER1–4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer. **The Journal of Pathology** 200, 290–297. 2003
- YAGER, J. A. & SCOTT, D. W. The skin and appendages. **In:** JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C. & PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic, 1993. Cap. 5, p. 531-738.
- YAGER, J.A.; WILCOCK, B.P. **Color atlas and text of surgical pathology of the dog and cat: dermatopathology and skin tumors**. London: Wolfe, 1994. Cap.3, p.239-313.
- YAMAGAMI, T.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, K.; SUGIYAMA, M. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classifcation. **Journal Veterinary. Medicine Science**; 58 (11): 1079-1083. 1996
- YAMKA, R. M., HETZLER, B. M., HARMON, D. L. Evaluation of low-oligosaccharide, low-phytate whole soybeans and soybean meal in canine foods. **Journal of Animal Scienci**, 83, 393-399. 2005
- YAZAWA M, OKUDA M, SETOGUCHI A, IWABUCHI S, NISHIMURA R, SASAKI N, MASUDA K, OHNO K, TSUJIMOTO H. Telomere length and telomerase activity in canine mammary gland tumors. **American Journal Veretinary Research** 2001; 62:1539 – 1543.
- YOO, K., TAJIMA, K., PARK, S.K., KANG, D, KIM, S. U., HIROSE, T. T., MIURA, S.,. Postmenopausal obesity as a breast cancer riskfactor according to estrogen and progesterone receptor status (Japan). **Cancer Lett**, 167, 57-63. 2001.
- YOUNG, R.H.; OLIVA, E.; SCULLY, R.E. Small Cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. A clinicopathological analisis of 150 cases. **American Journal Surgery Pathology**, v 18 p. 1102-1116, 1994.
- YU, Z., CHEN, J., FORD, B.N., BRACKLEY, M.E., GLICKMAN, B.W. Environmental and Molecular Mutagenesis 33, 3-20. 1999
- ZAIDAN DAGLI, M.L. The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: a promising outlook. **The Veterinary Journal** 177, 3–5. 2008.
- ZÁRATE, A.N.R., 1996. Factores de Prognóstico en tumores mamários caninos: Fracção de crescimento tumoral (Ki-67 y PCNA), receptores de estradiol, características clínicas e histopatológicas. **Tese de Doutorado**, Universidade complutense de Madrid.

ZATLOUKAL, J., LORENZOVA, J., TICH, F., NECAS, A., KECOVA, H., KOHOUT, P. Breed and Age as Risk Factors for Canine Mammary Tumours. **Acta Veterinary. BRNO**, 74, 103-109. 2005.

ZIMMERMANN, K. C., GREEN, D. R. How cells die: Apoptosis pathways. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 108 (4), 99-103. 2001.

ZUCCARI, D.A.P.C., CASTRO, R., GELALETI, G.B., MANCINI, U.M.. Interleukin-8 expression associated with canine mammary tumors. **Genetics and Molecular Research** 10 (3), 1522-1532, 2011.

ZUCCARI, D.A.P.C.; PAVAM, M.V.; TERZIAN, A.C.B.; PEREIRA, R.S.; RUIZ, C.M.; ANDRADE, J.C. Immunohistochemical evaluation of e-cadherin, Ki-67 and PCNA in canine mammary neoplasias: Correlation of prognostic factors and clinical outcome. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 28(4):207-215, 2008.

ZUCCARI, D.A.P.C., SANTANA, A.E., CURY, P.M., CORDEIRO, J.A., Immunocytochemical study of Ki-67 as a prognostic marker in canine mammary neoplasia. **Veterinary Clinical Pathology**, 33 (1), 23-8. 2004.

ZUCCARI, D.A.P.C., SANTANA, A.E., ROCHA, N.S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, 38 (1), 38-41. 2001.