

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**HIPERCALCEMIA MALIGNA EM DIFERENTES TIPOS DE
NEOPLASIA MAMÁRIA CANINA**

Raquel Cunha Ribeiro
Orientador: Prof. Dr. Olízio Claudino da Silva

GOIÂNIA



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ Dissertação ☐ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Raquel Cunha Ribeiro** E-mail: **raquelvet@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: Sigla: **CAPES**

Título: **HIPERCALCEMIA MALIGNA EM DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIA MAMÁRIA CANINA** Palavras-chave: **epidemiologia, câncer mamário, síndrome paraneoplásica, Hiperparatireoidismo.**

Título em outra língua: **Hypercalcemia Malignancy in different types of canine mammary tumors**

Palavras-chave em outra língua: **epidemiology, breast cancer, hyperparathyroidism, paraneoplastic syndromes**

Área de concentração: **Patologia, Clínica e Cirurgia Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa)

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Prof. Dr. Olízio Claudino da Silva** E-mail: **olizio@vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **Profª. Drª. Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura** E-mail: **vdmoura@hotmail.com**

Co-orientador(2): **Prof. Dr. Adilson Donizete Damasceno** E-mail: **addamasceno@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização? ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinala as permissões:

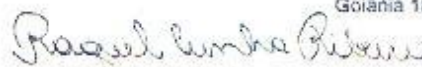
[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições.

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 18 de março de 2014


Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

RAQUEL CUNHA RIBEIRO

**HIPERCALCEMIA MALIGNA EM DIFERENTES TIPOS DE
NEOPLASIA MAMÁRIA CANINA**

Dissertação apresentada para obtenção
do título de Mestre em Ciência Animal
junto à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Goiás

Área de concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Orientador:

Prof. Dr. Olízio Claudino da Silva

Comitê de Orientação

Prof. Dr. Adilson Donizete Damasceno

Prof^a. Dr^a. Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura

GOIÂNIA

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)

Raquel, Cunha Ribeiro.

Hipercalcemia maligna em diferentes tipos de neoplasia mamária canina [manuscrito] / Raquel Cunha Ribeiro. - 2011.

xv, 66 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^o. Dr^o. Olízio Claudino da Silva; Co-orientadora: Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2011.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

Anexos.

RAQUEL CUNHA RIBEIRO

Dissertação defendida e aprovada em 06/05/2010, pela Banca
Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Otízio Claudino da Silva
(ORIENTADOR(A))



Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck – FCAV/UNESP/SP



Prof. Dr. Luiz Augusto Batista Brito

Dedico este trabalho, com todo amor, a meus pais, Miguel Fernandes e Maria Vilany, minha irmã, Danielle, pela compreensão e amor incondicionais, pelo apoio na conclusão de mais esta etapa da minha vida; e aos meus mestres, professores Olízio e Veridiana, pela amizade e contribuição para realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que compreendeu e supriu o desejo do meu coração em todos os momentos da minha vida, que me fez sonhar e realizar segundo a Sua vontade.

A meus pais, Miguel e Vilany, e minha irmã Danielle, pelo amor, cuidado constante e compreensão. Por nunca me deixarem sozinha mesmo estando longe, me apoiarem e serem meu porto seguro em tudo que tenho realizado. Vocês são exemplo, de estrutura familiar e sempre serei grata a todos.

Ao professor Olízio, por ter me aceitado como orientanda, e por sempre estar disponível a repassar parte de seu conhecimento, colocando em minhas mãos as ferramentas com as quais abrirei novos horizontes, rumo à satisfação dos ideais profissionais.

Aos Professores Adilson e Veridiana, meus co-orientadores pelo apoio e paciência.

A diretora do Hospital Veterinário, professora Naida Cristina Borges, por disponibilizar o mesmo para realização do experimento.

Meus sinceros agradecimentos à Residente Andria e à Veterinária Camila pela ajuda na execução e avaliação das radiografias.

Ao amigo Apóstolo Martins, pelo incentivo e motivação.

À Ivete Maria pela doação das lâminas de micrótomo.

Ao futuro Médico Veterinário Helton Freire, funcionário do Laboratório de Patologia Clínica do HV, pelo auxílio na realização dos hemogramas dos animais.

À dr^a. Regina Mara que com muita atenção me auxiliou na realização das mensurações de PTH.

Meus sinceros agradecimentos aos funcionários da Escola de Veterinária, Antônio, pela calma com que me auxiliou no processamento das amostras para exame histopatológico; Sheila e D. Carmita pela colaboração

dentro do centro cirúrgico; e ao Gerson por sempre me receber com atenção e paciência.

Ao funcionário do HV Edvalson pela motivação.

Aos proprietários, que disponibilizaram seus animais e seu tempo para participar da pesquisa.

Em especial, agradeço aos animais, pois sem eles esta pesquisa não seria possível.

Ao Programa de Pós-graduação da Escola de Veterinária da UFG por disponibilizar um ensino de qualidade para nossa formação.

Ao meu namorado Diogo Rafael, que mesmo à distância, me compreendeu por diversas vezes e não permitiu que me sentisse sozinha.

Finalmente, a todos meus amigos e amigas, Camila, Daniel, Éder, Suzane, Giorgia, Cláudia, Wanessa, Rodrigo e Saura, que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

O justo atenta para a vida dos seus animais.

Provérbios 12:10.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Síndromes paraneoplásicas	3
2.1.1 Hipercalcemia associada a câncer	3
3 OBJETIVOS.....	10
3.1 Objetivo Geral.....	10
3.2 Objetivos Específicos	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1 Local do experimento e animais.....	11
4.2 Histórico e exame clínico	11
4.3 Estadiamento clínico	12
4.4 Exames complementares	13
4.5 Exame citopatológico	14
4.6 Período pré-operatório.....	15
4.7 Procedimentos cirúrgicos.....	15
4.8 Exame histopatológico dos tumores mamários	16
4.9 Manejo pós-operatório	17
4.10 Avaliação estatística dos dados obtidos	18
4.10.1 Avaliação clínica.....	18
4.10.2 Frequência de hipercalcemia associada ao câncer.....	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1 Idade.....	19
5.2 Raça.....	20
5.3 Influência de hormônios endógenos.....	21
5.4 Administração de contraceptivos	21
5.5 Frequência de pseudociese.....	22
5.6 Alimentação	24
5.7 Localização tumoral.....	24
5.8 Mastectomia.....	25
5.9 Avaliação radiográfica.....	27

5.10 Classificação citopatológica das neoplasias.....	31
5.10 Classificação histopatológica das neoplasias e desenvolvimento de metástases	31
5.11 Hipercalcemia.....	34
CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
Anexo 1	48

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Estadiamento de tumores mamários caninos	13
QUADRO 2 - Classificação dos tumores mamários caninos segundo a Organização Mundial e Saúde (OMS).	17
QUADRO 3 - Classificação histopatológica, alterações radiográficas e outras alterações observadas em cadelas do grupo A e B	30

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Hipercalcemia associada à malignidade produzida por via humoral e parácrina. PTHrP produzido por tumores interagem com o receptor PTH/PTHrP no osso e no rim resultando em aumento dos níveis séricos de cálcio. Citocinas e PTHrP produzidos por metástases ósseas induzem osteólise local osteoclástica e liberação de cálcio. Fonte: CARMELIET et al. (2003)..... 6
- FIGURA 2 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a idade. Observa-se uma maior frequência entre 7 e doze anos de idade. 19
- FIGURA 3 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a raça. Observa-se uma maior frequência em animais da raça Poodle (30%). 20
- FIGURA 4 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a administração de medicamentos contraceptivos 22
- FIGURA 5 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo a frequência de pseudociese 23
- FIGURA 6 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a localização das mamas acometidas 25
- FIGURA 7 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a técnica cirúrgica utilizada..... 26
- FIGURA 8 – Radiografias torácicas de animais portadores de metástases pulmonares de câncer de mama. (A) Observam-se nódulos pulmonares esféricos, difusos, múltiplos, de tamanhos variados e com margens bem definidas. (B) Presença de nódulos pulmonares na entrada do tórax e no lobo pulmonar cranial 29
- FIGURA 9 - Tipos de neoplasia encontrados nas amostras coletadas das glândulas mamárias das cadelas do grupo A e grupo B 32
- FIGURA 10 - Tipos de neoplasia encontrados nas amostras coletadas das glândulas mamárias das cadelas do grupo A e grupo B 34

LISTA DE TABELA

TABELA 1 – Teste de Fisher para comparação de frequências de hipercalcemia em fêmeas caninas portadoras de câncer de mama em estagio clínico I (Grupo A) e em estágios IV e V (Grupo B).....	35
TABELA 2 – Teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$) para comparação de frequência de hipercalcemia em fêmeas caninas portadoras de câncer de mama em estagios clínicos IV e V (Grupo B).....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25 (OH) ₂ colecalfiferol	Calcitriol
AgNORs	Regiões Organizadoras Nucleolares Argirofílicas
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina amino-transferase
Ca	Carcinoma
CaSR	Receptor de cálcio
Ca ²⁺	Cálcio
COX-2	Cicloxygenase tipo 2
DRC	Doença renal crônica
EDTA	Ácido etilediaminotetracético
HE	Hematoxilina-eosina
HMM	Hipercalcemia humoral maligna
LLD	Látero-lateral direita
LLE	Látero-lateral esquerda
m _μ	Micrômetro
mg/dL	Miligramas por decilitro
mg/Kg	Miligramas por quilograma
mmol/L	Milimol por litro
OHL	Hipercalcemia osteolítica local
OSH	Ovariohisterectomia
pmol/L	Picomol por litro
pg/mL	Picogramas por mililitro
PTHrP	Peptídeo relacionado ao paratormônio
As	Sarcoma
TGF-α	Fator de crescimento transformante alfa
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
Tu	Tumor
VD	Ventrodorsal
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

RESUMO

A hipercalcemia maligna é uma das mais importantes e frequentes síndromes paraneoplásicas em pacientes humanos portadores de câncer, no entanto, a incidência dessas alterações ainda é desconhecida na Medicina Veterinária. Assim, objetivou-se com este estudo avaliar a ocorrência de hipercalcemia maligna em cadelas portadoras de diferentes tipos de câncer de mama, assim como associar estas alterações com o diagnóstico precoce (estágio clínico I) e tardio (estágio IV ou V) destas neoplasias. Para tal, utilizou-se 20 cadelas selecionadas a partir de exames clínico-laboratoriais e citologia aspirativa por agulha fina. As fêmeas caninas foram alocadas em dois grupos: Grupo A com oito animais em estágio inicial da doença (estadiamento clínico I) e Grupo B constituído de 12 cadelas em estágio avançado (estadiamento IV ou V). A avaliação clínico-laboratorial incluiu hemograma, dosagem de cálcio iônico e total, creatinina, albumina, fósforo, paratormônio, atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP) e alanina amino-transferase. (ALT). Posteriormente, realizou-se tratamento cirúrgico e colheita de material para exame histopatológico. Os dados obtidos a partir da avaliação clínica foram analisados por meio de tabelas de frequência e a comparação entre as proporções das variáveis entre os grupos pelo teste não-paramétrico de Fisher e dentro dos grupos pelo teste de Qui-Quadrado ($p < 0,05$). Observou-se maior frequência do diagnóstico de tumor de mama em cadelas não castradas entre dez e 12 anos de idade, nas glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais. Não houve diferença significativa ($p = 34,73\%$) ao comparar os grupos quanto à frequência de hipercalcemia, por meio do teste de Fisher. No grupo B, duas cadelas apresentaram hipercalcemia, sendo diagnosticado hiperparatireoidismo primário em ambas. No entanto, não houve diferença significativa na frequência de hipercalcemia, de acordo com o teste de Qui-quadrado ($P < 0,05\%$). Concluiu-se que a hipercalcemia associada ao câncer de mama é uma condição pouco frequente em fêmeas caninas. Contudo, sugere-se pesquisas científicas empregando-se um efetivo maior de animais a fim de correlacionar o desenvolvimento de câncer de mama e hipercalcemia maligna em fêmeas da espécie canina.

Palavras-chave: epidemiologia, câncer mamário, síndrome paraneoplásica, Hiperparatireoidismo.

ABSTRACT

Hypercalcemia is one of the most important and frequent signs of paraneoplastic syndrome in humans, however, the incidence of this abnormality is unknown in Veterinary Medicine. So, this study aimed to carry out clinical and pathological evaluations and verify the occurrence of hypercalcemia in female dogs with mammary gland cancer. Twenty animals were selected and allocated in two groups: A – eight animals in early stage (stage I); B – twelve animals in advanced stage (stage IV and V). First, the dog were submitted to routine physical examination and laboratory evaluation that included hemogram, total and ionized calcium, creatinine, albumin, phosphorus, parathyroid hormone, serum activity of alkaline phosphatase (ALP) and alanine aminotransferase (ALT). After, they were surgically treated and the removed tissue were sent for histologic evaluation. The data from clinical evaluation were analyzed using frequency tables and the comparison between the proportions of variables between groups were perfiermed by Fisher's test (nonparametric) and within groups by Chi-square test ($p < 0,05$). The frequency of mammary gland cancer was higher in uncastred female dogs with age between 10 and 12 years. Caudal abdominal and inguinal glands were the most affected. In relation to hypercalcemia frequency, there was not significant difference ($p = 34,73\%$) among the groups by Fisher's test. In group B, two dogs showed hypercalcemia and primary hyperparathyroidism was diagnosed in both animals. However, there was not significant difference in hypercalcemia frequency by Chi-square test ($p < 0,05\%$). Thus, it can be concluded that hypercalcemia associated with mammary gland cancer is an uncommon condition in female dogs. However, it is necessary more studies with larger number of animals for stablishment of a consistent correlation between the development of mammary cancer and hypercalcemia in female dogs.

