

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE

**CORANTE AZUL PATENTE COMO
IDENTIFICADOR DE LINFONODO SENTINELA EM
CADELAS COM NEOPLASIA DE MAMA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DANIELLE KARINE SCHOENBERGER

GUARAPUAVA - PR

2018

DANIELLE KARINE SCHOENBERGER

**CORANTE AZUL PATENTE COMO IDENTIFICADOR DE LINFONODO
SENTINELA EM CADELAS COM NEOPLASIA DE MAMA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Liane Ziliotto

Orientadora

Profa. Dra. Giuliana Gelbcke Kasecker

Co-orientadora

GUARAPUAVA – PR

2018

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Santa Cruz

S365c Schoenberger, Danielle Karine
Corante azul patente como identificador de linfonodo sentinela em
cadela com neoplasia de mama / Danielle Karine Schoenberger. --
Guarapuava, 2018.
ix, 44 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de
concentração em Saúde Animal, 2018

Orientadora: Liane Ziliotto
Coorientadora: Giuliana Gelbcke Kasecker
Banca examinadora: Liane Ziliotto, Marília Gabriele Prado
Albuquerque Ferreira, Cláudia Ronca Felizzola

Bibliografia

1. Ciências Veterinárias. 2. Linfonodo axilar. 3. Neoplasia
mamária. 4. Cães. 5. Patologia. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

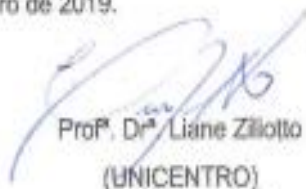
CDD 636.089

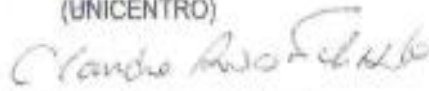
Danielle Karine Schoenberger


Corante azul patente como identificador de linfonodo sentinela em cadelas com neoplasia de mama

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 22 de Fevereiro de 2019.


Prof.^a Dr.^a Liane Zilotto
(UNICENTRO)


Prof.^a Dr.^a Claudia Ronca Felizzola
(UNIVERSIDADE CRUZEIRO DO SUL)


Prof.^a Dr.^a Marília Gabriele Prado Albuquerque Ferreira
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR
2019

FOLHA DE APROVAÇÃO DO CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 024/2017 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 03 de julho de 2017.

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que seu projeto de pesquisa intitulado: "*Pesquisa de Linfonodo Sentinela com marcação pelo azul patente em cadelas portadoras de neoplasias mamárias*", protocolo número 012/2017, foi analisado e considerado **APROVADO**, pela Comissão de Ética no Uso de Animais de nossa Instituição.

2. Deverá ser encaminhado à CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

- Os *Relatórios Parciais* deverão ser encaminhados à CEUA assim que tenha transcorrido **um ano da pesquisa**.

- Os *Relatórios Finais* deverão ser encaminhados à CEUA em **até 30 dias após a conclusão da pesquisa**.

- Qualquer alteração na pesquisa que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise da CEUA.

Pesquisador: Prof. Liane Ziliotto
Atenciosamente,

Handwritten signature: Liane Ziliotto
www.unicentro.br

À senhora
Prof. Liane Ziliotto
UNICENTRO-CEDETEG

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria agradecer a Deus por me guiar sempre dentro do caminho da Medicina Veterinária. Agradeço aos meus pais e às minhas irmãs que me deram todo o apoio para que eu pudesse me manter em Guarapuava durante a pesquisa e as aulas do mestrado. Agradeço aos meus amigos e colegas de mestrado que me deram força e me aturaram nos momentos de desespero e de crise, especialmente a Gislane de Almeida e a Layla Dal’Maso. Agradecer aos professores do curso de pós-graduação que sempre nos deixaram focados no projeto e que nos ajudaram tirando dúvidas, ensinando tudo que aprenderam em seus anos de prática da profissão professor, por compartilhar esses conhecimentos e muitas vezes pelos conselhos não só como profissionais, mas como seres humanos. Agradeço a uma amiga e colega de profissão, Anna Paula, que compartilhou dos seus conhecimentos na confecção da minha dissertação. Um agradecimento mais que especial ao pessoal do Clínica Escola Veterinária – CEVET da UNICENTRO por me ajudarem e acompanharem meu projeto com muito carinho e também os demais professores do Departamento de Medicina Veterinária – DEVET, que de alguma forma vieram a somar nessa minha caminhada. Em especial, minha orientadora, Dra. Liane Ziliotto, por todo o apoio desde o início, por me dar forças, por acreditar no meu potencial, por sempre me dizer que tudo daria certo ao fim e por ser uma pessoa e profissional maravilhosa, na qual eu me espelho, obrigada pelos conselhos e puxões de orelha que sempre me fazem querer ser melhor. Aos meus queridos amigos Adriane Hertel e Rodrigo Tozetto, por serem tão compreensivos durante minhas idas para Guarapuava me dando apoio dentro da profissão e fora dela, com certeza são pessoas das quais eu tenho muito carinho e respeito. E por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a todos os proprietários dos animais participantes do projeto e aos próprios pacientes pois sem sua colaboração, a execução dessa pesquisa não seria possível.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar
o que ninguém pensou sobre aquilo que todo mundo vê”.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

Danielle Karine Schoenberger. Corante azul patente como identificador de linfonodo sentinela em cadelas com neoplasia de mama.

O tumor de mama é uma neoplasia de alta incidência tanto em mulheres quanto em cadelas. A situação na qual se encontram os linfonodos representa um importante fator prognóstico, visto que a sobrevivência dos animais diminui drasticamente quando há metástases linfonodais. Não há protocolos bem estabelecidos para o estadiamento e tratamento dessas metástases em cadelas. O objetivo deste trabalho foi elucidar a taxa de detecção do linfonodo sentinela, bem como sua capacidade em prever metástases linfonodais inguinais e axilares em cadelas portadoras de câncer de mama. Foram incluídas 23 cadelas portadoras de neoplasia de mama atendidas na Clínica Escola Veterinária (CEVET) da UNICENTRO/ Guarapuava- PR. O protocolo de atendimento incluiu coleta de dados, exame físico, radiológico, hematológico e cirurgia. Após indução anestésica, procedeu-se a injeção do corante azul patente intratumoral. Aguardaram-se 10 minutos para a migração do corante e em seguida procedeu-se a mastectomia. Foram detectados linfonodos sentinela inguinal em 93,33% dos casos e axilar em 87,5%. A incidência de metástase linfonodal foi de 13,33% detectadas apenas em linfonodos inguinais. A pesquisa do linfonodo sentinela inguinal não muda a conduta cirúrgica, pois este é retirado em monobloco na mastectomia. No entanto, a pesquisa do linfonodo axilar pode otimizar o estadiamento linfonodal das cadelas, sem acrescentar morbidade significativa ao procedimento.

Palavras-chave: Linfonodo axilar, Neoplasia mamária, Cães, Patologia.

ABSTRACT

Danielle Karine Schoenberger. Blue dye patent as sentinel lymph node identifier in bitches with breast neoplasm.

Mammary gland tumours are one of the most common neoplastic disease in both women and intact female dogs. The lymph node status is an important predictor of clinical outcome, and the patients survival decreases drastically when these lymph node are metastatic. However, there are no current and well-defined protocols for the staging and treatment of these metastases in bitches. Thus, the aims of this study are to elucidate the rate of sentinel node detection, as well as the ability to predict inguinal and axillary lymph node metastases in bitches with mammary cancer. Thus, twenty-three female dogs with breast mammary neoplasia and treated at the Veterinary School Clinic (CEVET) of UNICENTRO/Guarapuava-PR were recruited. The protocol included data collection, physical examination, radiological, hematologic and surgery. After anesthetic induction, the intratumoral administration of the patent blue dye was perform. Pass ten minutes was monitored the dye migration and then a mastectomy was carried. Inguinal sentinel lymph nodes were marked in 93.33% of cases and the axillaries in 87.5%. The occurrence of lymph node metastasis was observed in 13.33% of inguinal lymph nodes. Despite the investigation of the inguinal sentinel lymph node does not change the surgical procedure protocol, since it is removed in monobloc at the mastectomy, the lymph node research can improve the lymph node staging on female dogs, without significant morbidity changes.

Keywords: Axillary lymph node, Breast neoplasm, Dogs, Pathology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1 Epidemiologia.....	13
1.2 Fatores de risco.....	13
1.3 Tipos de tumores mamários e biologia tumoral	15
1.4 Anatomia e drenagem da glândula mamária	15
1.5 Diagnóstico e estadiamento TNM	17
1.6 Tratamento	20
1.7 Conceito de linfonodo sentinela	22
1.7.1 Técnica de biópsia do linfonodo sentinela	22
1.7.2 Corante azul patente	24
2. ARTIGO CIENTÍFICO.....	26
Abstract.....	27
Resumo	27
Introdução	27
Material e Métodos.....	29
Resultados	30
Discussão	33
Conclusões	35
Referências.....	35
3. REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Nas últimas décadas, a estreita relação afetiva entre cães e seres humanos tem elevado a longevidade desses animais. Da mesma forma que ocorreu na Medicina Humana, observou-se na Medicina Veterinária uma explosão de medidas preventivas que visam a saúde e bem-estar dos pacientes (TRAPP et al., 2010; BARROS et al., 2017).

Estes fatores estão relacionados com a nutrição balanceada, com a prevenção de doenças infecciosas e parasitárias, com os métodos de diagnóstico e os protocolos terapêuticos instaurados, cada vez mais específicos e eficazes para as diversas afecções, e que contribuem para a maior longevidade de cães e gatos. Entretanto, essa longevidade aumentou a probabilidade do aparecimento de doenças relacionadas a idade, como as neoplasias (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; TEDARDI et al., 2016).

Afora a melhoria dos métodos de diagnóstico, tratamento e manejo, descritos acima, segundo Feliciano et al. (2012), há atualmente o reconhecimento dos animais de companhia, como membro da estrutura familiar, e o diagnóstico de uma neoplasia é consentido com comoção pelos proprietários desses animais, que muitas vezes tiveram experiências pessoais com esse tipo de doença.

Desta forma, é papel do médico veterinário estar atualizado sobre os métodos de tratamento e novas formas terapêuticas que possam ser instituídas em cada paciente para que se obtenha melhor resposta no controle da doença (BARROS et al., 2017).

As neoplasias ocorrem pelo acúmulo progressivo de mutações no genoma que induzem a interrupção dos mecanismos homeostáticos que regulam o crescimento, diferenciação e morte celular. Podem ser definidas como um conjunto de células que não respondem fisiologicamente aos mecanismos que controlam o crescimento celular, definidas como proliferação celular anormal e em excesso, não autônomo e intencional, que permanecem indeterminadamente e resultam no desenvolvimento do tumor (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007; ZUCCARI et al., 2016).

Estas alterações podem ser herdadas ou adquiridas, somaticamente, em consequência de processos endógenos ou da exposição aos vários fatores ambientais, como determinadas substâncias químicas, radiações ionizantes e vírus oncogênicos (BRASILEIRO FILHO; PEREIRA; GUIMARÃES, 2012).

1.1 Epidemiologia

Nas últimas décadas, o câncer ganhou dimensões cada vez maiores, convertendo-se em evidente problema de saúde pública mundial. A cada ano 8,8 milhões de pessoas no mundo morrem de câncer, a maioria em países de baixa e média renda. Nas estimativas sobre o câncer, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes, 17 milhões de mortes e 75 milhões de pessoas vivas com câncer (INCA, 2014).

No Brasil, as estimativas para o ano de 2019 em humanos são de 59.700 novos casos de neoplasias de mama, com um risco estimado de 56 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2018). Em cadelas, a incidência desses tumores corresponde a aproximadamente 25 a 50% de todas as neoplasias diagnosticadas na espécie, sendo a taxa de incidência anual de cadelas com neoplasia de mama de 198 em cada 100 mil animais (TEDARDI et al., 2016).

Além da alta ocorrência, comum às duas espécies, também observa-se um considerável paralelismo dos modelos tumorais de cães em comparação aos humanos (QUEIROGA et al., 2011), quanto as alterações bioquímicas, a expressão de proteínas e sequências de DNA para vários oncogenes já identificados, o que significa que os progressos tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana nesta área, podem significar avanços significativos a ambas (RIVERA; VON EULER, 2011; SEILER; GRIFFITH, 2017; BULKOWSKA et al., 2018).

1.2 Fatores de risco

Os fatores descritos como de risco para o aparecimento de neoplasias mamárias compreendem a estimulação estrogênica, o uso de contraceptivos e a alimentação rica em gorduras, além de idade (animais entre sete e treze anos) e raça (TEDARDI et al., 2016).

As glândulas mamárias normais ou afetadas por tumores apresentam receptores de estrogênio (ER), progesterona (PR), prolactina (PRL-R) e fatores de crescimento epidérmico (EGF-R) (BOCARDI et al., 2008). O estrógeno e a progesterona induzem as expansões de lóbulos e ductos epiteliais, levando ao crescimento da glândula mamária e atuando como agentes iniciadores e promotores do desenvolvimento das neoplasias mamárias (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007).

Esta influência hormonal sobre o desenvolvimento das neoplasias mamária é observada por dados em que animais castrados precocemente, antes do primeiro cio, tem um risco de desenvolver neoplasia mamária menor que 0,5%. Este risco aumenta para 8% após o primeiro cio, e se eleva para 26% após o segundo cio (OLIVEIRA FILHO et al., 2010 apud. LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007).