Keywords: epidemiology, breast cancer, hyperparathyreodism, paraneoplastic syndromeb

1 INTRODUÇÃO

O crescente número de animais de companhia e a grande preocupação de seus proprietários em proporcionar-lhes bem-estar, têm levado médicos veterinários clínicos e cirurgiões a aperfeiçoar cada vez mais as técnicas de avaliação e tratamento das enfermidades. Quando se trata de pacientes portadores de câncer, o objetivo principal é estabelecer o tratamento adequado a fim de aumentar a sobrevida, proporcionando qualidade de vida para os animais e satisfação dos proprietários.

Enfoques recentes da importância das síndromes paraneoplásicas, como manifestações clínicas importantes na oncologia humana e animal, visam uma completa avaliação do paciente portador de câncer para a definição de um preciso diagnóstico e prognóstico, e promovem, com o tratamento adequado, redução da morbidade e mortalidade desses pacientes.

As síndromes paraneoplásicas representam um grupo heterogêneo de alterações clínicas associadas ao câncer, que decorrem de ações não-invasivas dos neoplasmas e sim da ação de peptídeos de efeitos sistêmicos sintetizados e secretados por células tumorais malignas (SELLON, 2008). A incidência dessas alterações ainda é desconhecida na Medicina Veterinária, mas aproximadamente 75% dos pacientes humanos com câncer apresentam algum distúrbio paraneoplásico durante a evolução da doença (RODIGHERI, 2008).

O diagnóstico de hipercalcemia maligna pode ser determinado em um estudo analítico rotineiro em pacientes que apresentam pouco ou nenhum sinal clínico ou quando cursa com níveis elevados, originando quadros de urgências oncológicas que necessitam de rápida intervenção médica. Porém, sua real incidência em pacientes veterinários ainda não foi satisfatoriamente estudada.

A presença de hipercalcemia maligna reflete um aumento da reabsorção óssea com liberação de cálcio para o meio extracelular (MUNDY, 2004), por secreção de fatores humorais que alteram a homeostase do cálcio

e sua ação em órgãos-alvo (osso, rins e intestinos), por fatores locais produzidos pelos tumores metastáticos ou hematológicos no osso, estimulando diretamente o osteoclasto, ou por um possível hiperparatireoidismo primário associado (MARTIN & KAYATH, 1999).

Mesmo após décadas de estudos e o desenvolvimento de diversos protocolos para diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer, a hipercalcemia maligna ocorre comumente, e pode ser fonte de considerável morbidade em seres humanos e animais. No âmbito da Medicina Veterinária, poucos estudos foram realizados com o intuito de se estabelecer o diagnóstico e tratamento dessa enfermidade. Desta forma, o estudo das síndromes paraneoplásicas, em especial da hipercalcemia maligna, constitui um campo promissor para realização de pesquisas científicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndromes paraneoplásicas

As síndromes paraneoplásicas representam um grupo heterogêneo de alterações clínicas associadas ao câncer, que decorrem de ações não-invasivas do mesmo. A incidência dessas alterações ainda é desconhecida na Medicina Veterinária, mas aproximadamente 75% dos pacientes humanos com câncer apresentam algum distúrbio paraneoplásico durante a evolução da doença (RODIGHERI, 2008).

2.1.1 Hipercalcemia associada a câncer

A hipercalcemia associada à malignidade é a mais frequente síndrome paraneoplásica endocrinológica, sendo que sua presença reflete um aumento da reabsorção óssea com liberação de cálcio para o meio extracelular (MUNDY, 2004). Em cães, está associado a diversos tipos de tumores como o linfoma, adenocarcinomas derivados de glândulas apócrinas do saco anal, adenomas de paratireóide, carcinomas mamários, adenocarcinoma nasal, carcinoma de células escamosas, mieloma múltiplo, timoma e tumores ósseos primários e secundários (FANTONI & CORTOPASSI, 2002; ROSENTHAL, 2004).

UEHLINGER et al. (1998) descreveram as principais causas de hipercalcemia em 46 cães. A causa mais comum foi a associada as malignidades como linfossarcoma, adenocarcinoma apócrino do saco anal, adenocarcinoma mamário, carcinoma indiferenciado e histiocitose maligna, em ordem decrescente de incidência. Razões não-neoplásicas de hipercalcemia foram hipoadrenocorticismismo, insuficiência renal aguda, insuficiência renal crônica, hipervitaminose D e hiperparatireoidismo primário.

MESSINGER et al (2009) relataram hipercalcemia em 109 cães, sendo as principais causas linfossarcoma, insuficiência renal, hiperparatireoidismo e hipoadrenocorticismo.

BAE (2007) diagnosticou hipercalcemia em uma cadela Dachshund, dez anos de idade, com carcinoma complexo de glândula mamária e sinais como poliúria, polidipsia, letargia e linfonodos mandibulares, axilares e poplíteos moderadamente aumentados de volume. Três semanas após a remoção cirúrgica das massas o cálcio apresentou concentração sérica normal.

Um estudo realizado por AZNAR (2001) demonstrou que de um total de 10.283 casos de neoplasias em humanos, 133 apresentaram hipercalcemia, representando incidência de 1,3%. Do total de casos, 2.136 eram portadores de tumor de mama, dos quais 73 desenvolveram hipercalcemia, totalizando 3,4% de incidência.

A hipercalcemia associada às malignidades pode ser classificada em hipercalcemia osteolítica local (HOL), hipercalcemia humoral maligna (HHM), hiperparatireoidismo ectópico e produção tumoral de $1,25(\text{OH})_2\text{colecálciferol}$ (KOOISTRA et al., 2009).

A HOL resulta de malignidades que geralmente cursam com metástases esqueléticas localizadas, caracterizada por um marcado aumento na reabsorção óssea osteoclástica, devido à invasão de células neoplásicas e por liberação de fatores estimulantes da atividade osteoclástica (STEWART, 2005). Em humanos, esses tumores podem ser primários como os osteossarcomas, ou metastáticos com grande infiltração óssea, como adenocarcinomas mamários e prostáticos, carcinoma de células escamosas, fibrossarcomas, linfomas e mielomas múltiplos (FARIAS, 2005).

O peptídeo relacionado ao paratormônio (PTHrP) é o principal ativador da osteólise local em torno das metástases ósseas, desempenhando função parácrina em alguns pacientes com HOL, podendo induzir hipercalcemia, especialmente em mulheres portadoras de carcinoma da mama, que exibe osteotropismo, uma propensão especial para crescer no

osso (Figura 1) (CARMELIET et al., 2003). Várias citocinas como a interleucina-6 (IL-6), IL-1 α , IL-1 β , fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o fator de crescimento transformador- α (TGF- α), também estimulam a absorção óssea osteoclástica, causando osteólise adjacente e resultando em liberação maciça de cálcio e diminuição de fosfato inorgânico no plasma, com consequente hipercalcemia (MARTIN & KAYATH, 1999; ROODMAN, 2001; YEN et al., 2004).

A hipercalcemia humoral maligna (HHM) refere-se a uma síndrome em que o tumor secreta fatores calcemiantes que são levados pela circulação aos órgãos-alvo: ossos, rins e intestinos (FARIAS, 2005). Corresponde a 80% dos casos de hipercalcemia associada às malignidades em humanos. (YEN et al., 2004). O PTHrP tem sido implicado na maioria dos casos de HHM causada por tumores sólidos (ROSOL, 1992). Produzido por esses tumores, interage com o receptor PTHrP/PTH no rim e osso, induz reabsorção óssea osteoclástica resultando em elevação dos níveis séricos da concentração de cálcio (CARMELIET et al., 2003). Nos rins, o excesso de PTHrP promove fosfatúria (com consequente hipofosfatemia) e aumento da taxa de reabsorção tubular de cálcio nos ductos coletores distais, consequentemente menor excreção fracionária de cálcio na urina, o que contribui para a hipercalcemia (Figura 1) (BAYNE & ILLIDGE, 2001).

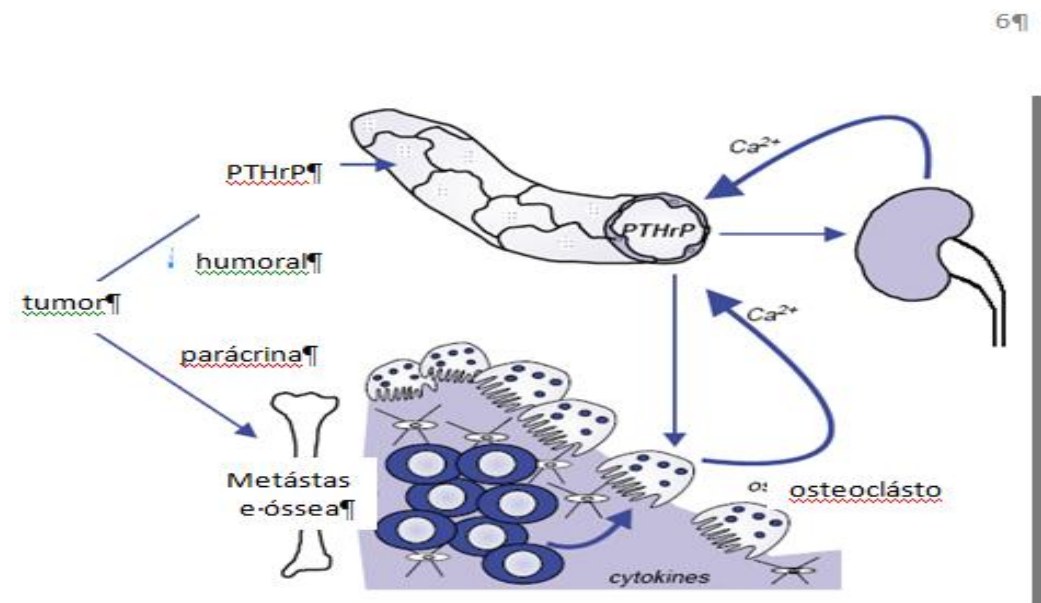


FIGURA 1 - Hipercalcemia associada à malignidade produzida por via humoral e parácrina. PTHrP produzido por tumores interagem com o receptor PTH/PTHrP no osso e no rim resultando em aumento dos níveis séricos de cálcio. Citocinas e PTHrP produzidos por metástases ósseas induzem osteólise local osteoclástica e liberação de cálcio. Fonte: CARMELIET et al. (2003)

O PTHrP é uma proteína essencial à vida expressa em diversos órgãos e tecidos. Os genes do PTH e do PTHrP possuem 70% de homologia na porção N-terminal. Assim, o PTHrP liga-se ao mesmo receptor que o PTH, o receptor PTHrP/PTH, exercendo as mesmas funções biológicas, com consequente hipercalcemia quando em excesso (MARTIN & KAYATH, 1999). O PTHrP é normalmente indetectável no plasma, mas níveis mensuráveis foram encontrados em até 100% dos pacientes com HHM. Em animais com hipercalcemia resultante da enxertia de tumores produtores de PTHrP, a perfusão de anticorpos contra PTHrP reverte a hipercalcemia e prolonga a sobrevivência, estabelecendo que o PTHrP é o principal fator etiológico da hipercalcemia (KUKREJA et al., 1988).

Em humanos, a hipercalcemia humoral maligna tem correlação com a localização do tumor, natureza histológica e presença de metástases

ósseas. Ainda que praticamente todos os pacientes portadores de tumores malignos possam apresentar níveis séricos elevados de cálcio, as neoplasias que se associam frequentemente com esse transtorno metabólico são os carcinomas de mama e pulmão, tumores renais, carcinomas de células escamosas (de cabeça e pescoço, esôfago, ovário e pulmão), mieloma múltiplo e tumores do aparelho digestivo (STEWART, 2005). HHM é caracterizada bioquimicamente por um elevado nível sérico de cálcio, baixos níveis de fósforo, níveis normais ou diminuídos de PTH e diminuição dos níveis de $1,25(\text{OH})_2$ colecalciferol (MARTIN & KAYATH., 1999).

Outro tipo de hipercalcemia ocorre quando células tumorais produzem $1,25(\text{OH})_2$ colecalciferol, que ocorre em alguns linfomas. Neste caso, é causada pela secreção da forma ativa da vitamina D, levando ao aumento da reabsorção óssea osteoclástica e da absorção de cálcio intestinal (FARIAS, 2005; STEWART, 2005).

Os sinais de hipercalcemia leve são de difícil reconhecimento por serem inespecíficos e, nos casos de neoplasias malignas, sempre devem ser pesquisados (FARIAS, 2005). Em cães, as alterações na função renal incluem incapacidade de concentrar urina, induzindo poliúria e polidipsia, devido à interferência com o hormônio antidiurético (ADH) nos túbulos coletores. Além disso, a hipercalcemia pode levar à vasoconstrição e à redução da filtração glomerular, além de calcificação dos túbulos renais e insuficiência renal. Ocorrem também alterações cardiovasculares como hipertensão, bradicardia, diminuição do segmento ST e do intervalo QT, arritmias e distúrbios da coagulação. Pode ser verificado diminuição da excitabilidade muscular, letargia e coma. Em relação ao trato gastrointestinal, verificam-se sinais como anorexia, náuseas, vômito, constipação e desidratação (FANTONI & CORTOPASSI, 2002).

O diagnóstico habitualmente baseia-se nos valores do cálcio total. Na presença de hipoalbuminemia é possível verificar níveis falsamente baixos e, nessas situações, o valor do cálcio deve ser corrigido, por meio da seguinte fórmula:

–

, portanto, é ocasionalmente valioso avaliar o cálcio iônico (BUSH, 2004). Se o nível de cálcio é elevado, uma avaliação mais aprofundada deve considerar não apenas mecanismos potencialmente relacionados ao câncer, mas também aqueles que provocam elevação do nível de cálcio não relacionados às malignidades (por exemplo, hiperparatireoidismo primário ou secundário, uso de diuréticos tiazídicos, doença granulomatosa, entre outras causas) (STEWART, 2005). A segunda etapa compreende a dosagem do PTH sérico, que estará suprimido na imensa maioria das hipercalcemias paraneoplásica (FARIAS, 2005) e elevado no hiperparatireoidismo, condição comumente diagnosticada concomitante ao câncer de mama em mulheres (STEWART, 2005).

Quanto ao tipo de neoplasia que o paciente apresenta, habitualmente não é necessário prosseguir com as dosagens laboratoriais para identificar a origem da hipercalcemia. Mas deve-se avaliar a função glomerular, excreção renal de cálcio e fósforo e a fosfatase alcalina. A dosagem da PTHrP circulante só é necessária quando a origem da hipercalcemia não pode ser definida a partir dos exames clínicos (FARIAS, 2005).

A hipercalcemia é a mais comum e séria complicação metabólica consequente de malignidade e pode ser fatal se não diagnosticada. Quando mal controlada, os sinais podem ser debilitantes, com severo impacto na qualidade de vida do paciente (BAYNE & ILLDGE, 2001). De acordo com FARIAS (2005), o quadro pode evoluir para falência renal, coma e morte. Assim, é fundamental reconhecer a hipercalcemia, conhecer sua fisiopatologia e instituir tratamento adequado.

O tratamento definitivo da hipercalcemia requer correção da causa subjacente. O tratamento de suporte inclui hidratação com solução salina, correção de anormalidades eletrolíticas associadas e restrição de cálcio na dieta. Cálcio sérico total acima de 14 mg/dL representa uma emergência médica associada a diversas complicações. Diuréticos como furosemida aumentam a excreção renal de cálcio, por elevar o sódio tubular. A

calcitonina, por inibir a reabsorção óssea osteoclástica e aumentar o *clearance* renal de cálcio, é mais efetiva nos casos de hipercalcemia associados ao aumento da reabsorção óssea. Os bloqueadores de canais de cálcio também podem ser úteis na reversão da cardiotoxicidade da hipercalcemia (FANTONI & CORTOPASSI, 2002).

Apesar da frequência de hipercalcemia maligna ter sido amplamente pesquisada em Medicina, e embora fêmeas caninas sirvam como modelos experimentais para o estudo patogenético do câncer mamário de mulheres, são escassos os dados na literatura que abordam essa condição paraneoplásica em Medicina Veterinária. Portanto, à luz da etiopatogenia dessa síndrome em humanos, elucidada na literatura consultada, acredita-se ser possível determinar a ocorrência de hipercalcemia associada ao câncer de mama em fêmeas caninas, reduzindo com o tratamento a possível morbidade relacionada a esta síndrome paraneoplásica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar a ocorrência de hipercalcemia maligna em cadelas portadoras de diferentes tipos de neoplasias mamárias, assim como associar estas alterações com o diagnóstico precoce (estágio clínico I) e tardio (estágio IV ou V) dessas neoplasias.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar estudo clínico epidemiológico de fêmeas caninas portadoras de câncer de mama com diagnóstico precoce (estágio clínico I) e tardio (estágios IV ou V) de neoplasia mamária.
- Avaliar condição clínica dos animais por meio do hemograma completo e dosagens de cálcio iônico, cálcio total, fósforo, creatinina, albumina e paratormônio (PTH) séricos, determinar atividade sérica da fosfatase alcalina (ALP) e alanina amino-trasferase (ALT) para o possível diagnóstico de hipercalcemia e de outras doenças concomitantes ao câncer de mama.
- Realizar exame citopatológico para identificação precoce do tipo histopatológico das neoplasias e alocação temporária das cadelas nos grupos experimentais.
- Realizar exame histopatológico dos tumores após a mastectomia, para confirmar o diagnóstico citológico e alocar definitivamente os animais nos grupos experimentais.
- Correlacionar o tipo histológico tumoral com o estadiamento clínico e com a ocorrência de hipercalcemia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento e animais

O experimento foi realizado no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, entre fevereiro e agosto de 2009. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Goiás (protocolo PRPPG- UFG nº 110/09), respeitando-se as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os proprietários foram informados sobre a pesquisa e da sua importância para os meios acadêmico, científico e profissional da Medicina Veterinária, sendo convidados a permitir a participação de seus animais. Caso aceitassem, deveriam assinar o termo de consentimento e adesão à pesquisa (Anexo 1).

Utilizaram-se 20 cadelas portadoras de neoplasia mamária maligna de acordo com a rotina do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, sem distinção quanto à raça, peso e tempo de evolução da doença. À ocasião da seleção 25 cadelas foram avaliadas e 20 foram selecionadas, adotando-se como critério de inclusão: animais portadores de neoplasia mamária maligna em estágio I, IV ou V, sem doenças concomitantes ao câncer e não estar sob influência de medicações que interfiram nos níveis séricos de cálcio.

4.2 Histórico e exame clínico

Seguindo recomendações de STEWART (2005), a avaliação das cadelas baseou-se na obtenção da resenha, histórico e exame clínico geral. Foram registrados dados que incluíram raça, idade, administração de

hormônios progestágenos, episódios de pseudociese, evolução da doença, velocidade de crescimento do tumor, enfermidades pregressas ou concomitantes como hiperparatireoidismo, hipoadrenocorticism e insuficiência renal, administração recente de medicamentos, como diuréticos tiazídicos e outros que pudessem comprometer a mensuração fidedigna dos níveis séricos de cálcio. Exame físico completo foi realizado em todas as cadelas com o objetivo de identificar outras alterações de saúde e avaliar a glândula mamária, por meio de palpação, a fim de descrever suas características macroscópicas, como tamanho, consistência, aderência à pele e outros tecidos adjacentes, sinais inflamatórios e úlceras, conforme recomendações de GOBELLO & CORRADA (2001).

4.3 Estadiamento clínico

O estadiamento clínico foi realizado de acordo com critérios descritos por RUTTEMAN et al. (2002) (Quadro 1).

Para a detecção de possíveis metástases pulmonares foram realizadas radiografias torácicas em três posições: ventrodorsal (VD), laterolateral esquerda (LLE) e laterolateral direita (LLD), conforme CANOLA & MEDEIROS (2009). A análise dos exames radiográficos dos animais estudados foi realizada seguindo protocolo previamente elaborado, que levou em consideração presença ou ausência de alterações nos pulmões, segundo classificação do padrão pulmonar (alveolar, intersticial, brônquico, vascular e misto), visualização de linfonodos mediastínicos, tamanho da silhueta cardíaca, possíveis alterações envolvendo espaço pleural e pleura. Avaliou-se ainda o arcabouço ósseo considerando presença ou ausência de osteólise e/ou proliferação em vértebras torácicas, costelas e esterno (FONSECA PINTO, 2003).

QUADRO 1 - Estadiamento de tumores mamários caninos

T: TUMOR PRIMÁRIO			
T1	< 3 cm de diâmetro		
T2	3-5 cm de diâmetro		
T3	>5 cm de diâmetro		
N: STATUS DO LINFONODO REGIONAL			
N0	sem metástase à avaliação citológica ou histológica		
N1	metástase presente à avaliação citológica ou histológica		
M: METÁSTASE A DISTANCIA			
M0	Sem metástase detectáveis à distância		
M1	Metástase detectáveis à distância		
AGRUPAMENTO EM ESTÁGIOS			
Estágio			
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
IV	Qualquer T	N1	M0
V	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: RUTTEMAN et al. (2002).

Ultrassonografia abdominal foi realizada para verificação de massas tumorais abdominais não palpáveis, visto que estas alteram o estadiamento clínico.

4.4 Exames complementares

Foram colhidos 5mL de sangue puncionados da veia jugular com seringa plástica estéril descartável de 5 mL, graduadas em um centímetro cúbico (1cm³) e agulha hipodérmica descartável 25x7. Dois mL foram acondicionados em tubos de vidro com EDTA a 10% para realização de hemograma e 3 mL depositados em tubo de vidro sem anticoagulante para

quantificação de cálcio sérico total, cálcio iônico, creatinina, albumina, proteínas totais, fósforo, paratormônio (PTH) e determinação da atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP) e alanina amino-transferase (ALT).

O hemograma completo foi realizado em aparelho automático para contagem de células sanguíneas, utilizando-se cartão de leitura para a espécie. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada em esfregaço sanguíneo corado pelo método de Rosenfeld.

Para a realização das provas bioquímicas e hormonal, após a retração do coágulo e obtenção do soro, os tubos foram centrifugados por seis minutos a 3000rpm. As análises bioquímicas no soro foram determinadas utilizando-se os reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa–MG–Brasil). Para a leitura das reações utilizou-se analisador bioquímico automático (espectrofotômetro), marca Bioplus®, modelo Bio-2000 IL-A. Os valores de cálcio iônico foram obtidos por análise automática por eletrodo seletivo, em aparelho da marca Rocher®, modelo AVL 9180. A determinação quantitativa do paratormônio intacto (PTH) foi obtida pelo método de imunensaio quimioluminescente por micropartículas, no sistema Architect *i*, utilizando-se reagente comercial (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., São Paulo-SP–Brasil) no analisador automático hormonal, marca Architect®, modelo i-2000.

4.5 Exame citopatológico

A colheita de material para o exame citopatológico foi realizada empregando-se a técnica de citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), seguindo a metodologia e a classificação citopatológica descrita por MEINKOTH et al. (2008) e ALLISON & MADDUX (2008), respectivamente.

4.6 Período pré-operatório

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos, as cadelas foram submetidas a jejum hídrico de oito horas e alimentar por 12 horas, tricotomia da região abdominal e medicação pré-anestésica com aplicação subcutânea ou intramuscular de cloridrato de tramadol e intramuscular de cloridrato de clorpromazina, nas doses de 2 mg/kg e 1 mg/kg, respectivamente. A indução anestésica foi realizada com *bolus* intravenoso de 5 mg/kg de propofol e manutenção com isoflurano a 1,5V% com fluxo de 30 ml/kg/min de oxigênio, em sistema de circuito semi-aberto, após intubação oro-traqueal.

4.7 Procedimentos cirúrgicos

Os animais portadores de aumento de volume de glândula mamária, selecionadas a partir do exame clínico, laboratorial e citológico, foram submetidas a tratamento cirúrgico, sendo, neste momento, colhidas amostras para exame histopatológico.

O tratamento cirúrgico incluiu mastectomia regional, unilateral ou bilateral em uma ou duas etapas. A seleção da técnica dependeu do tamanho do tumor, número de glândulas mamárias afetadas e sua localização, aderência com os tecidos anexos e o quadro clínico do paciente. A exérese do linfonodo inguinal foi sempre realizada quando a mastectomia envolvia glândulas mamárias abdominais e inguinais. Neste estudo, não se indicou linfadenectomia de gânglios axilares, visto que em nenhum dos casos houve aumento de volume desses linfonodos (SLATTER, 1998). Os animais foram acompanhados por um período pós-cirúrgico de 30 dias e encaminhados para quimioterapia.

4.8 Exame histopatológico dos tumores mamários

Amostras tumorais colhidas durante os procedimentos cirúrgicos foram submetidas ao exame histopatológico, para classificação e determinação da histogênese das neoplasias mamárias malignas (Quadro 2). Após a colheita, os fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10% e pH neutralizado em 7,2, durante 48 horas. Após este período foram mantidos em álcool 70% até o processamento para inclusão em parafina. Em seguida, cortes histológicos de 5m μ foram distendidos em lâminas histológicas, corados com hematoxilina e eosina (HE), analisados à microscopia óptica e classificados como descrito por MISDORP (2002).

Fêmeas que apresentaram diagnóstico histopatológico de neoplasmas mamários benignos foram excluídas da pesquisa, e aquelas com neoplasias malignas foram alocadas em dois grupos: Grupo (A) com oito animais em estágio inicial da doença (estadiamento clínico I) e Grupo (B) constituído de 12 fêmeas em estágio avançado (estadiamento IV ou V). Cada animal foi identificado com a letra correspondente ao grupo ao qual pertencia e numerados de 1 a 8, e 1 a 12, respectivamente.

QUADRO 2 - Classificação dos tumores mamários caninos segundo a Organização Mundial e Saúde (OMS).