Assim, essas informações sugerem que o efeito hormonal ligado ao aparecimento de neoplasias mamárias tem relação direta com a fase em que as cadelas são submetidas a ovariectomia (OH) (GOEBEL; MERNER, 2017).

Entretanto, uma revisão sistemática publicada por um grupo de pesquisadores britânicos do Royal Veterinary College, no Reino Unido, que avaliou mais de 11.149 artigos de periódicos, constatou que quando analisado o efeito da castração ou idade de castração sobre o risco de tumores mamários há estatisticamente uma escassez de estudos publicados que abordem adequadamente essa questão e que comprovem essa relação (BEAUVAIS; CARDWELL; BRODBELT, 2012).

Ainda, segundo Zedda et al. (2017) não existe nenhum efeito protetor da OH realizada após os quatro anos de idade, já que os maiores efeitos dos hormônios ovarianos na glândula mamária ocorrem na fase de desenvolvimento mamário. Entretanto, a exposição a doses farmacológicas de hormônios exógenos, independentemente da idade do animal, é capaz de elevar o risco de aparecimento de neoplasias mamárias em cães, em até 2,3 vezes (FELICIANO et al., 2012).

Quanto a predisposição racial, um estudo recente elaborado por Andrade et al. (2017) com mais de 2,5 mil animais mostrou que, no Brasil, as raças mais afetadas por tumores mamários são Poodle (33,4%), Pinscher (14,5%), Dachshund (12,5%), Cocker Spaniel e Pitbull (7,2%), apesar de também serem muito frequentes em cães sem raça definida (SRD).

Outro fator que parece apresentar influência no desenvolvimento mamário é acúmulo corpóreo de tecido adiposo. A obesidade em cães de até 1 ano de idade atua como fator de predisposição ao desenvolvimento de tumores em menor proporção, pois os lipídios são precursores de andrógenos que por sua vez, são convertidos em estrógenos (ZEDDA et al., 2017).

1.3 Tipos de tumores mamários e biologia tumoral

Durante a fase de progressão neoplásica, as alterações genotípicas adquiridas pela maioria das células da massa tumoral as tornam capazes de invadir tecidos adjacentes ou órgãos distantes, o que caracterizam a neoplasia como maligna (PINHO, 2005; GOEBEL; MERNER, 2017).

Em torno de 70% das neoplasias mamárias em caninos e 80-96% dos tumores mamários felinos são malignos (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016), porém, neoplasias malignas e benignas podem existir ao mesmo tempo em um mesmo cão, que tenha mais de um tumor (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007; TRAPP et al., 2010). Isso pode ocorrer tanto pela presença de duas neoplasias distintas dentro da glândula mamária quanto pela presença de massa tumoral em diferentes fases da carcinogênese onde a lesão inicialmente benigna progride para doença maligna (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007; ARAÚJO et al., 2016).

Os tumores benignos representam aproximadamente 50% das neoplasias mamárias caninas, e os tipos histológicos mais encontrados são: adenomas, tumores mesenquimais benignos e fibroadenomas (ZEDDA et al., 2017). Com relação aos tumores malignos, a ocorrência mais comum é a do carcinoma (cerca de 70% dos casos). Dentre eles, os carcinomas complexos, tubulares e os carcinomas micropapilares são os tipos mais relatados (SORENMO et al., 2011), além destes, sabe-se que sarcomas e carcinosarcomas também podem ser encontrados em cadelas (FELICIANO et al., 2012).

Em relação à diferenciação celular estes podem apresentar-se como diferenciados se possuírem células parenquimatosas com grau de diferenciação próximo do normal, ou seja, suas células são semelhantes com o tecido do qual se originou, ou podem ser indiferenciados ou anaplásicos, quando suas células parenquimatosas são pouco diferenciadas, com suas características morfológicas distintas do tecido de origem (ARAÚJO et al., 2016; ETTLIN et al., 2017). Esta indiferenciação pode ser tão grande que ao se examinar a célula neoplásica, não é possível definir qual é o tecido de origem (CASSALI et al., 2012).

1.4 Anatomia e drenagem da glândula mamária

Nas cadelas, as glândulas mamárias estão divididas em regiões torácica, abdominal e inguinal, dispostas em duas cadeias (direita e esquerda) com, em geral, cinco pares de glândulas

no total. São identificadas do sentido cranial para o caudal, sendo: torácicas craniais (M1), torácicas caudais (M2), abdominais craniais (M3), abdominais caudais (M4) e inguinais (M5) (FOSSUM et al, 2008).

A vascularização desse tecido (Figura 1) acontece da seguinte maneira: nas glândulas torácicas, o sangue percorre pela artéria epigástrica superficial cranial e por meio de ramos perfurantes da artéria torácica interna, por meio de ramos cutâneos das artérias intercostais e via ramos da artéria torácica lateral. Já nas glândulas abdominais e nas inguinais, a irrigação sanguínea vem da artéria epigástrica superficial caudal e dos ramos perivulvares da artéria pudenda externa (PINHEIRO et al., 2003; FOSSUM et al., 2008; CASSALI et al., 2013).

Na drenagem linfática (Figura 1), a linfa geralmente flui dos três pares de mamas craniais em direção aos linfonodos axilares que se situam na face medial da porção distal do músculo redondo maior, anteriormente à artéria e veia toracodorsal (embora M3 possa drenar tanto para linfonodo axilar quanto para inguinal) e dos dois últimos pares de mama para linfonodos inguinais superficiais que estão localizados três centímetros cranialmente ao osso púbico na face dorsolateral das glândulas mamárias (FOSSUM et al., 2008).

No entanto, pode haver comunicação entre glândulas craniais e caudais do mesmo lado, assim como de lados opostos, por meio da reorganização da drenagem linfática causada por fatores prolinfangiogênicos presentes no sítio tumoral (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; EL KHATIB et al., 2011).

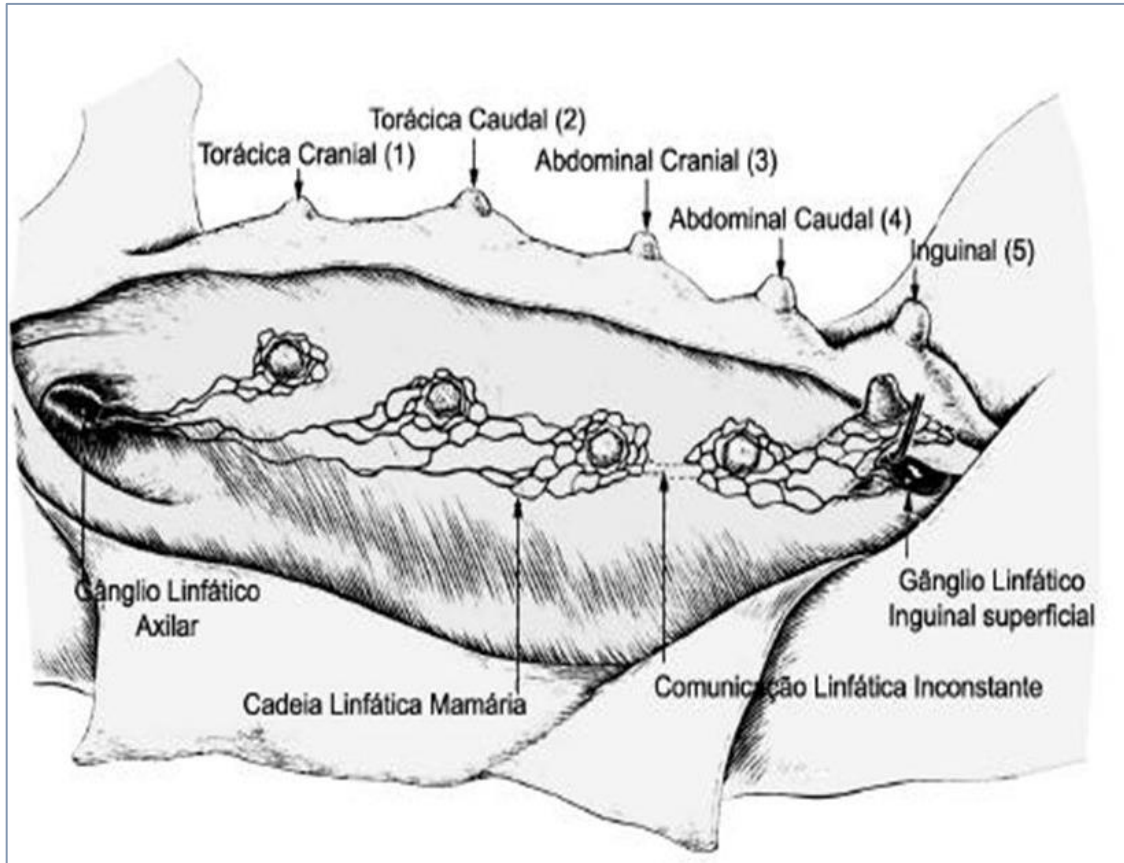


Figura 1. Ilustração da cadeia mamária e drenagem linfática da cadela. Fonte: QUEIROGA e LOPES (2002).

1.5 Diagnóstico e estadiamento TNM

O diagnóstico das neoplasias mamárias pode ser elaborado a partir da anamnese e exame físico detalhado do animal, além da colaboração de exames de imagem (ultrassonografia, radiografia, ressonância magnética, tomografia computadorizada, imunohistoquímica), essenciais na identificação de metástases em órgãos distantes, assim como a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) que auxilia na análise de invasão tumoral (ZEDDA et al., 2017).

Durante o exame físico, apesar dos nódulos mamários serem facilmente identificados na palpação das mamas, este exame deve sempre ser minucioso, já que os tumores malignos podem gerar metástases para vários órgãos (SOULTANI et al., 2016). Segundo Cassali et al. (2013) a palpação e inspeção do linfonodo regional deve ser parte essencial da rotina na avaliação de neoplasias mamárias em cadelas, pois a presença de metástases tem grande impacto no estadiamento neoplásico, na sobrevida e no tratamento do paciente.

As metástases de tumores mamários podem ocorrer por vias linfáticas através da invasão ativa de vasos linfáticos e migração de êmbolos tumorais para linfonodos e serem disseminadas para linfonodos regionais e medula óssea. Elas também podem ocorrer pela via hematogênica, onde as células neoplásicas malignas percorrem a circulação sanguínea através de capilares e vênulas regionais na forma de êmbolos, originários do foco primário para a circulação. Estes grupos de células fixam-se aos capilares de outros órgãos e infiltram-se nos tecidos circunvizinhos de órgãos como pulmões, fígado, baço, ossos, rins e coração (DIESSLER et al., 2016; DING; JIANG; WU, 2017). A existência de células neoplásicas em órgãos distantes e em linfonodos regionais é um fator prognóstico ruim (ANGELIM; COELHO, 2012).

Os exames de imagem e a citologia aspirativa por agulha fina, adotados para se identificar as metástases linfáticas e à distância são ferramentas fundamentais, mas não são conclusivas, tendo em vista que não possibilitam a identificação de micrometástases ou de aglomerados celulares com potencial invasivo (DING; JIANG; WU, 2017).

Sendo assim, o diagnóstico definitivo se dá através de avaliação histopatológica, que pode ser realizada por meio de biópsias incisionais ou excisionais da neoplasia ou tecido suspeito ou por exame imunohistoquímico (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Além do diagnóstico do tipo histológico da neoplasia é fundamental se identificar o grau e extensão da doença (BARBOSA et al., 2010). Para isso é feito o estadiamento clínico oncológico, adotado tanto para humanos quanto para animais baseado no sistema TNM proposto pela Organização Mundial da Saúde.

Esse sistema considera o tamanho do tumor (T) e fatores locais como aderência a pele (b) ou à musculatura subjacente (c), a presença ou ausência de linfonodos acometidos (N), e, por último, a presença de metástases à distância (M) (Quadro 1) (CASSALI et al., 2013; ETTLIN et al., 2017).

As combinações possíveis entre T, N e M, por sua vez originam o estadiamento clínico que varia de I a IV (Quadro 2) (CASSALI et al., 2013).

Quadro 1. Classificação TNM dos tumores de mama em cadelas.

Tumor (T)	T0 Sem evidência de tumor primário
	T1 Tumor < 3 cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
	T2 Tumor entre 3 e 5 cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
	T3 Tumor > 5 cm a: não aderido b: aderido à pele c: aderido ao músculo
	T4 Carcinoma inflamatório de qualquer tamanho
Linfonodos regionais (N)	N0 Sem metástase linfonodal inguinal ou axilar
	N1 Linfonodo ipsilateral envolvido a: não aderido b: aderido
	N2 Linfonodos bilaterais envolvidos a: não aderido b: aderido
Metástases (M)	M0 Sem metástase à distância
	M1 Metástases à distância, incluindo linfonodos distantes

Fonte: Cassali et al. (2013).

Quadro 2. Estadiamento clínico-histológico de tumores de mama em cadelas.

	T	N	M
Estádio I	T1 a, b ou c	N0, N1a ou N2a	M0
Estádio II	T0	N1	M0
	T1 a, b ou c	N1	
	T2 a, b ou c	N 0 ou N1a	
Estádio III	Todo T3	Qualquer N	M0
	Qualquer T	Todo N b	
Estádio IV	Todo T	Todo N	M1

Fonte: Cassali et al. (2013).