1. TUMORES MALIGNOS		2. TUMORES BENIGNOS	
1.1	Carcinoma in situ	2.1	Adenoma
1.2	Carcinoma complexo	2.1.1	Adenoma simples
1.3	Carcinoma simples	2.1.2	Adenoma complexo
	1.3.1 Carcinoma túbulo-papilífero	2.1.3	Adenoma basalóide
	1.3.2 Carcinoma sólido	2.2	Fibroadenoma
	1.3.3 Carcinoma anaplásico	2.2.1	Fibroadenoma com baixa celularidade
1.4	Tipos especiais de carcinoma	2.2.2	Fibroadenoma com alta celularidade
	1.4.1 Carcinoma de células fusiformes	2.3	Tumor misto benigno
	1.4.2 Carcinoma de células escamosas	2.4	Papiloma ductal
	1.4.3 Carcinoma mucinoso	3. TUMORES SEM CLASSIFICAÇÃO	
	1.4.4 Carcinoma rico em lipídeos		
1.5	Sarcoma	4. HIPERPLASIAS/ DISPLASIAS MAMÁRIAS	
	1.5.1 Fibrossarcoma	4.1	Hiperplasia ductal
	1.5.2 Osteossarcoma	4.2	Hiperplasia lobular
	1.5.3 Outros sarcomas	4.2.1	Hiperplasia epitelial
1.6	Carcinossarcoma	4.2.2	Adenose
1.7	Carcinoma ou sarcoma em tumor benigno	4.3	Cistos
		4.4	Ectasia de ductos
		4.5	Fibrose local
		4.6	Ginecomastia

Fonte: MISDORP et al (1999)

4.9 Manejo pós-operatório

O pós-operatório constou de antibioticoterapia com administração via oral de cefalexina (30 mg/kg BID) durante sete dias, analgesia com tramadol (2 mg/Kg BID) durante três dias e curativos locais com solução salina a 0,9%, a cada 12 horas e clorexidina 1% tópico. Os animais foram

acompanhados clinicamente, retornando ao Hospital Veterinário no dia sete, 15, e 30 pós-operatórios.

4.10 Avaliação estatística dos dados obtidos

4.10.1 Avaliação clínica

Os dados obtidos a partir da anamnese e avaliação clínica foram analisados descritivamente (SAMPAIO, 1998).

4.10.2 Frequência de hipercalcemia associada ao câncer

A diferença na frequência de hipercalcemia associada ao câncer entre os animais dos grupos A e B foi comparada empregando-se o teste não paramétrico de Fisher e a frequência dentro dos grupos pelo teste de Qui-Quadrado ($P < 0,01$) utilizando-se procedimento PROC FREQ (SAMPAIO, 1998).

Todos os dados foram utilizados fazendo-se uso do programa computacional STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS, 2002).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Idade

A idade das 20 cadelas variou entre seis e 14 anos (Figura 2), com média de oito anos em ambos os grupos, sendo de nove anos no GRUPO A e 10 no GRUPO B. Esses dados corroboram a afirmação de ZATLOUKAL et al. (2005) o qual enfatizou a ocorrência de um pico de incidência de desenvolvimento de tumores mamários em fêmeas entre dez e 12 anos, com menor frequência em animais com idade superior.

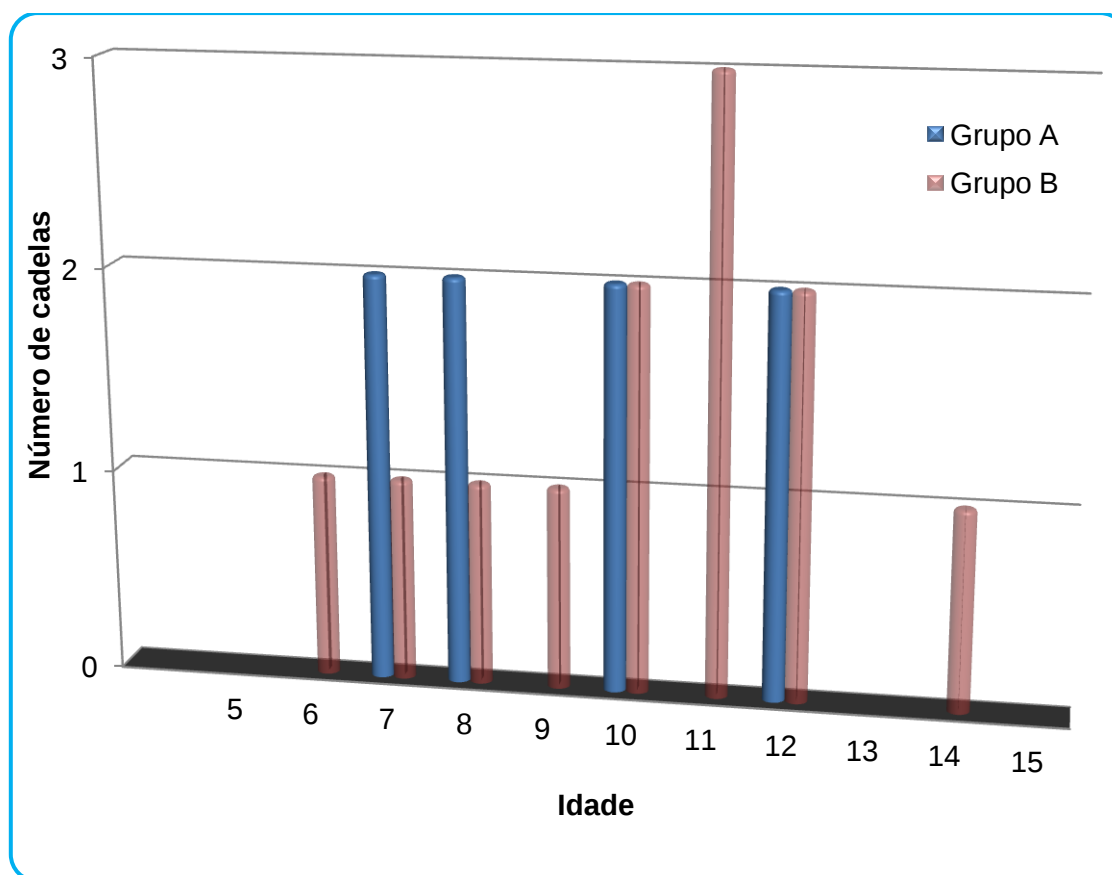


FIGURA 2 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a idade. Observa-se uma maior frequência entre 7 e doze anos de idade.

5.2 Raça

A figura 5 mostra as incidências das raças de cadelas acometidas por neoplasias mamárias. Observa-se uma maior frequência em animais da raça Poodle (30%), seguido dos sem raça definida (SRD) (15%), Dachshunds (10%), Filas (10%), Pintchers (10%). Estes resultados estão de acordo com dados epidemiológicos descritos por MISDORP (2002), RUTTEMAN et al., (2002) e FURIAN et al. (2007) que apontaram as raças Poodle e Dachshunds dentre as mais frequentemente acometidas, embora não tenha sido ainda comprovada predileção racial.

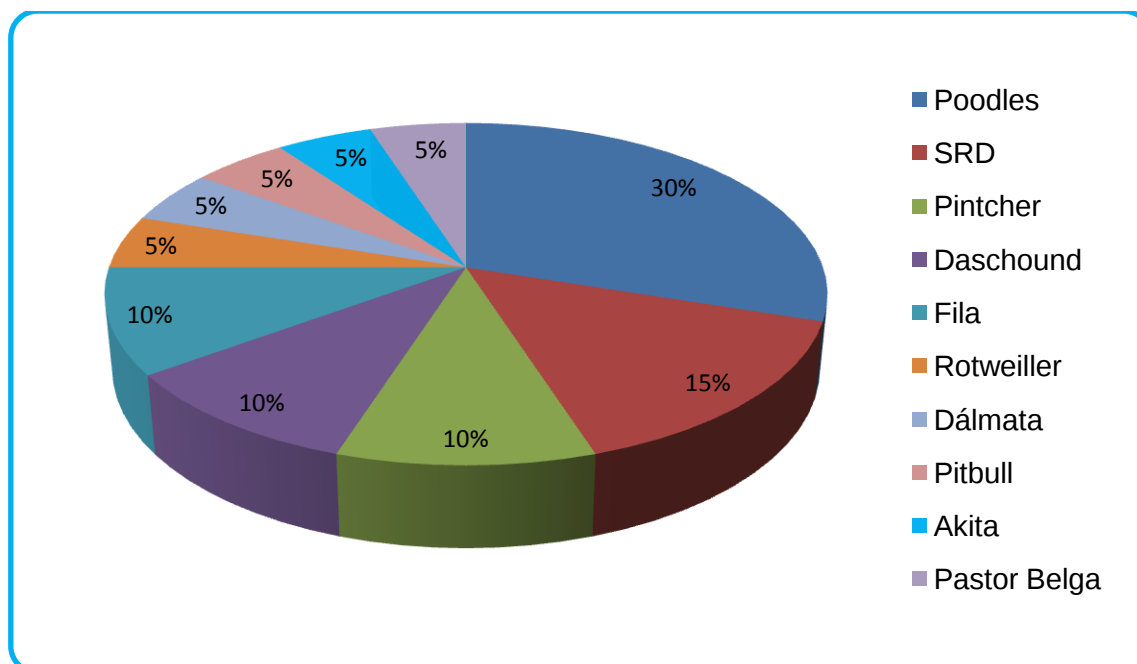


FIGURA 3 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a raça. Observa-se uma maior frequência em animais da raça Poodle (30%).

5.3 Influência de hormônios endógenos

Nenhuma das cadelas tinha sido submetida à ovariectomia previamente à anamnese, e esse procedimento também não foi realizado durante o tratamento cirúrgico do câncer. Segundo ITOH et al. (2004), cadelas não submetidas à OSH precoce constituem um grupo de risco para o desenvolvimento de tumores mamários, em virtude da sua exposição por longo período aos efeitos dos hormônios endógenos. Acrescente-se que, para RUTTEMAN et al. (2002), os benefícios dessa conduta controversos após os dois anos e meio de idade ou quando realizada concomitante à mastectomia. Contudo, MANEE-IN et al. (2009) contestaram essa última afirmação ao concluírem que a ovariectomia realizada simultaneamente com a remoção do tumor, poderia ser útil para eliminar o efeito dos hormônios esteroidais ovarianos na expressão dos receptores de estrógeno e progesterona nas glândulas mamárias remanescentes, já que a regulação desses receptores é semelhante no tecido normal e neoplásico na mesma cadela.

5.4 Administração de contraceptivos

De acordo com informações dos proprietários dos animais desta pesquisa, apenas quatro (20%) fêmeas recebiam administração de progestágenos contraceptivos, 12 (60%) não faziam uso desses produtos e quatro (20%) proprietários não souberam informar a este respeito (Figura 4). Acredita-se que a frequência de animais que recebiam esses medicamentos tenha ocorrido em virtude da seleção apenas de cadelas portadoras de tumores malignos, e, que nestes casos, outros fatores de risco, principalmente hormonais, possam ter influenciado na etiologia desses tumores MISDORP (2002).

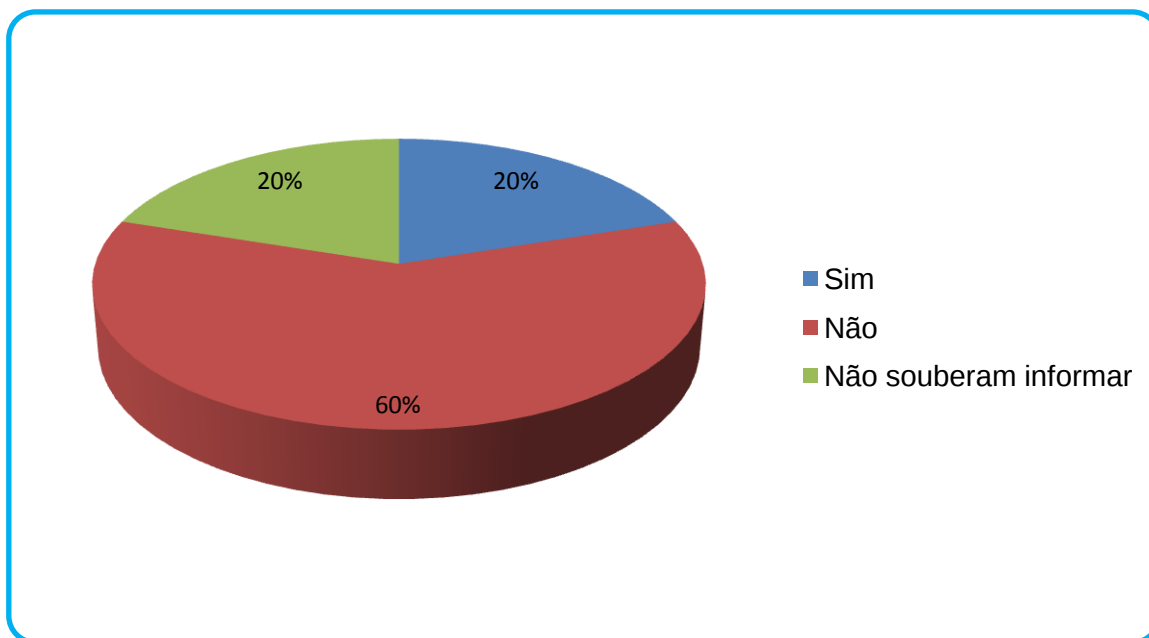


FIGURA 4 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a administração de medicamentos contraceptivos

5.5 Frequência de pseudociese

Sinais clínicos de pseudociese foram observados pelos proprietários em nove (45%) animais, seis (30%) nunca haviam apresentado e cinco (25%) dos respectivos proprietários não souberam informar sobre esta manifestação clínica (Figura 5). Os sinais clínicos citados pelos proprietários à anamnese incluíram aumento de volume das glândulas mamárias, secreção láctea, alteração do comportamento e presença de extinto materno. Corroborando esses dados, GOBELLO et al. (2001) relataram que a pseudogestação é caracterizada por sinais clínicos e mimetização do comportamento pré, peri e pós-parto. TSUTSUI et al. (2007) descreveram que estes sinais são evidenciados $71,4 \pm 1,6$ dias após o início do proestro, estando sua etiologia relacionada ao aumento dos níveis séricos de prolactina, aumento na sensibilidade à prolactina específica ou em resposta a um recente declínio nas concentrações de progesterona. Com relação à influência da prolactina no desenvolvimento de tumores mamários, KOJIMA et

al. (1996) e SILVA et al. (2004) afirmaram que o risco é essencialmente determinado pela intensidade e duração da exposição do epitélio mamário à ação conjunta da prolactina e do estrógeno, apesar de que não deve ser descartada a possibilidade da prolactina sozinha estimular a atividade mitótica das células do epitélio mamário. Embora a prolactina possa atuar ou mediar proliferação celular, ZATLOUKAL et al. (2005) contestaram essa hipótese ao afirmarem que não há evidências conclusivas de que a pseudociese possa contribuir na patogênese do câncer mamário.