Entretanto, esse sistema de classificação não é utilizado em carcinomas inflamatórios em cadelas (DIESSLER et al., 2016), pois este tipo tumoral é definido a partir de critérios

clínicos, que incluem crescimento tumoral rápido, em forma de placa contínua, envolvendo normalmente mais de uma glândula mamária, associado à reação inflamatória intensa e difusa (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

1.6 Tratamento

Dentro da medicina veterinária, o padrão de tratamento para os tumores mamários é o cirúrgico, exceto no carcinoma inflamatório (CASSALI et al., 2013). O tipo tumoral, o estágio em que se encontra a neoplasia e as complicações sistêmicas devem ser consideradas para definir se a paciente está apta para a cirurgia (CAMPOS et al., 2011).

A terapia cirúrgica pode ser realizada com a mastectomia regional que é a remoção da glândula acometida e das glândulas adjacentes. A mastectomia total unilateral esquerda ou direita é realizada quando numerosos tumores são encontrados ao longo de uma cadeia mamária e há a remoção de todas as mamas dessa cadeia. A mastectomia bilateral é realizada quando as duas cadeias mamárias são acometidas por numerosas massas e nela todas as mamas de ambas as cadeias são removidas, porém, o fechamento da pele pode ser dificultado, estendendo o tempo cirúrgico e podendo ser necessária cicatrização por segunda intenção (FOSSUM et al., 2008; FELICIANO et al., 2012; CASSALI et al., 2013).

A mastectomia total unilateral tem sido a técnica cirúrgica de escolha, especialmente nos casos de neoplasias malignas, onde tanto a técnica cirúrgica quanto a quantidade de tecido mamário removidos dependem do tamanho, da localização e da consistência do tumor (FELICIANO et al., 2012).

A excisão da cadeia linfática inguinal é feita em monobloco devido sua proximidade à glândula mamária inguinal. Já a cadeia linfática axilar, ainda sendo uma grande disseminadora de metástases, não é abordada na rotina cirúrgica, exceto quando palpável (FOSSUM et al., 2008; EL KHATIB et al., 2011; CASSALI et al., 2013; BOUGHEY et al., 2013).

Embora, a recomendação seja de fazer a exérese dos linfonodos axilar e inguinal superficial, a invasividade e as restrições da técnica cirúrgica, não possibilitam que o procedimento cirúrgico seja realizado em todos os pacientes (MELO et al., 2017). Devido a isso, a detecção e a identificação desses linfonodos metastáticos precocemente, são de extrema importância no que diz respeito a favorecer o prognóstico, o tratamento e a sobrevida dos

animais afetados (PINHEIRO et al., 2003; PATSIKAS; KARAYANNOPOLOU; KALDRYMIDOY, 2006).

Em mulheres, antes que fosse possível se instituir técnicas cirúrgicas conservadoras, o tratamento cirúrgico padrão adotado em casos de neoplasia de mama em estágio inicial, consistia na linfadenectomia associada à mastectomia (VERONESI et al., 1999; ZENGEL et al., 2013).

Esta associação de técnicas se justifica pelo conhecimento de que o envolvimento linfonodal axilar está diretamente ligado ao prognóstico tumoral e é um dos fatores mais relevantes na recidiva e disseminação de tumores e na sobrevida do paciente (BULKOWSKA et al., 2018).

Entretanto, a dissecação de toda a cadeia linfonodal da axila pode levar ao comprometimento da drenagem regional (linfedema) e lesões de plexo braquial (alterações sensitivas no membro superior), seroma, restrição dos movimentos do ombro, alteração de elevação da escápula e até indução de novos tumores malignos como angiossarcomas (ZAHOOR et al., 2017). Por esse motivo, buscou-se técnicas que poderiam poupar a paciente e obter segurança na ressecção conservadora, como a técnica de identificação de linfonodos sentinelas (ANGELIM; COELHO, 2012).

Em cadelas, essas complicações que são corriqueiramente descritas em mulheres após a submissão à linfadenectomia são pouco incidentes e pouco relatadas, mas podem acontecer. De acordo com o “Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors”, o tratamento do tumor de mama consiste na excisão do mesmo, das glândulas mamárias da cadeia ipsilateral e dos linfonodos regionais (CASSALI et al., 2012).

Com relação ao carcinoma inflamatório, os tratamentos existentes (fármacos que controlem a dor e quimioterápicos) são paliativos visando qualidade de vida e sobrevida do paciente e a remoção cirúrgica é contraindicada por sua alta taxa de recidiva, além do que a sobrevida média de pacientes com este tipo tumoral é de apenas 60 dias após o diagnóstico (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Tratamentos adjuvantes como a quimioterapia são utilizados nos casos de neoplasias mamárias malignas em tumores de alto grau (adenocarcinomas de grau II ou III, carcinomas ou sarcomas indiferenciados), porém a grande variedade de tipos histológicos tumorais, e a pouca aceitação pelos proprietários limita seu uso em alguns casos (CASSALI et al., 2012; ZEDDA et al., 2017).

Os principais protocolos utilizados associam dois ou três fármacos e os antineoplásicos mais utilizados para o tratamento das neoplasias mamárias são a doxorrubicina, a ciclofosfamida e a carboplatina, além dos inibidores de COX-2 (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

A radioterapia e a hormonioterapia são ainda menos difundidas. A utilização de hormonioterapia pode ser uma opção de terapia adjuvante, ela é indicada na presença de receptores hormonais nos tumores mamários de cadelas, principalmente os benignos, porém mais estudos devem ser realizados nessa espécie (CASSALI et al., 2012; DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

1.7 Conceito de linfonodo sentinela

Os primeiros estudos concretos considerando a via linfática na progressão de uma neoplasia foram realizados em meados do século XVII, a partir da observação de células carcinomatosas em linfonodos regionais de mulheres com câncer de mama. Diante deste achado, pôde-se sugerir que a metástase nodal seria o primeiro passo para a disseminação da doença (BESERRA, 2016).

O linfonodo sentinela é o primeiro componente da cadeia linfática regional que recebe a linfa de um tumor primário, e por conta disso, é o primeiro a conter uma metástase e a revelar, por meio de biópsia do tecido, o *status* nodal. Sendo assim, quando não encontradas células neoplásicas na biópsia de linfonodo sentinela, provavelmente o restante da cadeia nodal também será negativa, indicando a não existência de metástases linfáticas (TUOHY et al., 2009; SOULTANI et al., 2016).

Entretanto, existe a possibilidade de que o linfonodo sentinela esteja livre de comprometimento metastático, enquanto os linfonodos seguintes sejam sede de metástases (metástases saltatórias). Porém, essa condição é rara, especialmente quando o tumor primário se encontra em estadió inicial de desenvolvimento (MENDES, 2008).

1.7.1 Técnica de biópsia do linfonodo sentinela

Nos últimos anos têm-se desenvolvido técnicas que auxiliem a identificar metástases e garantir o melhor prognóstico. Dentro disso, podemos encaixar a técnica de biópsia do

linfonodo sentinela, que tem sido utilizada em grande escala em mulheres com câncer de mama em todo o mundo, por se mostrar um excelente método auxiliar diagnóstico de envolvimento dos linfonodos axilares em tumores de estágio inicial (TAKAMARU et al., 2014).

Apesar da eficácia desta técnica, apenas após ensaios experimentais que visavam obter melhores resultados em mulheres, é que ela passou a ser utilizada em cadelas. Porém, pouco se conhece sobre a cadeia linfática e os respectivos linfonodos sentinela em cadelas, e no que as metástases nodais possam resultar na sobrevida desses pacientes (MAUÉS et al., 2016b).

Segundo Tuohy et al. (2009) e Cassali et al. (2012) na rotina clínica de pequenos animais, linfonodos são submetidos à punção ou biópsia se estiverem alterados à palpação, o que leva ao estadiamento inapropriado.

A biópsia do linfonodo sentinela é utilizada para detecção de micrometástases que disseminam células tumorais, formando focos microscópicos não detectáveis por exames de imagem (QUEIROGA; LOPES, 2002; BARBOSA et al., 2010; MAUÉS et al., 2016a).

O mapeamento, como se é denominado a técnica para identificação transoperatória dos linfonodos regionais, seja ela por aplicação direta no tecido tumoral ou peritumoral, consiste na detecção objetiva e individualizada dos linfonodos que drenam o tumor (CHARALAMPOUDIS; MARKOPOULOS; KOVACS, 2018). O conhecimento da drenagem tumoral no pré-operatório propicia oportunidade de estadiamento mais acurado, bem como de estudo mais aprofundado dos fatores prognósticos e preditivos (SORENMO et al., 2011).

Segundo Sorenmo et al. (2011) e Zahoor et al. (2017) os benefícios de auxiliar a identificação do linfonodo sentinela ou realizar o mapeamento são: facilitar a identificação dos nódulos linfáticos, minimizar as incisões cirúrgicas e aumentar a eficiência, especialmente quando avaliamos linfonodos axilares.

O mapeamento e os linfonodos drenantes só podem ser determinados mediante a utilização de contrastes (BESERRA, 2016). Existem diferentes técnicas para identificação e marcação de linfonodo sentinela, como traçadores radioativos e corantes (MAUÉS et al., 2016a).

Os principais problemas com os marcadores radioativos são sua complexidade tecnológica e alto custo, já os corantes são menos onerosos, especialmente nos sistemas públicos de saúde de países em desenvolvimento (VERONESI et al., 1999; SOULTANI et al., 2016; MELO et al., 2017).

Como a biópsia de linfonodo sentinela acarreta menores riscos e menor morbidade, vem ganhando adeptos em todo o mundo e atualmente é a técnica padrão no tratamento de pacientes com câncer da glândula mamária, pois permite que o comprometimento nodal seja diagnosticado com boa sensibilidade (BARBOSA et al., 2010; ZENGEL et al., 2013).

A detecção do linfonodo sentinela tem, portanto, o intuito de promover o conhecimento específico da drenagem linfática do tumor para que assim se torne uma opção segura e ofereça o tratamento conservador de regiões axilares e inguinais, por meio de excisões cirúrgicas mais poupadas, levando a menor morbidade no pós-operatório (ANGELIM; COELHO, 2012).

1.7.2 Corante azul patente

Hoje, o corante mais utilizado no Brasil e em grande parte da Europa é o azul patente V sódico a 2,5%. O azul patente pertence ao grupo dos triarilmetanos, com apenas um grupo hidroxila adicional, desenvolvido para utilização *in vivo*. É uma solução aquosa estéril e tamponada à concentração de 2,5 %, através de fosfato monossódico. Essa solução é tornada isotônica pela adição de cloreto de sódio (MELO et al., 2017).

A injeção subcutânea, conforme demonstrado em estudos, demarca, através de coloração azulada característica, em poucos minutos, veias e vasos linfáticos. A injeção intravenosa difunde a coloração azulada em todos tecidos e mucosas. Essa coloração desaparece de 24 a 48 horas após a aplicação (BESERRA, 2016).

A injeção intra-arterial marca seletivamente os tecidos e as mucosas do território correspondentes à artéria e permite delimitar a topografia da vascularização. Qualquer que seja a via de administração, a solução a 2,5 % de azul patente é eliminada de 24 a 48 horas pela bile, principalmente, e através da urina, que se cora fortemente (MAUÉS et al., 2016b; MELO et al., 2017).

Na técnica de marcação de linfonodos sentinela o corante é injetado de 5 a 10 minutos por via subcutânea antes do procedimento cirúrgico. O tempo nesse caso, é um fator importante, para se evitar que outros linfonodos sejam corados ou que o corante passe por todos os linfonodos regionais rápido demais e impossibilite a detecção do corante (ZENGEL et al., 2013).

As principais vantagens do uso deste corante são as altas taxas de detecção (em torno de 94%), simplicidade e facilidade de execução da técnica e baixo custo (o preço médio da

ampola de azul patente no Brasil é em torno de R\$ 33,04). As desvantagens estão relacionadas a eventuais reações alérgicas que podem acontecer (urticárias, laringoespasmos e choque anafilático), sendo raríssimas em mulheres e não descritas até o momento em cadelas (MELO et al., 2017).

Até o presente momento, as pesquisas para detecção de linfonodo sentinela com o uso do corante azul patente em cadelas portadoras de neoplasias de mama não foram totalmente esclarecedoras.

Os objetivos do presente estudo foram analisar a taxa de identificação do linfonodo sentinela através da marcação pelo corante azul patente com o intuito de encontrar possíveis metástases linfonodais encontradas no exame histopatológico e assim sendo possível definir uma ressecção adequada da cadeia linfática do tumor em cada paciente.

2. ARTIGO CIENTÍFICO

(Artigo de acordo com as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

Corante azul patente como identificador de linfonodo sentinela em cadelas com neoplasia de mama¹

Danielle Karine Schoenberger^{2*}, Gabriela Basílio Roberto³, Ana Carla da Costa Silva⁴, Andressa Hiromi Sagae⁴, Ana Caroline Ribas de Oliveira⁴, Liane Ziliotto³

ABSTRACT.- Schoenberger D. K., Roberto G. B., Silva A. C. C., Sagae A. H., Oliveira A. C. R., Ziliotto L. [Blue dye patent as sentinel lymph node identifier in bitches with breast neoplasm] Corante azul patente como identificador de linfonodo sentinela em cadelas com neoplasia de mama. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, Vila Bela, Guarapuava, PR 85040-080, Brazil. E-mail: danielle_karines@hotmail.com

Mammary gland tumours are one of the most common neoplastic disease in both women and intact female dogs. The lymph node status is an important predictor of clinical outcome, and the patient's survival decreases drastically when these lymph nodes are metastatic. However, there are no current and well-defined protocols for the staging and treatment of these metastases in bitches. Thus, the aims of this study are to elucidate the rate of sentinel node detection, as well as the ability to predict inguinal and axillary lymph node metastases in bitches with mammary cancer. Thus, twenty-three female dogs with breast mammary neoplasia and treated at the Veterinary School Clinic (CEVET) of UNICENTRO/Guarapuava-PR were recruited. The assessment protocol included data collection, physical examination, radiological, hematologic and surgery. After anesthetic induction, the intratumoral administration of the patent blue dye was performed. Pass ten minutes was monitored the dye migration and then a mastectomy was carried out according to the protocol of the service. Inguinal sentinel lymph nodes were marked in 93.33% of cases and the axillaries in 87.5%. The occurrence of lymph node metastasis was observed in 13.33% of inguinal lymph nodes. Despite the investigation of the inguinal sentinel lymph node does not change the surgical procedure protocol, since it is removed in monobloc at the mastectomy, the lymph node research can improve the lymph node staging on female dogs, without significant morbidity changes.

INDEX TERMS: Axillary lymph node, breast neoplasm, dogs, pathology.

¹Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

²Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Rua Simeão Camargo Varela de Sá 03, Vila Bela, Guarapuava, PR 85040-080, Brazil. *Autor para correspondência: danielle_karines@hotmail.com

³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Centro-Oeste. Rua Simeão Camargo Varela de Sá 03, Vila Bela, Guarapuava, PR 85040-340, Brazil.

⁴Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Rua Simeão Camargo Varela de Sá 03, Vila Bela, Guarapuava, PR 85040-080, Brazil.

RESUMO. - O tumor de mama é uma neoplasia de alta incidência tanto em mulheres quanto em cadelas. A situação na qual se encontram os linfonodos representa um importante fator prognóstico, sendo que a sobrevida dos animais diminui drasticamente quando há metástases linfonodais. Não há protocolos bem estabelecidos para o estadiamento e tratamento dessas metástases em cadelas. O objetivo deste trabalho foi elucidar a taxa de detecção do linfonodo sentinela, bem como sua capacidade em prever metástases linfonodais inguinais e axilares em cadelas portadoras de câncer de mama. Foram incluídas 23 cadelas portadoras de neoplasia de mama atendidas na Clínica Escola Veterinária (CEVET) da UNICENTRO/ Guarapuava- PR. O protocolo de atendimento incluiu coleta de dados, exame físico, radiológico, hematológico e cirurgia, conforme protocolo vigente desse serviço. Após indução anestésica, procedeu-se a injeção do corante azul patente intratumoral. Aguardaram-se 10 minutos para a migração do corante e em seguida procedeu-se a mastectomia conforme protocolo do serviço. Foram detectados linfonodos sentinela inguinal em 93,33% dos casos e axilar em 87,5%. A incidência de metástase linfonodal foi de 13,33% detectadas apenas em linfonodos inguinais. A pesquisa do linfonodo sentinela inguinal não muda a conduta cirúrgica, pois tal estação é retirada em monobloco na mastectomia. No entanto, a pesquisa do linfonodo axilar pode otimizar o estadiamento linfonodal das cadelas, sem acrescentar morbidade significativa ao procedimento.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Linfonodo axilar, tumor mamário, cães, patologia.

INTRODUÇÃO

As neoplasias ocorrem pelo acúmulo progressivo de mutações no genoma que induzem a interrupção dos mecanismos homeostáticos que regulam o crescimento, diferenciação e morte celular. Podem ser definidas como um conjunto de células que não respondem fisiologicamente aos mecanismos que controlam o crescimento celular, definidas como proliferação celular anormal e em excesso, não autônomo e intencional, que permanecem indeterminadamente e resultam no tumor (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007, 2007; ZUCCARI et al., 2016).

Estas alterações podem ser herdadas ou adquiridas, somaticamente, em consequência de processos endógenos ou da exposição aos vários fatores ambientais, como determinadas substâncias químicas, radiações ionizantes e vírus oncogênicos (BRASILEIRO FILHO; PEREIRA; GUIMARÃES, 2012).

No Brasil, as estimativas para o ano de 2019 em humanos são de 59.700 novos casos de neoplasias de mama, com um risco estimado de 56 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2018). Em cadelas, a incidência desses tumores corresponde a aproximadamente 25 a 50% de todas as neoplasias diagnosticadas na espécie, sendo a taxa de incidência anual de cadelas com neoplasia de mama de 198 em cada 100 mil animais (TEDARDI et al., 2016).

Além da alta ocorrência, comum às duas espécies, também observa-se um considerável paralelismo dos modelos tumorais de cães em comparação aos humanos (QUEIROGA et al., 2011), quanto as alterações bioquímicas, a expressão de proteínas e sequências de DNA para vários oncogenes já identificados, o que significa que os progressos tanto em medicina veterinária quanto em medicina humana nesta área, podem resultar em avanços significativos a ambas (RIVERA; VON EULER, 2011; SEILER; GRIFFITH, 2017; BULKOWSKA et al., 2018).

Os fatores descritos como de risco para o aparecimento de neoplasias mamárias compreendem a estimulação estrogênica, o uso de contraceptivos e a alimentação rica em gorduras, além de idade (animais entre sete e treze anos) e raça (TEDARDI et al., 2016).

Em torno de 70% das neoplasias mamárias em caninos e 80-96% dos tumores mamários felinos são malignos (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016), porém, neoplasias malignas e benignas podem existir ao mesmo tempo em um mesmo cão, que tenha mais de um tumor (LANA; RUTTMAN; WITHROW, 2007; TRAPP et al., 2010).

Nas cadelas, as glândulas mamárias estão divididas em regiões torácica, abdominal e inguinal, dispostas em duas cadeias (direita e esquerda) com, em geral, cinco pares de glândulas no total. São identificadas do sentido cranial para o caudal, sendo: torácicas craniais (M1), torácicas caudais (M2), abdominais craniais (M3), abdominais caudais (M4) e inguinais (M5) (FOSSUM et al., 2008).

Na drenagem linfática, a linfa geralmente flui dos três pares de mamas craniais em direção aos linfonodos axilares que se situam na face medial da porção distal do músculo redondo maior, anteriormente à artéria e veia toracodorsal (embora M3 possa drenar tanto para linfonodo axilar quanto para inguinal) e dos dois últimos pares de mama para linfonodos inguinais superficiais que estão localizados três centímetros cranialmente ao osso púbico na face dorsolateral das glândulas mamárias (PINHEIRO et al., 2003; FOSSUM et al., 2008).

No entanto, pode haver comunicação entre glândulas craniais e caudais do mesmo lado, assim como de lados opostos, por meio da reorganização da drenagem linfática causada por fatores prolinfangiogênicos presentes no sítio tumoral (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; EL KHATIB et al., 2011).

Durante o exame físico, apesar dos nódulos mamários serem facilmente identificados na palpação das mamas, este exame deve sempre ser minucioso, já que os tumores malignos podem gerar metástases para vários órgãos (SOULTANI et al., 2016).

Segundo Cassali et al. (2013) a palpação e inspeção do linfonodo regional deve ser parte essencial da rotina na avaliação de neoplasias mamárias em cadelas, pois a presença de metástases tem grande impacto no estadiamento neoplásico, na sobrevida e no tratamento do paciente.

Os exames de imagem e a citologia aspirativa por agulha fina, adotados para se identificar as metástases linfáticas e à distância são ferramentas fundamentais, mas não são conclusivas, tendo em vista que não possibilitam a identificação de micrometástases ou de aglomerados celulares com potencial invasivo (DING; JIANG; WU, 2017). Sendo assim, o diagnóstico definitivo se dá através de avaliação histopatológica, que pode ser realizada por meio de biópsias incisionais ou excisionais da neoplasia ou tecido suspeito ou por exame de imunohistoquímica (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016).

Além do diagnóstico do tipo histológico da neoplasia é fundamental se identificar a gravidade e extensão da doença. Para isso é feito o estadiamento clínico oncológico, adotado tanto para humanos quanto para animais e que se baseia no sistema TNM proposto pela Organização Mundial da Saúde. Esse sistema considera o tamanho do tumor (T) e fatores locais como aderência a pele (b) ou à musculatura subjacente (c), a presença ou ausência de linfonodos acometidos (N), e, por último, a presença de metástases à distância (M). As combinações possíveis entre T, N e M, por sua vez originam o estadiamento clínico que varia de I a IV (BARBOSA et al., 2010; CASSALI et al., 2013; ETTLIN et al., 2017).

Dentro da medicina veterinária, o padrão de tratamento para os tumores mamários é o cirúrgico, exceto no carcinoma inflamatório (CASSALI et al., 2013). O tipo tumoral, o estágio em que se encontra a neoplasia e as complicações sistêmicas devem ser consideradas para definir se a paciente está apta para a cirurgia (CAMPOS et al., 2011).

Embora, a recomendação seja de fazer a exérese dos linfonodos axilar e inguinal superficial, a invasividade e as restrições da técnica cirúrgica, não possibilitam que o procedimento cirúrgico seja realizado em todos os pacientes (MELO et al., 2017). Devido a isso, a detecção e a identificação desses linfonodos metastáticos precocemente, são de extrema importância no que diz respeito a favorecer o prognóstico, o tratamento e a sobrevida dos animais afetados (PINHEIRO et al., 2003; PATSIKAS; KARAYANNOPOLOU; KALDRYMIDOU, 2006).

Os primeiros estudos concretos considerando a via linfática na progressão de uma neoplasia foram realizados em meados do século XVII, a partir da observação de células carcinomatosas em linfonodos regionais de mulheres com câncer de mama. Diante deste achado, pode-se sugerir que a metástase nodal seria o primeiro passo para a disseminação da doença (BESERRA, 2016).

O linfonodo sentinela é o primeiro componente da cadeia linfática regional que recebe a linfa de um tumor primário, e por conta disso, é o primeiro a conter uma metástase e a revelar, por meio de biópsia do tecido, o *status* nodal. Sendo assim, quando não encontradas células neoplásicas na biópsia de linfonodo sentinela, provavelmente o restante da cadeia nodal também será negativa, indicando a não existência de metástases linfáticas (TUOHY et al., 2009; SOULTANI et al., 2016).

Entretanto, existe a possibilidade de que o linfonodo sentinela esteja livre de comprometimento metastático, enquanto os linfonodos seguintes sejam sede de metástases (metástases saltatórias). Porém, essa condição é rara, especialmente quando o tumor primário se encontra em estágio inicial de desenvolvimento (MENDES, 2008).

A técnica de biópsia do linfonodo sentinela têm sido utilizada em grande escala em mulheres com câncer de mama em todo o mundo, por se mostrar um excelente método auxiliar diagnóstico de envolvimento dos linfonodos axilares em tumores de estágio inicial (TAKAMARU et al., 2014).

A biópsia do linfonodo sentinela é utilizada para detecção de micrometástases ocultas que disseminam células tumorais, formando focos microscópicos não detectáveis por exames de imagem (BARBOSA et al., 2010; MAUÉS et al., 2016).

O mapeamento, como se é denominado a técnica para identificação transoperatória dos linfonodos regionais, seja ela por aplicação direta no tecido tumoral ou peritumoral, consiste na detecção objetiva e individualizada dos linfonodos que drenam o tumor (CHARALAMPOUDIS; MARKOPOULOS; KOVACS, 2018).

O mapeamento e os linfonodos drenantes só podem ser determinados mediante a utilização de contrastes (BESERRA, 2016). Existem diferentes técnicas para identificação e marcação de linfonodo sentinela, como traçadores radioativos e corantes (MAUÉS et al., 2016).

Hoje, o corante mais utilizado no Brasil e em grande parte da Europa é o azul patente V sódico a 2,5%. O azul patente pertence ao grupo dos triarilmetanos, com apenas um grupo hidroxila adicional, desenvolvido para utilização *in vivo*. É uma solução aquosa estéril e tamponada à concentração de 2,5 %, através de fosfato monossódico. Essa solução é tornada isotônica pela adição de cloreto de sódio (MELO et al., 2017).

A injeção subcutânea, conforme demonstrado em estudos, demarca, através de coloração azulada característica, em poucos minutos, veias e vasos linfáticos. A injeção intravenosa difunde a coloração azulada em todos tecidos e mucosas. Essa coloração desaparece de 24 a 48 horas após a aplicação (BESERRA, 2016). A injeção intra-arterial colore seletivamente os tecidos e as mucosas do território correspondentes à artéria e permite delimitar a topografia da vascularização. Qualquer que seja a via de administração, a solução a 2,5 % de azul patente é eliminada de 24 a 48 horas pela bile, principalmente, e através da urina, que se colore fortemente (PINHEIRO et al., 2003; MELO et al., 2017).

Até o presente momento, as pesquisas para detecção de linfonodo sentinela com o uso do corante azul patente em cadelas portadoras de neoplasias de mama não foram totalmente esclarecedoras.