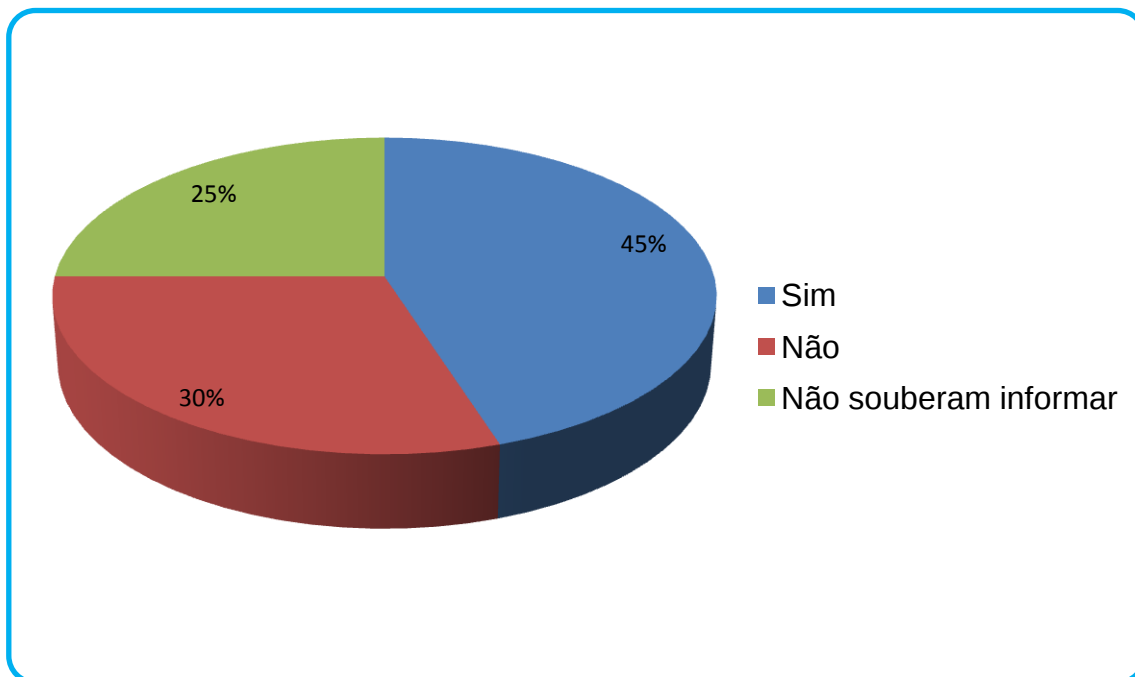


FIGURA 5 - Distribuição da incidência de neoplasias mamárias em cadelas de acordo a frequência de pseudociese

5.6 Alimentação

Com relação à alimentação, de acordo com os proprietários, 11 (55%) cadelas se alimentavam exclusivamente de dieta comercial e nove (45%) de ração e alimentos como arroz, feijão, carne, legumes e frutas. Apesar de ter sido encontrada pouca diferença na frequência de câncer de mama em cadelas que se alimentavam exclusivamente de dieta comercial ou não, de acordo com SONNENSCHNEIN et al. (1991) e ZATLOUKAL et al., (2005), o desenvolvimento de tumores mamários apresentam associação positiva com a alta ingestão de carnes bovinas e suínas.

5.7 Localização tumoral

De um total de 50 tumores diagnosticados nos 20 animais deste estudo, 15 (30%) estavam localizados nas glândulas mamárias inguinais e 14 (28%) nas abdominais caudais (Figura 6). Este achado corrobora as afirmações de STRATMANN (2008) de que a maior parte dos tumores iniciais se desenvolve nessas mamas e, conforme PELETEIRO (1994), RUTTEMAN et al. (2002) e BERGMAN, (2004), possivelmente, por apresentarem parênquima mais desenvolvido e, conseqüentemente, mais exposto à ação hormonal que as outras glândulas mamárias.

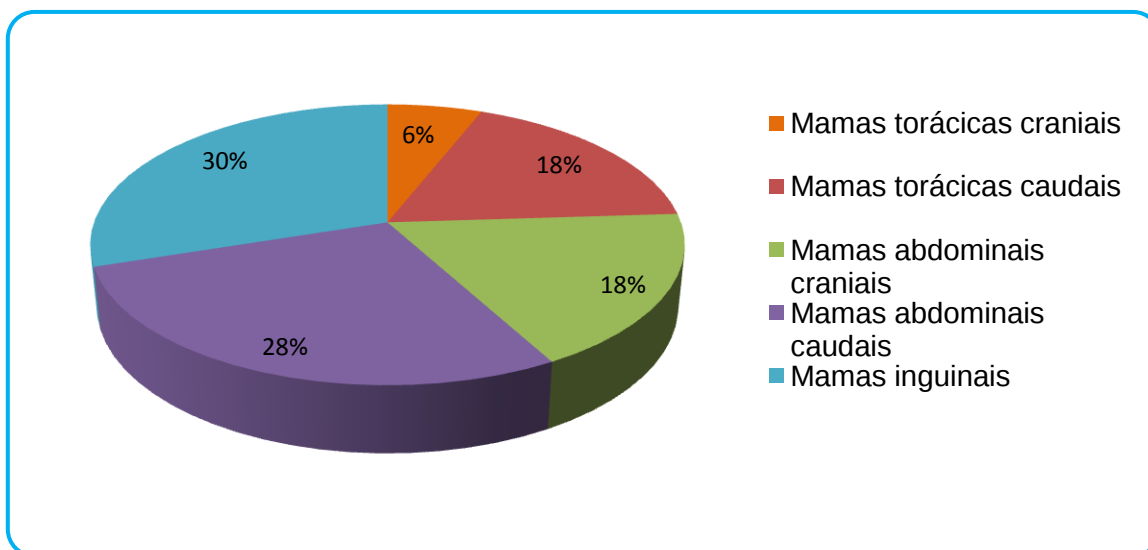


FIGURA 6 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a localização das mamas acometidas

5.8 Mastectomia

Nas cadelas submetidas a esse procedimento removeu-se o número de glândulas e os linfonodos drenantes de acordo com a drenagem linfática, admitindo que os três pares de mamas craniais sejam drenadas principalmente para o linfonodo axilar e os dois pares caudais para o linfonodo inguinal superficial, drenagem esta citada por STRATMANN et al. (2008) e PEREIRA (2005) como a mais frequente na cadela. O procedimento cirúrgico mais utilizado foi a mastectomia regional, em nove (47%) cadelas, seguida por mastectomia total bilateral e unilateral, ambas realizadas em quatro fêmeas (21%) (Figura 7). Objetivou-se com a mastectomia regional remover duas ou mais glândulas mamárias em bloco concomitante ao linfonodo drenante, e, com a mastectomia total, a ablação de uma ou ambas as cadeias mamárias com o respectivo linfonodo drenante.

Em todos os casos houve indicação cirúrgica de extirpação do linfonodo inguinal superficial ipsilateral à lesão, em função da localização tumoral ou pelo desenvolvimento de múltiplos tumores na mesma cadeia mamária. Em nenhum dos casos foi realizado o esvaziamento dos linfonodos

axilares, pois de acordo com PINHEIRO et al. (2003), esse procedimento está relacionado a uma série de complicações que influenciam sobremaneira na qualidade de vida das pacientes, como seroma, linfedema, distúrbios locais de sensibilidade, maior permanência hospitalar e dor crônica, sendo esse realizado quando for confirmada a presença de infiltração de células neoplásicas por meio de citologia aspirativa,.

De um total de 18 (20%) das fêmeas caninas submetidas à mastectomia, nenhuma apresentou intercorrência na cicatrização da ferida cirúrgica, o que está de acordo com PAPAOGLOU et al. (2006) ao referirem que a eliminação do espaço morto e o manejo da tensão na linha de incisão são consideradas as questões mais importantes relativas ao fechamento de feridas cirúrgicas durante a mastectomia.

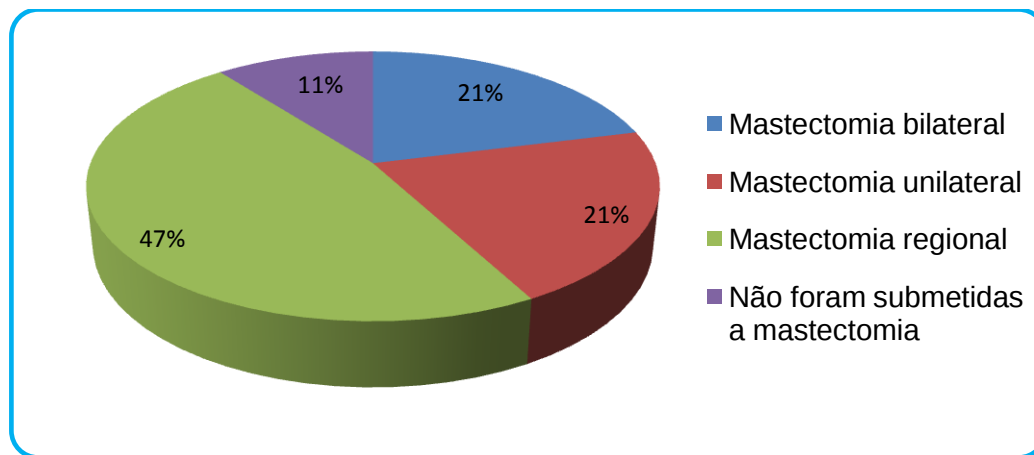


FIGURA 7 - Distribuição da incidência das neoplasias mamárias em cadelas de acordo com a técnica cirúrgica utilizada

Ambas as cadeias mamárias foram removidas em quatro (21%) fêmeas caninas, em virtude da presença de múltiplos tumores. Nestes casos, considerou-se aspectos como custo-benefício e bem-estar animal, em razão do protocolo pré-operatório e anestésico serem únicos, estando essa conduta respaldada por SLATTER (1998).

Dois (20%) animais do experimento já haviam sido anteriormente submetidos à mastectomia regional, uma com diagnóstico de neoplasia

benigna (tumor misto benigno) e outra sem diagnóstico. Após avaliação histopatológica do tumor recente, diagnosticou-se carcinoma túbulo-papilar e carcinoma sólido, respectivamente. De acordo com STRATMANN (2008) a maioria das cadelas desenvolvem tumores ipsilaterais em mamas remanescentes e, embora haja uma correlação positiva significativa entre a classificação histológica dos tumores iniciais e novos tumores pós-mastectomia, em alguns animais pode-se identificar novos tumores malignos, quando o inicial era benigno e, por esses aspectos, recomenda-se mastectomia radical em detrimento da mastectomia regional, o que poderia impedir o desenvolvimento de tumores subsequentes.

5.9 Avaliação radiográfica

Das oito cadelas alocadas no Grupo A, em estágio clínico I não se encontrou alterações pulmonares sugestivas de metástases. Por outro lado, dos 12 animais que compuseram o grupo B, seis apresentaram alterações nos campos pulmonares (Quadro 3).

Foi possível identificar três animais (15%) com metástases pulmonares (3B, 9B e 11B). No animal 3B, à avaliação radiográfica foram observados nódulos pulmonares esféricos, difusos, múltiplos, bilaterais, de tamanhos variados e com margens bem definidas, alterações estas semelhantes às descritas por FARROW, (2006). A cadela 9B apresentou nódulos pulmonares na entrada do tórax e no lobo pulmonar cranial. De acordo com DAVIS (1991) embora esse não seja o mais comum, o padrão de distribuição das metástases pode ser alterado por variações do fluxo sanguíneo. À avaliação da radiografia do animal 11B encontrou-se um único nódulo na projeção radiográfica LLD, corroborando com CANOLA & MEDEIROS (2009) ao citarem que os lobos pulmonares em projeções laterais, por ação da gravidade, encontram-se comprimidos e a ausência de

aeração desses lobos, seguida pela perda de contraste radiográfico, pode impedir a visualização de alterações significativas.

Em duas (10%) cadelas (5B e 6B) não foi possível visualizar alterações sugestivas de metástases, no entanto, à necropsia observou-se a presença de pequenos nódulos pulmonares difusos de aproximadamente cinco milímetros de diâmetro. Nesse contexto, SUTER et al., (1974) relataram que por meio do exame radiográfico, cerca de 13% de falsos negativos têm sido observados na pesquisa de nódulos pulmonares em cães, possivelmente em virtude do tamanho das lesões, já que nódulos pulmonares devem ter de seis a dez milímetros de diâmetro para serem identificados radiograficamente. Ainda de acordo com FEENEY et al. (1991), apesar do exame de tomografia computadorizada detectar lesões neoplásicas metastáticas e infiltrados pulmonares mais precocemente que o exame radiográfico, o custo-benefício do exame impede o seu uso em larga escala para este propósito.