Os objetivos do presente estudo foram analisar a taxa de identificação do linfonodo sentinela através da marcação pelo corante azul patente com o intuito de encontrar possíveis metástases linfonodais encontradas no exame histopatológico e assim sendo possível definir uma ressecção adequada da cadeia linfática do tumor em cada paciente.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais. Foram estudadas 23 cadelas com neoplasia mamária, entre seis e quinze anos de idade, provenientes da rotina da Clínica Escola Veterinária (CEVET) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO)/ Guarapuava- PR.

Os animais foram selecionados através de avaliação clínica em que além da anamnese e do exame físico eram realizados exames pré-operatórios (hemograma, creatinina e alanina aminotransferase) para avaliar se esses pacientes poderiam passar por tratamento cirúrgico; juntamente com exames radiográficos e/ou ultrassonográficos para pesquisa de metástases em órgãos distantes.

Na análise de ficha clínica foram coletados dados como: utilização de progestágenos exógenos, estadiamento tumoral, características do tumor (presença de ulceração, hemorragia, consistência e forma), número de mamas afetadas, tamanhos dos nódulos, idade e raça do animal.

Os pacientes que apresentaram alguma alteração nesses exames, como infecções uterinas, cardiopatias severas, alterações renais ou hepáticas, metástases ou apresentavam alguma outra alteração compatível com outro tipo de neoplasia, não fizeram parte do projeto. Aqueles selecionados como aptos foram então encaminhados para o serviço de cirurgia.

Protocolo anestésico. O protocolo anestésico utilizado foi com medicação pré-anestésica (metadona 0,3 mg/kg ou morfina 0,3 mg/kg, associadas ou não com clorpromazina 0,05 mg/kg ou midazolam 0,3 mg/kg I.M.), seguida de indução (propofol 5 mg/kg I.V.) e manutenção anestésica com isoflurano.

Técnica cirúrgica de remoção das neoplasias. As técnicas cirúrgicas realizadas nos animais foram adotadas de acordo com as mamas envolvidas e as características clínicas de cada paciente, sendo consideradas como opção: a mastectomia total unilateral ou a mastectomia regional.

Análise da migração do corante azul patente. O azul patente V a 2,5% foi injetado no transcirúrgico, para que se decorresse o tempo estimado para sua migração até os linfonodos (5-10 min), na dose de 2 mg/kg, aplicado intratumoral, em dois pontos distintos (como um relógio 6 e 12 horas). Em caso de tumores múltiplos, a injeção foi realizada ao redor da maior lesão. Após a aplicação, observava-se a migração ou não migração do corante, especialmente para linfonodo inguinal superficial e linfonodo axilar. Foram considerados linfonodos sentinelas positivos todos aqueles corados em azul e aos demais, que não haviam sido corados, nomeou-se sentinelas negativos.

Exame histopatológico. As mamas que passaram por exérese cirúrgica (toda a mama ou cadeia mamária) foram fixadas em formol a 10% por um período mínimo de 48 horas, e após este tempo foram enviadas para análise histopatológica. O material foi enviado para o laboratório VetPat¹ para realização dos exames e laudos histopatológicos, através da coloração de HE (Hematoxilina-Eosina).

Análise estatística. Foi feita a análise descritiva dos dados, com medidas de dispersão (média e desvio padrão) determinadas pelo programa Microsoft Office Excel® e estatística ANOVA (Analysis of Variance) com as diferenças estatísticas significativas consideradas pelo Teste de Tukey sendo $p \leq 0,05$. Foram consideradas as variáveis: raça, idade, peso, uso de progestágenos exógenos, pseudocieses, castração prévia, número e localização das glândulas mamárias acometidas, técnica cirúrgica adotada, acometimento linfonodal resultante do laudo histopatológico (positividade para metástases), detecção do linfonodo sentinela axilar e inguinal superficial pelo corante e positividade dos linfonodos sentinelas axilares e inguinais superficiais para metástases através do resultado do histopatológico.

RESULTADOS

Foram incluídas na pesquisa 23 cadelas, com idade média de $10,83 \pm 2,6$ anos, com peso médio de $10,45 \pm 7,4$ kg.

A raça que apresentou maior casuística dentre o grupo foi SRD (sem raça definida) (34,79%), seguida por Poodle (21,73%), Pinscher (13,04%), Lhasa Apso (8,69%) e Pitbull, Teckel, Cocker Spaniel, Beagle e Pastor Alemão (4,35%).

Em cinco pacientes (21,74%), foi observada a presença de ulcerações nos tumores e desses, a maior prevalência de neoplasias foi nas mamas inguinais (39,13%), porém, não houveram alterações estatísticas significativas entre esses dados ($p \geq 0,05$).

Das cadelas inclusas no estudo, apenas seis (26,09%) já tinham sido castradas eletivamente e uma (4,35%) em decorrência de piometra. Os outros dezesseis animais (69,56%) não haviam sido castrados até o momento da mastectomia.

Dos 23 animais que participaram do estudo, apenas dois (8,69%) apresentaram tumor em uma única mama, quatro (17,39%) apresentaram um tumor único envolvendo mais de uma mama, três (13,04%) apresentaram um ou mais tumores apenas na cadeia mamária direita, sete (30,43%) apresentaram um ou mais tumores apenas na cadeia mamária esquerda e treze (56,52%) apresentaram tumores em ambas as cadeias, sendo que, de todos os nódulos observados, as mamas mais acometidas foram a M3 (27,63%), M4 (19,73%) e M5 (26,31%).

Nenhum dos animais apresentou alteração em imagem radiográfica compatível com metástase, nem alterações significativas em exames sanguíneos (hemograma e bioquímicos), exceto que nos animais (1; 3; 7; 10; 12 e 23) observou-se leucocitose por neutrofilia correspondendo a 26,09% dos animais e entre esses e presença de ulcerações dos tumores não houve diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$).

Em relação ao acometimento clínico dos linfonodos (N), seis animais (26,09%) apresentavam acometimento clinicamente detectável à palpação em linfonodos ipsilaterais (N1), sendo que destes, quatro não estavam aderidos (N1a) e dois apresentavam-se aderidos (N1b).

A mastectomia total unilateral foi a de escolha em 78,26% dos casos e a mastectomia regional em 21,74% dos procedimentos realizados.

Na análise do corante azul patente, pôde-se visualizar facilmente a migração para linfonodo sentinela (Fig.1C e Fig.1.D) em vinte animais (91,3%) e não observado em dois (8,7%) animais. O corante foi facilmente aplicado por via intratumoral e logo em seguida, observava-se a dispersão do corante pela pele e subcutâneo, como mostra a Fig.1.A e Fig.1.B.

¹Endereço: Rua Coronel Manuel de Moraes, 146, Jd. Brasil, CEP:13073-022, Campinas/SP Fones: (19) 40629232/3500-2478 E-mail: contato@vetpat.com. Responsável técnico: Felipe Augusto Ruiz Sueiro, CRMV-SP 10800 – Laboratório Veterinário em Campinas – SP.

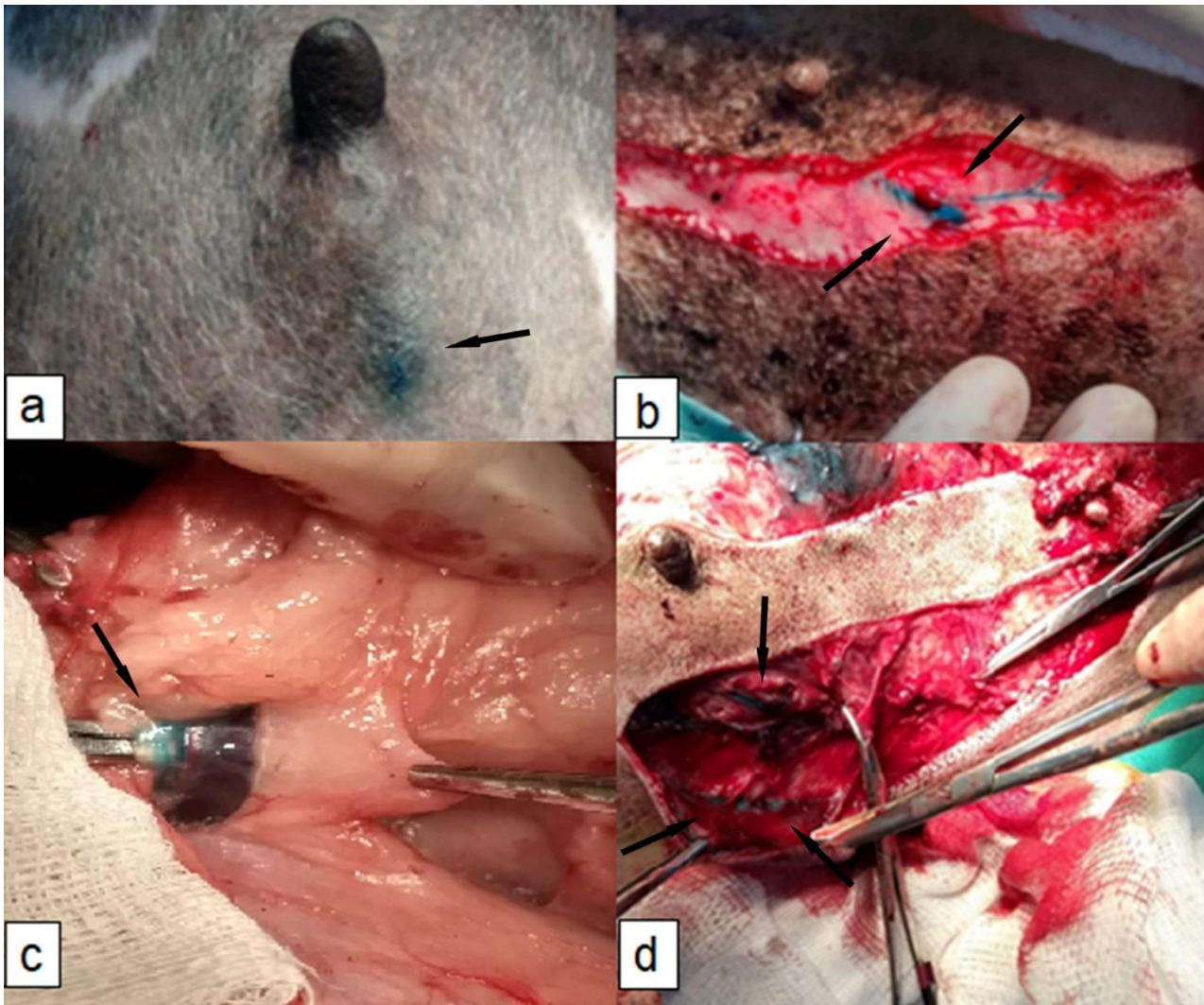


Fig.1. Imagem fotográfica da migração do corante azul patente através da pele intacta, subcutâneo e pelo sistema linfático do tumor até o linfonodo sentinela axilar e inguinal de dois animais distintos (setas). (A) Início da dispersão do corante após infiltração intratumoral ainda visível sobre a pele intacta. (B) Observação da migração subcutânea após aplicação do corante azul patente. (C) Observação da migração do corante azul patente para linfonodo inguinal superficial esquerdo ao lado observa-se a veia epigástrica caudal. (D) Observação da migração do corante azul patente para linfonodo axilar direito após aplicação em mama torácica caudal direita.

De acordo com o conhecimento da drenagem linfática das glândulas mamárias de cadelas e sabendo-se que essa drenagem pode ser modificada pela presença do tumor, considerando que o corante migraria de acordo com a drenagem linfática do tumor, o padrão de migração do linfonodo sentinela inguinal foi analisado em 15 situações (48,38%), tendo sido detectado (corado) em 14 casos (93,33%). Destes, considerando-se dois linfonodos inguinais que foram corados pelo azul patente e histologicamente metastáticos a incidência de metástase inguinal foi de 13,33%.

Em oito situações (25,8%) foram pesquisados o padrão de migração para linfonodo sentinela axilar, sendo que a taxa de detecção do corante nesse linfonodo aconteceu em sete (87,5%) casos. Apenas em um dos casos (12,5%) o linfonodo axilar foi removido junto ao restante da cadeia mamária e foi enviado a histopatologia. Não houve incidência de metástase nesse linfonodo.

Em oito situações (25,8%) onde foi avaliado o padrão de migração do corante aplicado na glândula mamária abdominal cranial (M3), que contém conexões inconstantes e portanto pode migrar para linfonodo axilar e/ou inguinal, em cinco casos (62,5%) houve migração para o linfonodo inguinal superficial, em dois casos (25%) houve migração para o linfonodo axilar e em um caso (12,5%) não houve migração do corante através dos linfonodos estudados, o que pode também estar relacionado ao fato da presença de êmbolos tumorais devido ao tamanho do tumor.

Não houve diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) quando comparados os três padrões de migração (linfonodo sentinela axilar, linfonodo sentinela inguinal superficial e mama abdominal cranial) com a aplicação do corante azul patente nessas três variáveis em diferentes animais independente da localização e tamanho do tumor, como mostra o Quadro 1, abaixo:

Quadro 1. Análise estatística comparando a média, o desvio padrão e o valor de p, entres os diferentes padrões de migração da drenagem linfática das 23 cadelas submetidas a mastectomia com aplicação do corante azul patente intratumoral no período de Julho de 2017 à Agosto de 2018, no município de Guarapuava/ PR

PM	N	Média	S	P
Linfonodo inguinal superficial	1 (13)	14,0963	6,93222	0,6093
	0 (10)	12,0528		
Linfonodo axilar	1 (8)	15,3073	6,81187	0,2613
	0 (15)	10,8414		
Mama abdominal cranial	1 (8)	14,8105	6,92548	0,4166
	0 (15)	11,3387		

*PM= padrão de migração do corante conforme a drenagem linfática de cadelas.

* N= número de animais avaliados (1) e não avaliados (0) para cada padrão de migração.

* Média= média padrão obtida pelo Teste de Tukey.

* S= desvio padrão.

* p= probabilidade de significância consideradas para $p \leq 0,05$.

O Quadro 2 ilustra de forma mais detalhada os resultados do projeto de pesquisa com seus principais achados: animais pesquisados, glândulas mamárias onde o corante azul patente foi aplicado, linfonodos clinicamente detectados, linfonodos detectados pelo corante azul patente e os linfonodos positivos para metástase (N).

Quadro 2. Principais resultados da pesquisa do linfonodo sentinela inguinal e axilar em 23 cadelas participantes do estudo e submetidas à mastectomia para pesquisa do linfonodo sentinela do período de Julho de 2017 a Agosto de 2018 na Clínica Escola Veterinária - CEVET, no município de Guarapuava/ PR

Animal	Mama(s) escolhida(s) para aplicação do azul patente	Alteração na palpação clínica do linfonodo	Linfonodos corados	Status nodal (N)	Estadio
1	D1	1 (axilar)	Axilar	-	III
2	E5	0	Inguinal	-	I
3	E5	0	Inguinal	-	I
4	D3	1 (inguinal)	Inguinal	-	I
5	D3	0	Inguinal	-	I
6	E2	1 (axilar)	Axilar	-	II
7	E5	0	Inguinal	-	II
8	E3, E4, E5*	0	Inguinal	-	III
9	D5	0	Inguinal	-	III
10	E2, E5**	0	Inguinal	Inguinal	III
11	D1, D5**	0	-	-	III
12	E3	2 (inguinal)	Axilar	-	II
13	D3	0	-	-	III
14	E4, E5*	0	Inguinal	Inguinal	III
15	D4	0	Inguinal	-	II
16	D4	0	Inguinal	-	II
17	E3, E4*	2 (inguinal)	Inguinal	-	III
18	D2	0	Axilar	-	I
19	E1, E4**	0	Axilar	-	I
20	E3	0	Inguinal	-	III
21	E5	0	Inguinal	-	II
22	D2, D3*	1 (axilar)	Axilar	-	III
23	D2	0	Axilar	-	I

Em dois animais (8,69%), os linfonodos não foram detectáveis ao exame clínico, mas foram corados pelo azul patente e se apresentaram como metastáticos ao exame histopatológico. Em seis animais (26,09%) onde os linfonodos estavam clinicamente reativos, não foram observadas metástases nodais no exame histopatológico.

Foram enviadas ao exame histopatológico, amostras de 19 animais, sendo que todos apresentaram neoplasias malignas ou benignas associadas com malignas como mostra o Quadro 3 abaixo. Como a maior parte das pacientes apresentou mais que um nódulo mamário, o total de lesões encaminhadas que obtiveram alterações morfológicas foram 61 mamas. Destas, 18 lesões eram benignas (29,51%) e 43 eram malignas (70,49%).

Nos dois animais (10 e 14) em que foram observadas metástases nodais, os tipos histológicos identificados foram carcinoma mamário papilífero, carcinoma mamário papilífero cístico e carcinoma mamário em tumor misto em vários graus de diferenciação.

Quadro 3. Subtipos histopatológicos e metástases linfonodais identificados em amostras de 19 animais participantes do estudo com corante azul patente no linfonodo sentinela do período de Julho de 2017 a Agosto de 2018 na Clínica Escola Veterinária - CEVET, no município de Guarapuava/ PR

Animal	Diagnóstico histopatológico	Metástase Linfonodal
1	Carcinoma mamário papilífero cístico grau III.	-
2	Carcinoma mamário em tumor misto grau I, Carcinoma mamário papilífero grau I, Adenose	-
3	Carcinoma mamário em tumor misto grau II	-
5	Carcinoma mamário em tumor misto grau II	-
6	Adenose, Carcinoma mamário em tumor misto grau I	-
7	Carcinoma mamário papilífero cístico grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau II	-
8	Carcinoma mamário papilífero cístico grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau I	-
9	Carcinoma mamário em tumor misto grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau I, Carcinoma mamário micropapilífero grau III.	-
10	Carcinoma mamário papilífero cístico grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau I, Carcinoma mamário em tumor misto grau III	Inguinal superficial esquerdo
12	Adenose, Carcinoma mamário em tumor misto grau II, Tumor mamário misto benigno, Carcinoma mamário em tumor misto grau II	-
13	Tumor mamário misto benigno, Carcinoma mamário papilífero grau III, Carcinoma mamário papilífero cístico grau II	-
14	Carcinoma mamário papilífero grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau III	Inguinal superficial esquerdo
15	Adenose, Carcinoma mamário em tumor misto grau I, Carcinoma mamário em tumor misto grau II, Carcinoma mamário papilífero	-
16	Adenose, Carcinoma mamário papilífero grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau II	-
17	Carcinoma mamário papilífero grau II, Adenose, Tumor mamário misto benigno	-
19	Carcinoma mamário tubular grau II, Carcinoma mamário papilífero cístico grau I, Carcinoma mamário papilífero grau II, Tumor mamário misto benigno.	-
20	Sarcoma estromal mamário, Adenose	-
21	Carcinoma mamário papilífero grau II, Carcinoma mamário em tumor misto grau I	-
22	Carcinoma mamário papilífero cístico grau I	-

DISCUSSÃO

Há uma alta incidência de neoplasias mamárias em cadelas (DE NARDI; FERREIRA; ASSUNÇÃO, 2016) contudo há carência de resultados padrões confiáveis sobre o uso de corantes em linfonodos sentinela em cadelas. Desta forma, os dados obtidos com este projeto pretendem somar conhecimentos à área de Oncologia Veterinária.

Na avaliação das características clínicas dos pacientes deste experimento foi encontrada idade média das cadelas de $10,83 \pm 2,6$ anos, sendo a maior incidência de cães sem raça definida. De acordo com a literatura a idade das cadelas com tumores de mama situa-se entre 9-11 anos (Oliveira Filho et al., 2010, Campos et al., 2011) com média de 10,1 anos (Silva et al., 2014) e desta forma o observado em nosso estudo não diverge do relatado.

No Brasil, um estudo recente conduzido por Andrade et al. (2017) sobre fatores clínicos de acometimento de neoplasias, elucidou as raças Poodle, Pinscher, Teckel, Pitbull como as mais predispostas a desenvolverem tumores de mama. Porém, em estudos realizados por Cassali et al. (2013), os tumores de mama acometeram mais comumente cães de idade média a avançada, sem predisposição de raça.

No presente estudo, 30,44% das cadelas já haviam sido castradas, porém não foi informada a época em que o procedimento foi realizado. Sabe-se a castração é um fator de proteção, mas que este efeito está diretamente relacionado com a idade em que é feita (BARROS et al., 2017) e desta forma a falta de informações dos proprietários sobre a idade específica da castração não permitiu a comparação com os dados observados na literatura.

As informações referentes ao uso de progestágenos e pseudociese nas pacientes atendidas durante o projeto nem sempre puderam ser respondidas de maneira adequada pelos proprietários. Da mesma forma como descrito por Cassali et al. (2013) e Barros et al. (2017), a população local, e o próprio perfil de atendimento da clínica, tem como característica muito comum a adoção de animais de rua ou mesmo por doação de pessoas próximas aos proprietários, e com isso muitos não possuem informações anteriores sobre o animal.

Nos exames pré-operatórios a única alteração constatada na pesquisa foi leucocitose por neutrofilia em seis animais (26,09%). Esse resultado encontra-se superior ao encontrado por Silva et al. (2014), que em seu estudo constataram essa alteração em 18,6% das pacientes. A leucocitose por neutrofilia averiguada neste estudo possivelmente reflete a condição inflamatória decorrente do tumor mamário, e à ulceração presente em alguns casos.

Quanto ao número de nódulos encontrados em cada animal, apenas dois animais (8,69%) apresentaram tumor em uma única mama, assim os animais que apresentaram dois ou mais nódulos somaram 91,31%. Esta alta ocorrência de múltiplos nódulos em um mesmo animal também foi relatada por Oliveira Filho et al. (2010) que encontraram tumores em mais de uma mama em 60% das cadelas estudadas e por Cassali et al. (2013) que documentaram em 70% mais de um tumor mamário no momento do diagnóstico.

As mamas inguinais (M5) foram as segundas mais afetadas (depois de M3). Embora Campos et al. (2011), descrevam que haja maior quantidade de parênquima mamário, bem como maior abundância de receptores hormonais nas mamas inguinais, observou-se maior número de nódulos nas mamas abdominais craniais.

Quanto à classificação histopatológica, 70,49% das lesões encontradas eram malignas e 29,51% benignas, resultado esse parecido com o encontrado por Pinheiro et al. (2003), que em sua pesquisa encontraram 71,8% de neoplasias malignas e 28,2% de benignas. Em nosso estudo, 97,68% das lesões malignas eram carcinomas, valor acima do encontrado em trabalho realizado Sorenmo et al. (2011) no qual os carcinomas representavam 70% das lesões malignas.

Entretanto, os dados observados na literatura sobre a incidência de tumores benignos e malignos é controversa, variando de 34 a 93% (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; CAMPOS et al., 2011). Segundo De Nardi, Ferreira e Assunção (2016) no Brasil o diagnóstico é mais tardio, pois é comum os proprietários relatarem lesões de muitos meses ou anos de evolução e que só buscaram atendimento após crescimento ou ulceração da lesão.

Na distribuição dos estadios clínicos, ficou evidente que 43,48% dos animais possuíam doença de estadio avançado III e 56,52% em estadios iniciais I e II. Sabe-se que, mesmo nos estadios iniciais, a sobrevida em cadelas com tumor de mama é de pouco meses (ARAÚJO et al., 2016). Ding, Jiang e Wu (2017) e Bulkowska et al. (2018) afirmam que o mesmo não ocorre na neoplasia mamária em mulheres, pois os estadios iniciais proporcionam sobrevida de mais de 90% em cinco anos.

A pesquisa do linfonodo sentinela é altamente eficaz em mulheres, sendo possível executá-la com azul patente, tecnécio radioativo ou a combinação de ambos, com taxa de sucesso acima de 94% (MELO et al., 2017).

Neste estudo, a taxa de detecção do linfonodo inguinal superficial foi de 93,33%, resultado este superior ao de Valadares (2015) no qual os resultados foram maiores que 73%. Convém ressaltar que nos casos em que o tumor é muito grande, pode haver um resultado falso negativo, devido ao bloqueio linfático causado por êmbolos tumorais (DIESSLER et al., 2016).

Já a taxa de marcação do linfonodo sentinela axilar foi de 87,5%, resultado também superior ao de um estudo realizado por Valadares (2015) para pesquisa de linfonodo sentinela em cadelas onde a taxa de detecção foi de 50%, um resultado que pode estar relacionado à maior incidência de tumores nas mamas inguinais, à não comunicação entre as mamas torácicas e inguinais (exceto na drenagem da mama abdominal cranial), além da dificuldade de visualização do linfonodo axilar, por proximidade com a vascularização e o plexo braquial (ZAHOR et al., 2017), porém que não foi o encontrado no presente estudo.

Durante a detecção do linfonodo sentinela com uso de azul patente, não houve nenhum em que o animal que apresentasse reação adversa à injeção com o corante neste estudo, assim como em estudos realizados por Pinheiro et al. (2003) e Valadares (2015).

As intercorrências quando observadas se devem ao fato do corante poder alterar o monitoramento trans e pós-operatório da saturação de oxigênio, variando de minutos a algumas horas e não implicando na evolução

pós-operatória imediata (BARBOSA et al., 2010). Em mulheres, as reações adversas ao corante azul patente são raras, atingindo 1% dos casos e são caracterizadas predominantemente por reações urticariformes (CHARALAMPOUDIS; MARKOPOULOS; KOVACS, 2018).

Considerando-se dois linfonodos inguinais metastáticos dos 14 que foram corados, a incidência de metástase inguinal foi de 13,33%. Metástases para linfonodos foram observadas por Oliveira Filho et al. (2010) em necropsia de 29,5% das cadelas com tumor maligno, tendo sido um único linfonodo acometido em 33,3% dos casos e mais de um linfonodo acometido 66,7% dos casos.

A condição dos linfonodos no exame clínico-patológico é um importante fator prognóstico, pois o tempo de sobrevivência é inferior a dois anos para 85,7% dos cães com metástases para linfonodos (ANGELIM; COELHO, 2012).

Importante ressaltar que, em dois casos, os linfonodos não estavam aumentados à palpação e continham metástases ao exame histopatológico. Tais casos não seriam detectados se não fosse pela técnica do linfonodo sentinela, o que justifica seu emprego durante mastectomia das cadelas.