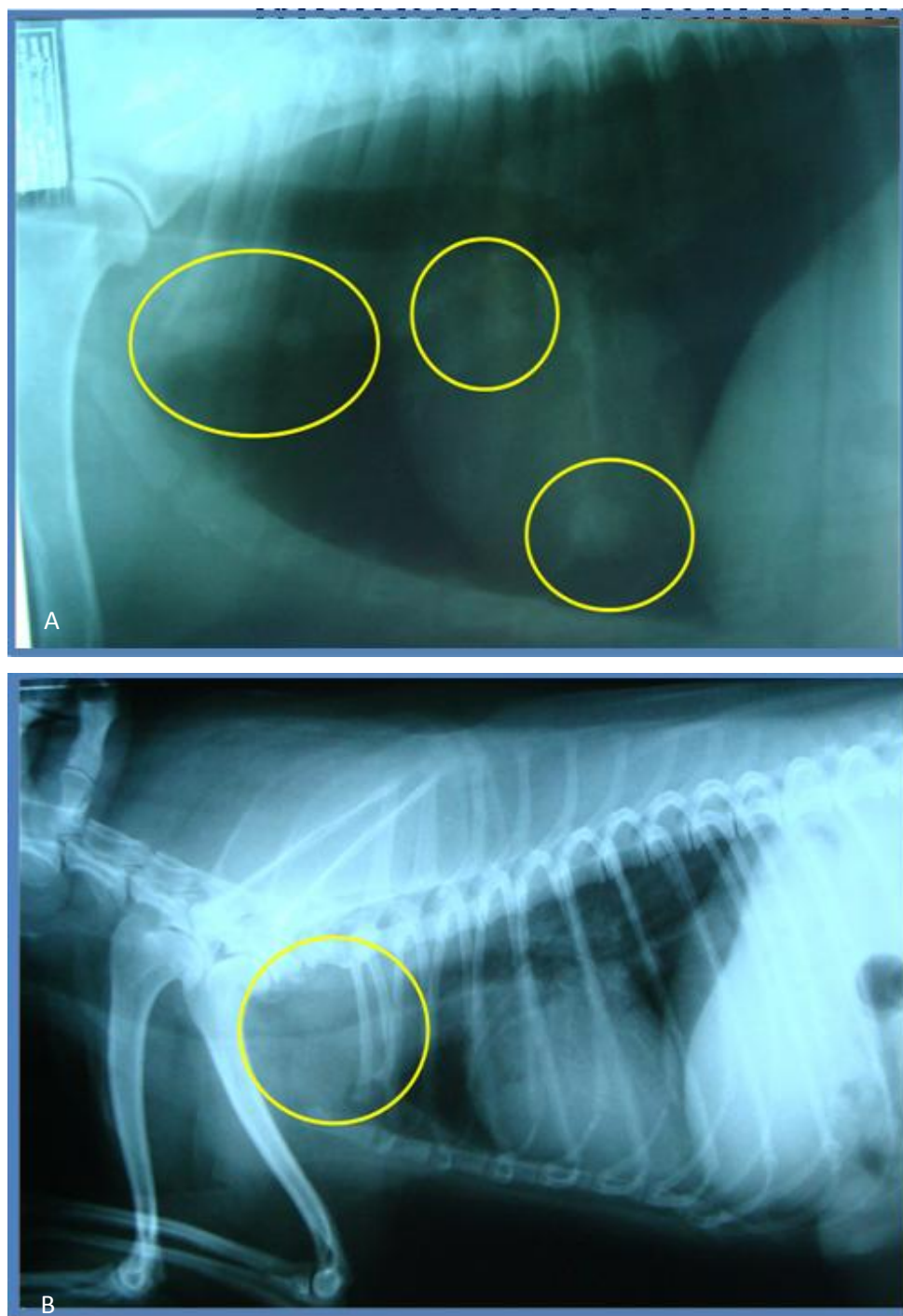


FIGURA 8 – Radiografias torácicas de animais portadores de metástases pulmonares de câncer de mama. (A) Observam-se nódulos pulmonares esféricos, difusos, múltiplos, de tamanhos variados e com margens bem definidas. (B) Presença de nódulos pulmonares na entrada do tórax e no lobo pulmonar cranial

QUADRO 3 - Classificação histopatológica, alterações radiográficas e outras alterações observadas em cadelas do grupo A e B

Animal/ GRUPO	Tipo de tumor	Alterações radiográficas	Necrópsia	Conclusão
1 B	Carcinoma em tumor misto benigno	NDN	-	-
2 B	Carcinossarcoma	NDN	-	-
3 B	Carcinoma sólido	Presença de nódulos pulmonares	-	Eutanásia
4 B	Carcinossarcoma	NDN	-	-
5 B	Carcinossarcoma	NDN	Metástases: pulmão, baço, rim e ovário	Eutanásia
6 B	Carcinoma inflamatório	Linfonodo mediastinal aumentado	Metastases pulmonares	Óbito
7 B	Carcinoma complexo	Linfonodo mediastinal aumentado	-	-
8 B	Carcinoma complexo	NDN	-	-
9 B	Carcinoma sólido	Presença de nódulos pulmonares; linfonodo mediastínico aumentado	-	Eutanásia
10 B	Carcinoma complexo	NDN		
11 B	Carcinoma sólido	Presença de nódulo pulmonar		
12 B	Carcinoma sólido	NDN		

Em dois animais (6B, 7B e 9B), à avaliação do mediastino foram identificados aumento de volume dos linfonodos mediastínicos, caracterizado por aumento circular de radiopacidade no mediastino cranial próximo à traquéia ou por desvio dorsal da traquéia com ausência de silhueta cardíaca aumentada, possivelmente devido à infiltração neoplásica desses linfonodos, concordando com as alterações observadas por FEENEY et al.(1991).

5.10 Classificação citopatológica das neoplasias

Das 20 cadelas utilizadas neste estudo, apenas uma não foi submetida ao exame citopatológico por apresentar características clínicas de carcinoma inflamatório, como glândulas mamárias difusamente edemaciadas com pouca demarcação entre os tecidos tornando a região firme, sob forma de placas, quente e dolorosa à palpação com espessamento de pele e secreção sero-sanguinolenta. Dos tumores estudados neste experimento, a técnica citopatológica revelou uma eficácia de 78,9% (15 casos) quando comparada à histopatologia.

5.10 Classificação histopatológica das neoplasias e desenvolvimento de metástases

Com relação aos tipos de neoplasias mamárias encontradas nas amostras colhidas das cadelas do grupo A e B (Figura 9), observou-se que no grupo A o carcinoma túbulo-papilar foi o tumor mais frequente, ocorrendo em quatro (50%) dos oito animais. Entre os neoplasmas mais frequentes no Grupo B, classificou-se quatro (33%) carcinomas sólidos, três (25%) carcinossarcomas e três (25%) carcinomas complexos. Relacionando-se o tipo de tumor e o desenvolvimento de metástases (Quadro 3), apenas cadelas do grupo A, sem metástases, apresentaram carcinoma túbulo-papilar e no grupo B, três cadelas (3B, 9B e 11B) com carcinoma sólido e duas (1B e 7B) com carcinoma complexo apresentaram metástases. Estes resultados discordam da afirmação de MISDORP et al. (1999) que o carcinoma complexo, túbulo-papilar e sólido, estão classificados de acordo com uma ordem crescente de malignidade.

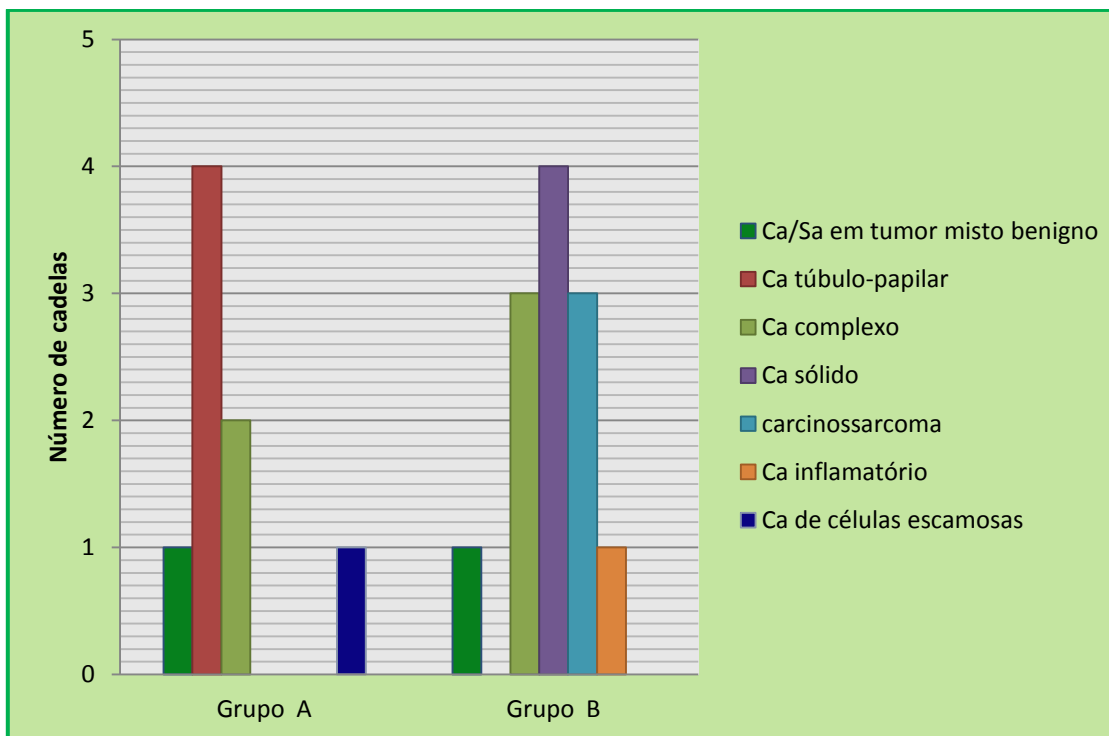


FIGURA 9 - Tipos de neoplasia encontrados nas amostras coletadas das glândulas mamárias das cadelas do grupo A e grupo B
 Legenda: Ca: carcinoma; Sa: sarcoma; tu: tumor.

Foi diagnosticado em uma das fêmeas caninas do grupo B (6 B – quadro 3) carcinoma inflamatório a partir dos sinais clínicos, citologia aspirativa e, posteriormente, exame histopatológico. Clinicamente o animal apresentava intensa inflamação de ambas as cadeias mamárias concomitante ao desenvolvimento tumoral, aumento de temperatura local, eritema, ulceração, dor, linfedema de ambos os membros posteriores, aumento de linfonodos inguinais superficiais e poplíteos. À radiografia e ultrassonografia, não foram verificadas alterações, porém à necrópsia pode-se identificar pequenos nódulos metastáticos (aproximadamente cinco milímetros). Diante deste quadro, o animal não foi submetido à mastectomia e o tratamento instituído constou de analgésico e antiinflamatório COX-2 seletivo (tramadol – 2mg/kg BID; firocoxib – 5mg/kg SID) . Esse animal veio a óbito 18 dias após o diagnóstico clínico. Os dados resultantes desse caso estão de acordo com

PEÑA et al. (2003) que apontaram o carcinoma inflamatório como o tipo tumoral mais agressivo dentre os tumores e com WITHROW & MACEWEN (2001) que relataram presença de crescimento intravascular e (micro) metástases em cadelas portadoras desse tipo de tumor. Neste contexto, ALENZA et al. (2001) concluíram que cães portadores de carcinomas com essas características apresentam uma péssima condição clínica e sobrevivem por uma média de 25 dias com tratamento paliativo.

Uma cadela do Grupo B (5 B – Quadro 3) retornou ao Hospital Veterinário sete dias após a cirurgia com neoformação tecidual nodular local e massa avermelhada friável originada do interior da ferida. Nesse caso, a proprietária optou pela eutanásia e, posteriormente, o animal foi submetido à necropsia evidenciando-se além do descrito, metástases no pulmão, rim, baço e ovário. (Figura x)À avaliação do exame histopatológico, foi diagnosticado carcinossarcoma. Sobre esse aspecto, MISDORP (2002) descreveu que os carcinossarcomas representam um grupo complexo, devido ao alto grau de heterogeneidade e, principalmente, devido ao fato de sua histogênese ainda não estar completamente esclarecida, e que a sobrevivência pós-operatória é de aproximadamente 18 meses.

Uma fêmea do Grupo A (8 A – quadro 3) desenvolveu carcinoma de células escamosas localizado na glândula mamária abdominal cranial. Segundo HÉLLMEN (2005) o carcinoma de células escamosas mamário é raro e deve ser diferenciado do tumor de pele e anexos.



FIGURA 10 - Tipos de neoplasia encontrados nas amostras coletadas das glândulas mamárias das cadelas do grupo A e grupo B
 Legenda: Ca: carcinoma; Sa: sarcoma; tu: tumor.

5.11 Hipercalcemia

Não houve diferença significativa ($p=34,73\%$) ao comparar os grupos quanto à frequência de hipercalcemia, por meio do teste de Fisher (Tabela 1). No grupo A, composto de oito cadelas em estágio clínico I, nenhuma apresentou evidência de hipercalcemia ou outra condição patológica debilitante concomitante ao câncer. No grupo B, duas cadelas apresentaram aumento nos níveis séricos de cálcio iônico, sendo diagnosticado hiperparatireoidismo primário em ambas. Neste grupo, também não houve diferença significativa na frequência de hipercalcemia, de acordo com o teste de Qui-quadrado ($P<0,01\%$) (Tabela 2).