CONCLUSÕES

A taxa de detecção, com o azul patente, do linfonodo sentinela inguinal superficial e do linfonodo axilar foi extremamente elevada nos casos pesquisados. Apesar da pesquisa do linfonodo inguinal superficial não alterar a conduta em relação à remoção cirúrgica (já que é abordado em monobloco na mastectomia), pode ser importante para o correto estadiamento em casos onde se espera um procedimento mais econômico. Entretanto, na pesquisa do linfonodo axilar, se aplica em todos os casos, já que o conteúdo axilar não é removido na rotina das diversas técnicas de mastectomias, sendo que auxilia na sua identificação, permitindo o envio do mesmo para histopatologia e então correto estadiamento do paciente.

REFERÊNCIAS

- Andrade M.B., Guimarães E.C., Coletto A.F., Soares N.P. & Medeiros-Ronchi A.A. 2017. Estudo retrospectivo de lesões mamárias em cadelas – Uberlândia, MG. *Acta Sci. Vet.* 45:1509.
- Angelim J.L. & Coelho M.C.O.C. 2012. Linfonodo sentinela: perspectivas no diagnóstico de metástase no câncer de mama em cadelas: Revisão. *Med. Vet.* 6(1):24-32.
- Araújo M.R., Campos L.C., Damasceno K.A., Gamba C.O., Ferreira E. & Cassali G.D. 2016. HER-2, EGFR, Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of canine mammary carcinomas: Association with clinical-pathological parameters and overall survival. 2016. *Res. Vet. Sci.* 106:121-130.
- Barbosa E.M., Francisco A.A.R.F., Neto J.T.A., Alves E.M.F.A., Tavares M.G.M. & Góes J.C.S. 2010. Fatores clínico-patológicos de predição do acometimento axilar em pacientes com metástases de câncer de mama no linfonodo sentinela. *Rev. Bras. Ginec. Obst.* 32(3):144-149.
- Barros J.C., Alexandre N.A., Carvalho L.L., Costa M.L., Nascimento M.R., Stupak E.C., Mariani O.M., Paulino Júnior D., Calazans S.G. & Dias F.G.G. 2017. Perfil de cães geriátricos acometidos por neoplasias: Estudo Retrospectivo de 75 casos. *Investigação.* 16(5):1-44.
- Beserra H.E.O. 2016. Linfonodo sentinela, p.129-132. In: Daleck C.R., De Nardi A.B. (Eds), *Oncologia em Cães e Gatos*. Vol.1. 2ªed. Roca, São Paulo.
- Brasileiro Filho G., Pereira, F.E.L. & Guimarães R.C. 2012. Distúrbios do crescimento e da diferenciação celular, p.219-276. In: Brasileiro Filho G. (Eds), *Bogliolo Patologia*. Vol.1. 8ªed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Bulkowska M., Rybicka A., Senses K.M., Ulewicz K., Witt K., Szymanska J., Taciak B., Klopffleisch R., Hellmén E., Dolka I., Gure A.O., Mucha J., Mikow M., Gizinski S. & Krol M. 2018. MicroRNA expression patterns in canine mammary cancer show significant differences between metastatic and nonmetastatic tumours. *Journ. Comp. Pathol.* 17(728):32-38.
- Campos C.B., Horta R.S., Cobucci G.C., Botelho F.P.R., Lavallo G.E. & Cassali G.D. 2011. Abordagem cirúrgica das neoplasias mamárias em pequenos animais: Perfil do paciente, comportamento e epidemiologia tumoral. *Vet. Zootec.* 18(2):7-12.
- Cassali G.D., Lavallo G.E., Ferreira E., Estrela-Lima A., De Nardi A. B., Ghever C., Sobral R. A., Amorim R.L., Oliveira L.O., Sueiro F.A.R., Beserra H.E.O., Bertagnolli A.C., Gamba C.O., Damasceno K.A., Campos C.B., Araujo M.R., Campos L.C., Monteiro L.N., Nunes F.C., Horta R.S., Reis D.C., Luvizotto M.C.R., Magalhães G.M., Raposo J.B., Ferreira A.M R., Tanaka N.M., Grandi F., Ubukata R., Batschinski K., Terra E.M., Salvador R.C.L., Jark P.C., Delecrodi J.E.R., Nascimento N.A., Silva D.N., Silva L.P., Ferreira K.C.R.S., Frehse M.S., Di Santis G.W., Silva E.O., Guim T.N., Kerr B., Cintra P.P., Silva F.B.F., Leite J.S., Mello M.F.V., Ferreira M.L.G., Fukumasu H., Salgado B.S. &

- Torres R. 2014. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013 Braz J Vet Pathol. 7(2):38-69.
- Charalampoudis P., Markopoulos C. & Kovacz T. 2018. Controversies and recommendations regarding sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: A comprehensive review of current data. Europ. Journ. Surgic. Oncol. 44(1):5-14.
- De Nardi A. B., Ferreira T.M.M.R. & Assunção K.A. 2016. Neoplasias mamárias, p.499-516. In: Daleck C.R., De Nardi A.B. (Eds), Oncologia em Cães e Gatos. Vol.1. 2ªed. Roca, São Paulo.
- Diessler M.E., Castellano M.C., Portiansky E.L., Burns S. & Idiart J.R. 2016. Canine mammary carcinomas: Influence of histological grade, vascular invasion, proliferation, microvessel density and VEGFR2 expression on lymph node status and survival time. Vet. Comp. Oncol. 15(2):450-461.
- Ding J., Jiang L. & Wu W. 2017. Predictive value of clinicopathological characteristics for sentinel lymph node metastasis in early breast cancer. Medical Science Monitor. 23:4102-4108.
- El Khatib E.M., Pires P.F.T.A., Lima A.F.K.T., Repetti C.S.F., Franco R.P. & Hataka A. 2011. Uso do azul de metileno na identificação do linfonodo sentinela em cadelas com neoplasias mamárias. Vet. Zootec. 18(2):60-65.
- Ettlin J., Clementi E., Amini P., Malbon A. & Markkanen E. 2017. Analysis of gene expression signatures in cancer-associated stroma from canine mammary tumours reveals molecular homology to human breast carcinomas. International Journal of Molecular Sciences. 18(5):1101-1120.
- Fossum T.W., Hedlund C. S., Hulse D. A., Johnson A.L., III Seim H.B., Willard M.D. & Carroll G.L. 2008. Cirurgia de Pequenos Animais. 2 ed. p. 1390. Roca, São Paulo.
- Inca – Instituto Nacional do Câncer. 2018. Estimativa de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 24 jul 2018.
- Lana S.E., Ruttman G.R. & Withrow S.J. 2007. Tumors of the Mammary Gland. 619 – 636. In: Withrow, S.J. & Vail D.M (Eds), Withrow & Macewen's Small Animal Clinical Oncology. 4ª ed. Elsevier, St Louis.
- Maués T., Israel C.B., Ferreira M.L.G. & Ferreira A.M.R. 2016. Uso do corante azul de metileno a 2% na localização do linfonodo axilar em cadelas (*Canis Familiaris* – Linnaeus, 1758). Braz. Journ. Vet. Res. Ani. Sci. 53(1):32-38.
- Melo A.F.B., Paulinelli R.R., Rahal R.M.S., Lucato M.T., Moreira M.M.R., Vilela M.H.T. & Freitas Junior R. 2017. Estudo randomizado prospectivo comparando o azul patente ao azul de metileno para a detecção do linfonodo sentinela em pacientes com câncer de mama. Rev. Assoc. Med. Bras. 63(2):118-123.
- Mendes S. 2008. Captação pelo carcinoma de mama e pelo linfonodo axilar de uma nanoemulsão lipídica administrada por injeção no tecido mamário local regional. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 70p.
- Oliveira Filho J.C., Kommers G.D., Masuda E.K., Marques B.M.F.P.P, Figuera R.A., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2010. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. Pesq. Vet. Bras. 30(2):177-185.
- Patsikas M.N., Karayannopolou E. & Kaldrymidoy L.G. 2006. The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. Anat. Histol. Embryol. 34(4):228-234.
- Pinheiro L.G.P., Moraes M.O., Soares, A.H., Lopes A.J.T., Naguère M.A.S.P., Gondim F.A.L., Brandão C.B., Nascimento D.C.H., Soares J.P.H. & Silva J.M.M. 2003. Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e Tecnécio Tc99m. Acta Cir. Bras. 18(6):545-552.
- Queiroga F., Raposo T., Carvalho M.I., Prada J. & Pires I. 2011. Canine mammary tumours as a model to study. Human Breast Cancer. 25:455-466.
- Rivera P. & Von Euler H. 2011. Molecular biological aspects on canine and human mammary tumours. Vet. Pathol. 48(132):132-146.

- Seiler G.S. & Griffith E. 2017. Comparisons between elastographic stiffness scores for benign versus malignant lymph nodes in dogs and cats. *Vet. Radiol. Ultras.* 59:79-88.
- Silva A.H.C., Silva D.M., Ribas C.R., Dittrich R.L., Dornbusch P.T. & Guérios S.D. 2014. Alterações no hemograma de cadelas com neoplasia mamária. *Ciênc. Anim. Bras.* 15(1):87-92.
- Sorenmo K.U., Rasotto R., Zappulli V. & Goldschmidt M.H. 2011. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Vet. Pathol.* 48(1): 85-97.
- Soultani C., Patsikas M.N., Karayannopoulou M., Jakovjevic S., Chryssogonidis I., Papazoglou L., Papaioannou N., Papadopoulou P., Pavlidou K., Ilia G.M. Kaitzis D.G. & Ilia T.M. 2016. Assessment of sentinel lymph node metastasis in canine mammary gland tumors using computed tomographic indirect lymphography. *Vet. Radiol. Ultras.* 58(2):186-196.
- Takamaru T., Kutomi G., Satomi F., Shima H., Ohno K., Kameshima H., Suzuki Y., Ohmura T., Takamaru H., Nojima M., Mori M. & Hirata K. 2014. Use of the dye-guided sentinel lymph node biopsy method alone for breast cancer metastasis to avoid unnecessary axillary lymph node dissection. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 7:456-460.
- Tedardi M.V., Kimura K.C., Mendonça P.P. & Dagli M.L.Z. 2016. Epidemiologia e Etiologia do câncer, p.1-28. In: Daleck C.R., De Nardi A.B. (Eds), *Oncologia em Cães e Gatos. Vol.1. 2ªed.* Roca, São Paulo.
- Trapp S.M., Iacuzio A.I., Barca Júnior F.A., Kemper B., Silva L.C., Okano W., Tanaka N.M, Grecco F.C.A.R, Cunha Filho L.F.C. & Sterza F.A.M. 2010. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. *Braz. Journ. Vet. Res. Anim. Sci.* 47(5):395-402.
- Tuohy J.L., Milgram J., Worley D.R. & Dernell W.S. 2009. A review of sentinel lymph node evaluation and the need for its incorporation into veterinary oncology. *Vet. Comp. Oncol.* 7(2):81-91.
- Valadares F.D. 2015. Pesquisa do linfonodo sentinela em cadelas portadoras de tumor de mama. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 57p.
- Zahoor S., Haji A., Battoo A., Qurieshi M., Mir W. & Shah M. 2017. Sentinel lymph node biopsy in breast câncer: A clinical review and update. *Journ. Breast Cancer.* 20(3):217-227.
- Zuccari D.A.P.C., Jardim-Perassi B.V., Lopes J.R., Colombo J. & Silva C.L. 2016. Biologia do Câncer, p.30-45. In: Daleck C.R., De Nardi A.B. (Eds), *Oncologia em Cães e Gatos. Vol.1. 2ªed.* Roca, São Paulo.

Legendas das Figuras

Fig.1. Imagem fotográfica da migração do corante azul patente através da pele intacta, subcutâneo e pelo sistema linfático do tumor até o linfonodo sentinela axilar e inguinal de dois animais distintos (setas). **(A)** Início da dispersão do corante após infiltração intratumoral ainda visível sobre a pele intacta. **(B)** Observação da migração subcutânea após aplicação do corante azul patente. **(C)** Observação da migração do corante azul patente para linfonodo inguinal superficial esquerdo ao lado observa-se a veia epigástrica caudal. **(D)** Observação da migração do corante azul patente para linfonodo axilar direito após aplicação em mama torácica caudal direita.

3. REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. B.; GUIMARÃES, E. C.; COLETO, A. F.; SOARES, N. P.; MEDEIROS-
RONCHI, A. A. Estudo retrospectivo de lesões mamárias em cadelas - Uberlândia, MG,
Brasil. **Acta Scientiae Veterinaria**, s.i., v. 45, n. 1509. 2017.

ANGELIM, J. L.; COELHO, M. C. O. C. Linfonodo sentinela: perspectivas no diagnóstico de
metástase no câncer de mama em cadelas: Revisão. **Medicina Veterinária**, v. 6, n.1, p. 24-32,
2012.

ARAÚJO, M. R.; CAMPOS, L. C.; DAMASCENO, K. A.; GAMBA, C. O.; FERREIRA, E.;
CASSALI, G. D. HER-2, EGFR, Cox-2 and Ki67 expression in lymph node metastasis of
canine mammary carcinomas: Association with clinical-pathological parameters and overall
survival. **Research In Veterinary Science**, [s.l.], v. 106, p.121-130, jun. 2016.

BARBOSA, E. M.; FRANCISCO, A. A. R. F.; NETO, J. T. A.; ALVES, E. M. F. A.;
TAVARES, M. G. M.; GÓES, J. C. S. Fatores clínico-patológicos de predição do acometimento
axilar em pacientes com metástases de câncer de mama no linfonodo sentinela. **Revista
Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 32, n. 3, p. 144-149, 2010.

BARROS, J. C.; ALEXANDRE, N. A.; CARVALHO, L. L.; COSTA, M. L.; NASCIMENTO,
M. R.; STUPAK, E. C.; MARIANI, O. M.; PAULINO JÚNIOR, D.; CALAZANS, S. G.;
DIAS, F. G. G. Perfil de cães geriátricos acometidos por neoplasias: estudo retrospectivo de 75
casos. **Investigação: I Simpósio de Oncogeriatrics em Pequenos Animais**, Franca, v. 16, n. 5.
2017.

BEAUVAIS, W.; CARDWELL, J. W.; BRODBELT, D. C. The effect of neutering on the risk
of mammary tumours in dogs – A systematic review. **Journal of Small Animal Practice**, vol.
53, p. 314-322, 2012.

BESERRA, H. E. O. 2016. Linfonodo Sentinela, p. 129-132. In: Daleck, C. R., De Nardi, A. B.
(Eds), **Oncologia em Cães e Gatos**. Vol. 1. 2ª ed. Roca, 2016.

BOCARD, M.; DABUS, D. M. M.; TENTRIN, T. C.; LIMA, G. S.; BARIANI, M. H.
Influência hormonal na carcinogênese mamária em cadelas. **Revista Científica Eletrônica de
Medicina Veterinária**: Ano VI, n.11, São Paulo, 2008.

BOUGHEY, J. C.; SUMAN, V. J.; MITTENDORF, E. A.; AHRENDT, G. M.; WILKE, L. G.;
TABACK, B.; LEITCH, M.; KUERER, H. M.; BOWLING, M.; FLIPPOMORTON, T. S.;
BYRD, D. R.; OLLILA, D. W.; JULIAN, T. B.; McLAUGHLIN, S. A.; McCALL, L.;
SYMMANS, F.; LE-PETROSS, H. T.; HAFFTY, B. G.; BUCHHOLZ, T. A.; NELSON, H.;
HUNT, K. K. Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy in patients with
node-positive breast cancer. **Clinical Trial**, v. 310, n. 14, p. 1455-1461, 2013.

BRASILEIRO FILHO, G.; PEREIRA, F. E. L.; GUIMARÃES, R. C. Distúrbios do
crescimento e da diferenciação celular. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 8.ed.
Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012. Cap.8, p. 219-276.

BULKOWSKA, M.; RYBICKA, A.; SENSES, K. M.; ULEWICZ, K.; WITT, K.; SZYMANSKA, J.; TACIAK, B.; KLOPFLEISCH, R.; HELLMÉN, E.; DOLKA, I.; GURE, A. O.; MUCHA, J.; MIKOW, M.; GIZINSKI, S.; KROL, M. MicroRNA expression patterns in canine mammary cancer show significant differences between metastatic and nonmetastatic tumours. Warsaw, v. 17, n.728. 2017. **Journal of Comparative Pathology**, v. 158, p. 32-38, 2018.

CAMPOS, C. B.; HORTA, R. S.; COBUCCI, G. C.; BOTELHO, F. P. R.; LAVALLE, G. E.; CASSALI, G. D. Abordagem cirúrgica das neoplasias mamárias em pequenos animais: perfil do paciente, comportamento e epidemiologia tumoral. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.2, p.7-12, 2011.

CASSALI, G. D.; BERTAGNOLLI, A. C.; FERREIRA, E.; DAMASCENO, K. A.; GAMBA, C. O.; CAMPOS, C. B. Canine mammary mixed tumours: A review. **Veterinary Medicine International**, v. 18, n. 35, p. 25-37, 2012.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; NARDI, A. B. DE; FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; ESTRELA-LIMA, A.; ALESSI, A. C.; DALECK, C. R.; SALGADO, B. S.; FERNANDES, C. G.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; AULER, P. A.; MAGALHÃES, G. M.; SILVA, J. O.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, L. O.; MALM, C.; ZUCCARI, D. A. P. C.; TANAKA, N. M.; RIBEIRO, L. R.; CAMPOS, L. C.; SOUZA, C. M. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors – 2013. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, Botucatu, v. 7, n. 2, p. 38-69, 2013.

CHARALAMPOUDIS, P.; MARKOPOULOS, C.; KOVACS, T. Controversies and recommendations regarding sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: A comprehensive review of current data. **European Journal Of Surgical Oncology**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.5-14, jan. 2018.

DE NARDI, A. B.; FERREIRA, T. M. M. R.; ASSUNÇÃO, K. A. 2016. Neoplasias Mamárias, p. 499-516. In: Daleck, C. R., De Nardi, A. B. (Eds), **Oncologia em Cães e Gatos**. Vol. 1., 2ª ed. Roca, 2016.

DISSLER, M. E.; CASTELLANO, M. C.; PORTIANSKY, E. L.; BURNS, S.; IDIART, J. R. Canine mammary carcinomas: influence of histological grade, vascular invasion, proliferation, microvessel density and VEGFR2 expression on lymph node status and survival time. **Veterinary and Comparative Oncology**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.450-461, 1 fev. 2016.

DING, J.; JIANG, L.; WU, W. Predictive value of clinicopathological characteristics for sentinel lymph node metastasis in early breast cancer. **Medical Science Monitor**, [s.l.], v. 23, p.4102-4108, 25 ago. 2017.

EL KHATIB, E. M.; PIRES, P. F. T. A.; LIMA, A. F. K. T.; REPETTI, C. S. F.; FRANCO, R. P.; HATAKA, A. Uso do azul de metileno na identificação do linfonodo sentinela em cadelas com neoplasias mamárias. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.2, p.60-65, 2011.

ETTLIN, J.; CLEMENTI, E.; AMINI, P.; MALBON, A.; MARKKANEN, E. Analysis of gene expression signatures in cancer-associated stroma from canine mammary tumours reveals molecular homology to human breast carcinomas. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.1101-1120, 20 maio 2017.

FELICIANO, M. A. R.; JOÃO. C. F.; CARDILLI. D. J.; CRIVELARO, R. M.; VICENTE, W. R. R. Neoplasia mamária em cadelas: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano IX. nº 18. 2012.

FOSSUM, T. W.; HEDLUND, C. S.; JOHNSON, A. L.; SCHULZ, K. S.; SEIM, H. B.; WILLARD, M. D.; BAHR, A.; CARROLL, G. L. **Cirurgia de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 1606p.

GOEBEL, K.; MERNER, N. D. A monograph proposing the use of canine mammary tumours as a model for the study of hereditary breast cancer susceptibility genes in humans. **Veterinary Medicine And Science**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.51-62, 21 mar. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. INCA. **Estatística nacional do câncer**. 2014. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>>. Acesso em: 23 maio 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. INCA. **Estimativa de câncer no Brasil**. 2018. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 24 jul 2018.

LANA, S. E.; RUTTMAN, G. R.; WITHROW, S. J. 2007. Tumors of the Mammary Gland. 619 – 636. In: Withrow, S.J. & Vail D.M (Eds), **Withrow & Macewen's Small Animal Clinical Oncology**. 4ª ed. Elsevier, St Louis.

A) MAUÉS, T.; ISRAEL, C. B.; FERREIRA, M. L. G.; FERREIRA, A. M. R. Uso do corante azul de metileno a 2% na localização do linfonodo axilar em cadelas (*Canis familiaris* – Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, São Paulo, v. 53, n. 1, p.32-38, 12 abr. 2016.

B) MAUÉS, T.; FERREIRA, M. L. G.; FERREIRA, A. M. R.; LEITE, J. S. Avaliação histopatológica dos linfonodos axilares e inguinais superficiais em cadelas (*Canis familiaris*) submetidas à mastectomia terapêutica. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 23, n. 3, p. 419-429, set. 2016.

MELO, A. F. B.; PAULINELLI, R. R.; RAHAL, R. M. S.; LUCATO, M.; T.; MOREIRA, M. M. R.; VILELA, M. H. T.; FREITAS JUNIOR, R. Estudo randomizado prospectivo comparando o azul patente ao azul de metileno para a detecção do linfonodo sentinela em pacientes com câncer de mama. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 118-123, 2017.

MENDES, S. **Captação pelo carcinoma de mama e pelo linfonodo axilar de uma nanoemulsão lipídica administrada por injeção no tecido mamário locorreional**. 2008. 70 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA FILHO, J. C.; KOMMERS, G. D.; MASUDA, E. K.; MARQUES, B. M. F. P. P.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, 2010.

PATSIKAS, M. N.; KARAYANNOPOULOU, E.; KALDRYMIDOY, L. G. The Lymph Drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. **Anatomy, Histology e Embriology**, Berlin, v. 34, n. 4, p. 228–234, 2006.

PINHEIRO, L. G. P.; MORAES, M. O.; SOARES, A. H.; LOPES, A. J. T.; NAGUÉRE, M. A. S. P.; GONDIM, F. A. L.; BRANDÃO, C. B.; NASCIMENTO, D. C. H.; SOARES, J. P. H.; SILVA, J. M. M. Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e Tecnécio Tc99m. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n. 6, 2003.

PINHO, M. **Biologia Molecular do Câncer: fundamentos para a prática médica**. 1.ed. Rio de Janeiro. Revinter Ltda, 2005. Cap.10, p.155-162.

QUEIROGA, F.; LOPES, C. Tumores mamários caninos – Novas perspectivas. In: Congresso de Ciências Veterinárias, 2002, SPCV, Oeiras, 10-12 Outubro, p. 183-190.

QUEIROGA, F. L.; RAPOSO, T.; CARVALHO, M. I.; PRADA, J.; PIRES, I. Canine mammary tumours as a model to study. **Human Breast Cancer: Most Recent Finding.**, v. 25, p. 455-466, 2011.

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

SEILER, G. S.; GRIFFITH, E. Comparisons between elastographic stiffness scores for benign versus malignant lymph nodes in dogs and cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 59, p. 79-88, 2017.

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

SOULTANI, C.; PATSIKAS, M. N.; KARAYANNOPOULOU, M.; JAKOVLJEVIC, S.; CHRYSOGONIDIS, I.; PAPAIOANNOU, N.; PAPADOPOULOU, P.; PAVLIDOU, K.; ILIA, G. M.; KAITZIS, D. G.; ILIA, T. M. Assessment of sentinel lymph node metastasis in canine mammary gland tumors using computed tomographic indirect lymphography. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, [s.l.], v. 58, n. 2, p.186-196, 23 dez. 2016.

TAKAMARU, T.; KUTOMI, G.; SATOMI, F.; SHIMA, H.; OHNO, K.; KAMESHIMA, H.; SUZUKI, Y.; OHMURA, T.; TAKAMARU, H.; NOJIMA, M.; MORI, M.; HIRATA, K. Use of the dye-guided sentinel lymph node biopsy method alone for breast cancer metastasis to avoid unnecessary axillary lymph node dissection. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 7, p. 456-460, 2014.

TEDARDI, M. V.; KIMURA, K. C.; MENDONÇA, P. P.; DAGLI, M. L. Z. 2016. Epidemiologia e Etiologia do Câncer, p. 1-28. In: Daleck, C. R., De Nardi, A. B. (Eds), **Oncologia em Cães e Gatos**. Vol. 1. 2ª ed. Roca, 2016.

TRAPP, S. M.; IACUZIO, A. I.; BARCA JUNIOR, F. A.; KEMPER, B.; SILVA, L. C.; OKANO, W.; TANAKA, N. M.; GRECCO, F. C. A. R.; CUNHA FILHO, L. F. C.; STERZA, F. A. M. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 395-402, 2010.

TUOHY, J. L.; MILGRAM, J.; WORLEY, D. R.; DERNELL, W. S. A review of sentinel lymph node evaluation and the need for its incorporation into veterinary oncology. **Veterinary and Comparative Oncology**, Medford, v. 7, n. 2, p. 81-91, 2009.

VERONESI, U.; PAGANELLI, G.; VIALE, G.; GALIMBERTI, V.; LUINI, A.; ZURRIDA, S.; ROBERTSON, C.; SACCHINI, V.; VERONESI, P.; ORVIETO, E.; DE CICCO, C.; INTRA, M.; TOSI, G.; SCARPA, D. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. **Journal of The National Cancer Institute**, v. 91, n. 4, p. 368-373, 1999.

ZAHOOR, S.; HAJI, A.; BATTOO, A.; QURIESHI, M.; MIR, W.; SHAH, M. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: A clinical review and update. **Journal Of Breast Cancer**, [s.l.], v. 20, n. 3, p.217-227, 2017.

ZEDDA, M. T.; BOGLIOLO, L.; ANTUOFERMO, E.; FALCHI L.; ARIU, F.; BURRAI, G. P.; PAU, S. Hypoluteoidism in a dog associated with recurrent mammary fibroadenoma stimulated by progestin therapy. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s.l.], v. 59, n. 1, 6 set. 2017.

ZENGEL, B.; YARARBAS, U.; SIRINCAK, A.; OZKOK, G.; DENECLI, A. G.; POSTACI, H.; USLU, A.; Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: review on various methodological approaches. **Tumor**, v. 99, n. 2, p. 149-53, 2013.

ZUCCARI, D. A. P. C.; JARDIM-PERASSI, B. V.; LOPES, J. R.; COLOMBO, J.; SILVA, C. L. Biologia do Câncer, p. 30-45. In: Daleck, C. R., De Nardi, A. B. (Eds), **Oncologia em Cães e Gatos**. Vol. 1. 2ª ed. Roca, 2016.