TABELA 1 – Teste de Fisher para comparação de frequências de hipercalcemia em fêmeas caninas portadoras de câncer de mama em estágio clínico I (Grupo A) e em estágios IV e V (Grupo B).

Cálcio	GRUPOS				TOTAL	
	A (n=8)		B(n=12)		n*=20	
	Nº**	%***	Nº	%	Nº	%
Com hipercalcemia	0	0	2	16,67	2	10
Sem hipercalcemia	8	100	10	83,33	18	90
TOTAL	8	100	12	100	20	100

p=34,73%; *número de animais do grupo; **frequência absoluta de animais com e sem hipercalcemia; *** frequência relativa de animais com e sem hipercalcemia

TABELA 2 – Teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$) para comparação de frequência de hipercalcemia em fêmeas caninas portadoras de câncer de mama em estágios clínicos IV e V (Grupo B).

GRUPO B											
Animal	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B
Cálcio iônico	1,26a	1,45a	1,27a	1,55a	1,36a	1,44a	1,26a	1,71 ^a	1,42a	1,20 ^a	1,30a

p=0,45; Nota: letras iguais nas linhas indicam que não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância.

Duas cadelas, uma portadora de carcinossarcoma (5B) e outra de carcinoma sólido (9B) desenvolveram hipercalcemia, caracterizada por aumento do nível sérico de cálcio iônico (1,55 mmol/L e 1,71 mmol/L, respectivamente; valor de referência: 1,25 – 1,45 mmol/L) e PTH (8,9 pmol/L e 8,5 pmol/L, respectivamente; valor de referência: <1 a 7,4 pg/mL de acordo com MACHADO, 2000), fósforo sérico normal (6,0 mg/dL e 5,6 mg/dL, respectivamente; valor de referência: 2,6 – 6,2), ALP normal na cadela 5B e aumentada na 9B (170 UI/L e 246 UI/L; valor de referência: 20 – 150 UI/L). Em ambos os animais, diagnosticou-se hiperparatireoidismo primário. As duas cadelas vieram a óbito, por eutanásia e, posteriormente, foram submetidas à necropsia. De acordo com o resultado da necropsia e da avaliação histopatológica, a cadela 5B apresentava metástases de carcinossarcoma

(Tabela 3) no pulmão, rim e ovário. A cadela 9B apresentou metástase de carcinoma sólido no pulmão, adenomiose, hiperplasia linfóide nodular benigna no baço e no rim discreta nefrite intersticial crônica.

Levando-se em conta que as principais causas de hipercalcemia são hiperparatireoidismo e hipercalcemia associada ao câncer, o diagnóstico diferencial foi realizado por meio da dosagem sérica do paratormônio (PTH), conforme recomendações de STEWART, (2005). Acrescenta-se que, para VAN VONDEREN et al. (2003) e KRUEGER et al. (1996), no hiperparatireoidismo primário o PTH está elevado ou dentro da normalidade, sendo considerada como hipercalcemia PTH dependente, mas é frequentemente suprimido na doença maligna, que é PTH independente. ETTINGER (2004) também afirmou que animais com hiperparatireoidismo podem apresentar pouco ou nenhum sinal clínico, cálcio iônico elevado e fósforo sérico normal ou baixo.

O nível de fósforo sérico, em ambos os casos, estava dentro dos valores de referência, provavelmente por apresentarem discreta lesão renal crônica, caracterizada histologicamente no animal 5B como presença de congestão, espessamento da cápsula glomerular, presença de proteína na luz de alguns túbulos, dilatação e necrose tubular multifocal, discreta tumefação glomerular e glomeruloesclerose, caracterizando uma discreta glomerulonefrite. No animal 9B a lesão renal foi descrita como acentuada congestão, infiltrado inflamatório discreto e degeneração tubular moderada e multifocal sugerindo discreta nefrite intersticial. Esses resultados que estão de acordo com BUSH et al. (2004) que referiu que no hiperparatireoidismo primário o aumento da produção de PTH resulta na diminuição da concentração de fosfato plasmático em decorrência de sua excreção abundante, entretanto se houver déficit da função renal, a concentração plasmática do fósforo permanecerá dentro dos limites normais de referência ou estará um pouco aumentada.

A creatinina, nos dois animais que apresentaram hipercalcemia, encontravam-se dentro dos valores normais para espécie, mesmo

apresentando lesão renal. A presente observação insere-se no contexto das descrições de BOSTOM et al. (2002) que relatou que o nível de creatinina sérica pode ser um marcador insensível da verdadeira função renal na doença renal crônica, já que muitos pacientes a mantêm dentro dos valores normais de referência, pois, para que ocorra aumento da creatinina, é necessário uma redução maior que 50% do ultrafiltrado glomerular.

Na cadela 5B a atividade sérica da ALP encontrava-se normal e na 9B aumentada. De acordo com ETTINGER (2004) apenas 23% dos cães apresentam ALP elevada e quando essa alteração está presente geralmente é discreta, resultante de aumento compensatório na atividade osteoblástica nas trabéculas ósseas como resposta a tensão mecânica no osso debilitado pela reabsorção definitiva.

Entre as 20 fêmeas caninas estudadas em ambos os grupos, não se diagnosticou hipercalcemia associada ao tumor de mama em estágio inicial ou avançado da doença, embora de acordo com BUNDRED (1991) seja comum esta síndrome paraneoplásica em mulheres portadoras de câncer de mama associado a metástases ósseas, CARMELIET et al. (2003) afirmaram que nessas pacientes a hipercalcemia frequentemente resulta da reabsorção óssea osteoclástica difusa em todo o esqueleto, caracterizando a hipercalcemia humoral maligna.

Em dois animais (10%) diagnosticou-se hiperparatireoidismo concomitante ao desenvolvimento de câncer de mama. Nesse contexto, MICHELS et al. (2004) relataram que dados recentes sugerem uma forte correlação entre câncer de mama e hiperparatireoidismo primário e, embora a patogênese exata não esteja clara, têm sido atribuída à possibilidade de etiologia comum entre essas duas condições.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que:

1. A maior frequência de tumores de mama é encontrada em cadelas de oito a 10 anos
2. Tumores mamários se desenvolvem com maior frequência em cadelas que não são submetidas a ovariectomia.
3. Animais que apresentam pseudocirose são mais susceptíveis ao desenvolvimento de câncer de mama.
4. Não houve diferença significativa ($p=34,73\%$) quanto a frequência de hipercalcemia, ao comparar cadelas portadoras de câncer de mama com diagnóstico precoce e tardio
5. O hiperparatireoidismo pode ser uma importante enfermidade relacionada ao câncer de mama em cadelas
6. Devem ser realizadas pesquisas científicas empregando-se um efetivo maior de animais a fim de correlacionar o desenvolvimento de câncer de mama e hipercalcemia maligna em fêmeas da espécie canina.

REFERÊNCIAS

ALENZA, M. D. P.; TABANERA, E.; PEÑA, L. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995–1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 219, N. 8, p. 1110-1114, 2001.

ALLISON, J. L.; MADDUX, F. K. Subcutaneous glandular tissues: mammary, salivary. Thyroid and parathyroid. In: COWEL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 3.ed. Mosby Elsevier, 2008. Cap. 6, p. 112-129.

AZNAR, E.; MARTÍ, R.; PÉREZ, P.; PALAU, J.; VICTORIA, J.; HIDALGO, V.; MOYA, V.; MÁIQUEZ, J. Hipercalcemia de origen tumoral: estudio de 133 casos. **Revista de Diagnóstico Biológico**, v. 50, n. 1, p. 28-32, 2001.

BAE, B. K.; KIM, C. W.; CHOI, U. S.; CHOI, E. W.; JEE, H.; KIM, D. Y.; LEE, C. W. Hypercalcemia and high parathyroid hormone-related peptide concentration in a dog with a complex mammary carcinoma. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 13, n. 9, p. 376-378, 2007.

BAYNE, M. C.; ILLDGE, T. M., Hypercalcaemia, parathireoide hormone-related protein and malignancy. **Clinical Oncology**, v. 13, p. 372-377, 2001.

BERGMAN, P. J.; Paraneoplastic Syndrome. In: WITHROW S. J.; MACEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**, 3 ed, p. 35-54. 2001. 718p.

BIÈCHE, I.; LIDEREAU, R. Genetic alterations in breast cancer. **Genes, Chromosomes and cancer**, v. 14, n. 4, p. 227-251, 2006.

BOSTOM, A. G.; KRONENBERG, F.; RITZ, E. Predictive Performance of Renal Function Equations for Patients with Chronic Kidney Disease and Normal Serum Creatinine Levels. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, p. 2140–2144, 2002.

BUNDRED, N. J.; RATCLIFFE, W. A.; WALKER, R. A.; COLEY, S.; MORRISON, J. M.; RATCLIFFE, J. G. Parathyroid hormone related protein and hypercalcaemia in breast cancer. **British Medical journal**, v. 303, p. 1506-1509, 1991.

BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Rocca, 2004. 384p.

CADIEU, E.; OSTRANDER, E. A. Canine Genetics Offers New Mechanisms for the Study of Human Cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 16, p. 2181-2183, 2007.

CANOLA, J. C.; MEDEIROS, F. P. Radiografia convencional e ultra-sonografia no diagnóstico de neoplasias. In: DALECK; R.; DE NARDE, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. cap. 5, p. 93-120.

CARMELIET, G.; CROMPHAUT, S. V. DACI, E. Disorders of calcium homeostasis. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 17, n. 4, p. 529–546, 2003.

CASSALI, G. D. **Estudos morfológicos, imuno-histoquímicos e citométrico de tumores mamário da cadela – aspectos comparativos com neoplasia de mama humana**. 2000. 73f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

DALECK; R.; DE NARDE, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo:Roca, 2009. 632p.

DAVIS, K. M.; STONE, E. A. Neoplasia de glândula mamária. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 1998, p. 316-319.

DAVIS, S. D. CT evaluation for pulmonary metastases in patients with extrathoracic malignancy. **Radiology**, v. 180, n. 1, p. 1-12, 1991.

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 e modalidades de tratamento em cães, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

DYCE, K. M.; SACK, W. O; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3.ed. Elsevier, 2004. 813p.

ETTINGER. S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2004. 2236p.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G., **Anestesia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2002. 389p.

FARIAS, M. L. F, A hipercalcemia nas malignidades: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 5, p.816-824, 2005.

FARROW, C. S. **Diagnóstico por imagem do cão e gato**. São Paulo: Roca, 2006. 768p.

FEENEY, D. A.; FLETCHER, T. F.; HARDY, R. M. Atlas of correlative imaging anatomy of the normal dog/ ultrasound and computed tomography. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1991. 382p.

FONSECA PINTO, A. C. B.; IWASAKI, M.; FIGUEIREDO, C. M.; CORTOPASSI, R. R. G.; STERMAN, F. A. Tomografia computadorizada do tórax de cadelas portadoras de neoplasias malignas. II – Avaliação dos campos pulmonares. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 3, p. 174-182, 2007.

FURIAN M.; SANDEI, C. F. C. S.; ROCHA, E. J. N.; LOT, R. F. E. Estudos retrospectivo dos tumores mamários em caninos e felinos atendidos no Hospital Veterinário da FAMED entre 2003 a 2007. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.8, 2007.

GOBELLO, C.; CORRADA, Y. Canine Mammary Tumors: An Endocrine Clinical Approach. **Compendium**, v. 23, n. 8, p. 705-710, 2001.

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

HENDERSON, B. E.; FEIGELSON, H. S. Hormonal carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v.21, n.3, p.427-433, 2000.

HULKA, B. S.; STARK, A. T. Breast cancer: cause and prevention. **The Lancet**, v. 346, n. 8979, p. 883-887, 1995.

ITOH, T.; UCHIDA, K.; ISHIKAWA, K.; KUSHIMA, K.; KUSHIMA, E.; TAMADA, H.; MORITAKE, T.; NAKAO, H.; SHII, H. Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: Differences between small-breed dogs and others. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, n.3, p. 345-347, 2005.

KITCHELL, B. E. Mammary tumors. **Kirk's Current Veterinary Therapy XII Small**

Animal Practice. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1995, p. 1098-1103.

KOOISTRA, H. S.; GALAC, S.; BUIJTELS, J. J. C. W. M.; MEIJ, B. P. Endocrine Diseases in Animals. **Hormone Research**, v. 71, p. 144-147, 2009.

KOLB, E. Fisiologia da glândula mamária. In KOLB, E. **Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p.413-4.

KOJIMA, H.; FUKAZAWA Y.; SATO T.; ENARI M.; MATSUZAWA A.; TSUNODA S.; NAGASAWA H.; OHTA, Y.; IGUCH T. Apoptosis of pregnancy-dependent mammary tumor and transplantable pregnancy-dependent mammary tumor in mice. **Câncer letter**, v.110, n.1-2, 1996.

KRUEGER, J. M.; OSBORNE, C. A.; NACHREINER, R. F. Hipercalcemia and renal failure, etiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 16, p. 1417-1445, 1996.

KUKREJA, S. C.; SHEVRIN, D. H.; WIMBISCUS, S. A. Antibodies to parathyroid hormone-related protein lower serum calcium in athymic mouse models of malignancy-associated hypercalcemia due to human tumors. **Journal of Clinical Investigation**, n. 82, p. 1798–1802, 1988.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN'S, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**, 2007. 4 ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. cap 26, p. 619-636,.

LUIZ, C. R.; MIGLINO, M. A.; SANTOS, T. C. SEGMENTOS ANÁTOMO-CIRÚRGICOS ARTERIAIS DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM CÃES (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758). **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.1, p.27-36, 2002.

MACHADO, L. H. A. **Estudo do hiperparatireoidismo secundário à insuficiência renal crônica em cães**. 2000. 110f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MANEE-IN, S.; SRISUWATANASAGUL, S.; LOHACHIT, C.; IRIVAIYAPONG, S. The number of ER α and PR in the mammary glands of bitches with and without tumor mass using immunohistochemical assay. **Journal of Clinical Pathology**, v. 18, p.221–227, 2009.

MARTIN, L. N. C.; KAYATH, M. J. Abordagem clínico-laboratorial no diagnóstico diferencial de hipercalcemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.43, n.6, p.472-479, 1999.

MARTINS, L. R.; LOPES, M. D. Pseudociese canina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.3/4, p.137-141, 2005.

MESSINGER, J. S.; WINDHAM, W. R.; WARD, C. R. Ionized Hypercalcemia in Dogs: A Retrospective Study of 109 Cases (1998–2003). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 3, p. 514-519, 2009.

MICHELS, K. B.; SHUE, F.; BRANDT, L.; EKBOM, A. Hyperparathyroidism and subsequent incidence of breast cancer. Internacional. **Journal of Cancer**, v. 110, p. 449–451, 2004.

MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, J. E. **Tumors in domestic animals**, 4.ed. Iowa State: Blekwell, 2002. cap. 12, p.575-606.

MISDORP, W.; AMERICAN REGISTRY OF PATHOLOGY; WHO COLLABORATING CENTER FOR WORLDWIDE REFERENCE ON COMPARATIVE ONCOLOGY. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology.1999. 59p.

MOORE, A. Advances in the treatment of mammary neoplasia. In: WORLD CONGRESS WSAVA/FECAVA/CSAVA, 2006, Prague. **Anais...** Prague: WSAVA, 2006, p.562-565.

MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small Animal Oncology**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p.184-191.

MUNDY, G. R. Hipercalcemia tumoral: etiopatogenia. In: MORAL, J. A. R.; MACÍAS, G. J. **Manual Práctico de Osteoporosis e Enfermedades del Metabolismo mineral**. Madrid:Jarpyo, 2004.

MUNDY, G. R.; GUISE, T. A. Hypercalcemia of Malignancy. **The American Journal of Medicina**, v. 103, n. 2, p. 134-145, 1997.

NANDI, S.; GUZMAN, R. C.; YANG, J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: A unifying hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 92, p.3650-3657, 1995.

NORMAN, A. W.; LITWACK, G. **Hormones**. 2^a ed. San Diego: Academic, 1997. 558p.

NOVOSAD, C.A. Principles of treatment for mammary gland tumors. **Clinical Technical Small Animals Practice**, v.18, n.2, p.107-9, 2003.

OLIVEIRA, L. O.; OLIVEIRA, R. T.; LORETTI, A. P.; RODRIGUES, R.; DRIEMEIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.2, p.105-110, 2003.

PAPAZOGLU, L. G.; TSIOLI, V.; KARAYANNOPOULOU, M.; SAVVAS, I.; KAZAKOS, G.; KALDRYMIDOU, E. Comparison of Three Methods for Closure of Mastectomy Incisions in Dogs. **Australian Veterinary Practitioner**, v. 36, n. 4, p.156-162, 2006.

PAULINELLI, R. R.; MOREIRA, M. A. R.; JÚNIOR, R. F. Ultra-sonografia no diagnóstico do câncer de mama: realidade atual e possibilidades para o futuro. **Revista Brasileira de Mastologia**, v. 13, n. 4, 2003.

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

PEREIRA, C. T. **Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática da glândula mamária de cadelas**. 2005. 181f. Dissertação (Mestrado em anatomia). Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

PEÑA, L.; PEREZ-ALENZA, M. D.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; NIETO, A. Canine inflammatory mammary carcinoma: histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 78, p. 141–148, 2003.

PEREZ ALENZA, M. D.; PEÑA, L.; DEL CASTILHO, N.; NIETO, A. I. Factores influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumors. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, 2000.

PINHEIRO, L. G. P.; MORAES, M. O.; SOARES, A. H.; LOPES, A. J. T.; NAGUÉRE, M. A. S. P.; GONDIM, F. L.; BRANDÃO, C. B.; NASCIMENTO, D. C. H.; SOARES, J. P. H.; MENESES E SILVA, J. M. Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e Tecnécio Tc99m1. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 6, p. 524-517, 2003.

PIRES, M. A.; TRAVASSOS, F. S.; PIRES, I. neoplasias em canídeos – um estudo descritivo de 6 anos. **Revista portuguesa de ciências veterinárias**, v. 98, n. 547, p. 111-18, 2003.

POLTON, G. Mammary tumors in dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, 2009

REIS-FILHO JS, WESTBURY C, PIERGA JY. The impact of expression . profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. **Journal Clinical Pathology**, v. 59, n. 3, p. 225-231, 2006.

ROODMAN, G. D., Biology of osteoclast activation in cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v.19, n.15. p.3562-3571, 2001.

RODIGHERI, S.M.; DALECK, C R.; CALAZANS, S. G.; FERNANDES, S. C.; DENARDI, A. B.; CESAR, J. R. F.; CASTRO, J. H. T. Neuropatia paraneoplásica associada ao mastocitoma canino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.819-822, maio-junho, 2008.

ROSENTHAL, R. C., **Segredos em oncologia veterinária**: respostas necessárias ao dia-a-dia em *rounds*, na clínica, em exames orais e escritos. Porto Alegre: Artmed. 2004. 295p.

ROSOL, T. J.; NAGODE, L. A.; COUTO, C. G.; HAMMER, A. S.; CHEW, D. J., PETERSON, J. L.; AYL, R. D.; STEINMEYER, C. L.; CAPEN, C. C.

Parathyroid hormone (PTH)-related protein, PTH, and 1,25- dihydroxyvitamin D in dogs with cancer-associated hypercalcemia. **Endocrinology**, v.131, p.1157-1164, 1992.

RUTTEMAN, G. R.; KIRPENSTEIJN, J.. Tumours of the mammary glands. In: DOBSON, B. D. X.; LASCELLES J. M. **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 2ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. 2003. p. 234-242.

RUTTEMAN, G.R.; WITHROW, S.J.; MacEWEN, E.G. Tumors of the mammary gland In: WITHROW, S.J.; MacEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology** 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2002, p.455-477.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada a experimentação animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221p.

SAS Institute Inc. **Statistical Analysis Sistem user guide**. Version 9.13 ed. Cary: SAS institute, USA, 2002.

SCHMITT, F.C. Mama. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.538-562.

SCHWARZ, L. A.; TIDWELL, A. S. Alternative imaging of the lung. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 14, n. 4, p. 187-206, 1999.

SCHULTHEISS, P. C., A retrospective study of visceral and nonvisceral hemangiossarcoma and hemangiomas in domestic animals. **Journal Veterinary Investigation**, v16, p. 522-526, 2004.

SELLON, R. K. Paraneoplastic syndromes in small animal medicine. In: European Veterinary Conference – Voorjaarsdagen, 2008, Amsterdam: Netherlands Association for Companion Animal Medicine, 2008

SILVA, A. E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência rural**, v. 34, n.2, p. 625-623, 2004.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo:Manole, 1998.

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**, v. 133, n. 7, p. 694-703, 1991.

SOUZA, C. H. M.; TOLEDO-PIZA, E.; AMORIN, R.; DE NARDE, A. B.; TOBIAS, K. M. Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 50, n. 5, p. 506–510, 2009.

STEWART, A. F. Hypercalcemia associated with cancer. **The New England Journal of Medicine**, v.352, n.4, p. 352-373, 2005.

STRATMANN, N.; FAILING, K.; RICHTER, A.; WEHREND, A. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. **Veterinary Surgery**, v. 37, p. 82-86, 2008.

STREWLER, G. J. Hypercalcemia Humoral of malignancy. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. **Williams textbook of endocrinology**. Philadelphia:Saunders. 9 ed, p. 1693-1710, 1998.

TSUTSUI, T.; Kiriwara, N.; Hori, T.; Concannon, P. W. Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: A clinical study. **Theriogenology**, v. 67, n.5, p. 1032-1038, 2007.

UEHLINGER, P.; GLAUS, T.; HAUSER, B.; REUSCH, C. Differential diagnosis of hypercalcemia: a retrospective study of 46 dogs. **Schweiz Arch Tierheilkd Journal Articles**, v.140, n. 5, p. 188-197, 1998.

VAN DE VIJVER, M. J. Genetic alterations in breast cancer. **Current Diagnostic Pathology**, v. 6, n. 4, p. 271-281, 2000.

WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology**, 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. 718p.

VAN VONDEREN, I. K.; KOOISTRA, H. S.; PEETERS, M. E.; RIJNBEEK, A.; VAN DEN INGH, T. S. G. A. M. Parathyroid hormone immunohistochemistry in dogs with primary and secondary hyperparathyroidism: the question of adenoma and primary hyperplasia. **Journal of comparative pathology**, v. 129, n. 1, p. 61-69, 2003.

YAGER, J. D.; DAVIDSON, N. E. Mechanisms of disease: Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. **The New England Journal of Medicine**, v, 354, n. 3, p. 270-282, 2006.

YAMAGAMI, T.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, K.; SUGIYAMA, M. Influence of ovariectomy at the time of mastectomy on the prognosis for canine malignant mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice**, v.37, p. 462-464, 1996.

YEN, Y.; CHU, P. G.; FENG, W., Paraneoplastic syndromes in cancer: Case 3. Parathyroid hormone-related hypercalcemia in cholangiocarcinoma. **Journal of Clinical Oncology**, v.22, n.11, p. 2244-2245, 2004.

ZATLOUKAL, J.; LORENZOVA J.; TICHY, F.; NECAS, A., KECOVA, H.; KOHOUT, P. Breed and age as risk factors for canine mammary tumours. **Acta Veterinaria Brunensis**, n. 74, p. 103-109, 2005.

ZUCCARI, D. A. P. C.; SANTANA, A. E.; ROCHA, N. S. Correlação entre biópsia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.1, p.1-8, 2001.

Anexo 1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir e, caso aceite participar do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável. Se recusar não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás pelo telefone 3521-1075 ou 3521-1076.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Título: Frequência de hipercalcemia maligna e estudo clínico-patológico em cadelas portadoras de câncer de mama.

Pesquisadores: Raquel Cunha Ribeiro e Prof. Dr. Olízio Claudino da Silva

Telefone para contato: (62)8483-7544

Esta pesquisa tem como principal objetivo diagnosticar hipercalcemia em cadelas portadoras de tumor mamário maligno, visando a avaliação clínica e o tratamento desses animais, já que esta síndrome paraneoplásica compreende uma emergência oncológica. Ao ser constatado tumor mamário, o animal será submetido a avaliação clínica sistemática, a hemograma e provas de função renal e hepática (creatinina, ALT, fosfatase alcalina), além da dosagem sérica do cálcio e exame citopatológico. A venopunção será realizada na veia jugular ou na braquicefálica, sendo executada antisepsia prévia. Avaliar-se-á o paciente quanto a metástases pulmonares, através de radiografias torácicas. Caso necessário, também será realizada ultra-sonografia abdominal para detecção de metástases. O exame citopatológico será realizado por punção dos nódulos mamários e com o auxílio de seringa e agulha descartáveis. Durante o tratamento cirúrgico será colhido fragmento para a avaliação histopatológica. Se o proprietário optar por não realizar o tratamento cirúrgico, será colhido material por meio de biopsia incisional. A pesquisa não gerará riscos ao animal, exceto aqueles inerentes aos eventuais procedimentos cirúrgicos. Esta pesquisa originará dados de prevalência de hipercalcemia em cadelas com tumores mamários e, de acordo com os dados clínico-laboratoriais, do estado do paciente portador. Isto permitirá melhores condutas clínica, cirúrgica e terapêutica frente a fêmeas caninas com tumor de mama. Espera-se que haja repercussão junto aos meios acadêmico, científico e profissional da Medicina Veterinária, fazendo com que técnicos da área reconheçam a importância da avaliação do paciente oncológico quanto a hipercalcemia, permitindo-lhes avaliar melhor o estado geral do paciente e,

com o tratamento adequado, diminuir a morbidade, melhorar a qualidade de vida e aumentar a sobrevida do paciente. O proprietário e seu animal terão participação pré e pós-operatória na pesquisa e têm a garantia de sigilo nas informações obtidas, bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

Pesquisador: Raquel Cunha Ribeiro - CRMV 3986GO

Assinatura:

Eu,

_____,
RG _____ CPF _____, abaixo
assinado e proprietário do cão de nome _____, raça,
_____, e idade _____, concordo que o mesmo
participe do estudo “Frequência de hipercalcemia maligna e estudo clínico-
patológico em cadelas portadoras de câncer de mama”, como sujeito. Estou
ciente e fui devidamente informado e esclarecido, pela pesquisadora Raquel
Cunha Ribeiro, sobre a pesquisa, os procedimentos envolvidos, assim como
os possíveis riscos e benefícios decorrentes da participação de meu animal.
Também me foi garantida a retirada de meu consentimento a qualquer
momento, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou interrupção do
acompanhamento de meu animal.

_____/____/____
Local e data

Assinatura do responsável
