

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO - PR**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE DOSAGEM DO  
MARCADOR TUMORAL CA 15-3 EM CADELAS  
(*Canis lupus familiaris*) HÍGIDAS E COM NEOPLASIA  
MAMÁRIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**GABRIELA BASILIO ROBERTO**

**GUARAPUAVA - PR**

**2016**

**GABRIELA BASILIO ROBERTO**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE DOSAGEM DO  
MARCADOR TUMORAL CA 15-3 EM CADELAS  
(*Canis lupus familiaris*) HÍGIDAS E COM NEOPLASIA  
MAMÁRIA**

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.

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

Orientador(a)

GUARAPUAVA-PR

2016

Ficha elaborada pela Biblioteca da Unicentro-Guarapuava, Campus Santa Cruz

Roberto, Gabriela Basilio  
R639a Avaliação comparativa de dosagem do marcador tumoral CA 15-3 em  
cadelas (*Canis lupus familiaris*) hígdas e com neoplasia mamária /  
Gabriela Basilio Roberto.– Guarapuava: Unicentro, 2016.  
xiv, 42 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias; área de  
concentração: Saúde e Produção Animal Sustentável.  
Orientadora: Profa. Dra. Liane Zilotto;  
Banca examinadora: Prof. Dr. Felipe Augusto Ruiz Sueiro, Profa. Dra  
Giuliana Gelbcke Kasecker, Profa. Dra. Alexandra Pinheiro Fantinatti.

Bibliografia

1. Eletroquimioluminescência. 2. Prognóstico. 3. Mastectomia. 4. Cadela  
5. Cadelas Hígdas. 6. Neoplasia Mamária. I. Título. II. Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 20. ed. 636.701

GABRIELA BASILIO ROBERTO


**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE DOSAGEM DO MARCADOR TUMORAL CA 15-3 EM CADELAS (*Canis lupus familiaris*) HÍGIDAS E COM NEOPLASIA MAMÁRIA**

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 19 de Dezembro de 2016.



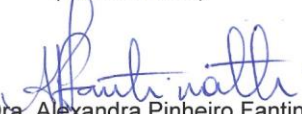
Profa. Dra. Liane Ziliotto  
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Felipe Augusto Ruiz Sueiro  
(Instituto Qualittos de Pós-Graduação)



Profa. Dra. Giuliana Gelbcke Kasecker  
(UNICENTRO)



Profa. Dra. Alexandra Pinheiro Fantinatti  
(Instituto Qualittos de Pós-Graduação)

GUARAPUAVA-PR  
2016

## FOLHA DE APROVAÇÃO DO CEUA

### Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

#### COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 022/2015 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 11 de Setembro de 2015

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: "**Avaliação comparativa de dosagem do marcador tumoral CA 15 – 3 em cadelas (*Canis lupus familiaris*) híginas e com neoplasia mamária**". parecer do protocolo 023/2015 foi analisado e considerado **Aprovado** pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição no dia 11 de Setembro de 2015..

2.Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao 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 ao CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

–Os **Relatórios Finais** deverão ser encaminhados ao 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 do CEUA.

Pesquisadora: Prof.ª. Drª. Gabriela Basilio Roberto  
Atenciosamente,

A Senhora  
Prof.ª. Drª. Gabriela Basilio Roberto  
UNICENTRO-CEDETEG

*Larissa S. Bernardi*  
**Larissa Sakis Bernardi**  
Presidente do CEUA  
Por. 729/2015-GR/UNICENTRO

“Ao meu esposo, pelo companheirismo, compreensão e  
por estar ao meu lado nos bons e maus momentos”

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, pela oportunidade que me proporcionou de realizar o sonho do mestrado e pela força e fé que me concedeu todos os dias. Agradecer toda minha família pelo apoio durante esses dois anos de estudo e pesquisa, em especial meu pai e minha mãe, que sempre acreditaram nos meus sonhos. Um especial e imenso agradecimento ao meu esposo, pela paciência e companheirismo nas horas difíceis em que o experimento ou a dissertação não deram certo e também a felicidade que compartilhou comigo nos momentos de alegria. Agradecer meus amigos, que me aguentaram nos momentos de crise e desespero, e comemoraram comigo minhas pequenas conquistas. Quero agradecer aos meus professores do mestrado, sem os quais esse trabalho não seria possível, agradecer por seu empenho e dedicação para nos ensinar, nos fazer pensar para que possamos nos tornar agentes críticos e transformadores da sociedade. Não posso deixar de citar a professora Dr<sup>a</sup>. Margarete Kimie Falbo, tanto pela sua participação nessa formação como docente, mas também pelo apoio na pesquisa junto com os demais colegas do laboratório de Patologia Clínica. Também a professora Dr<sup>a</sup>. Meire Christina Seki pelo auxílio na execução da pesquisa e confecção de inúmeros trabalhos durante esses dois anos, tenho muito a agradecer a ajuda e também todos os colegas do laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNICENTRO. A professora Nádia Cristine Weinert pela colaboração durante a confecção da dissertação. A professora Fátima Maria Caetano Caldeira pelos conselhos e os momentos de descontração que muito me ajudaram nas horas de dificuldade. Quero deixar meu agradecimento a todos os colegas da Clínica Escola Veterinária – CEVET e também os demais professores do Departamento de Medicina Veterinária – DEVET, que de alguma forma vieram a somar nessa minha jornada. E em especial a professora Dr<sup>a</sup>. Liane Ziliotto, minha orientadora e amiga, que muito me ensinou, desde a graduação, e a cada dia me inspira mais a buscar conhecimento e a melhorar, o meu muito obrigada, pelos seus conselhos e puxões de orelha, que me fizeram crescer e amadurecer para essa carreira que muito me encanta. E por último não poderia deixar de citar o meu querido mestre e amigo o professor Dr. Marcos Vinicius Tranquilim, que infelizmente nos deixou no início do meu mestrado, mas que foi um dos meus maiores incentivadores para que eu iniciasse mais essa fase da minha vida, e que durante o mestrado, mesmo não estando perto fisicamente, sei que estava espiritualmente me guiando, como sempre fez.

“Viva como se fosse morrer amanhã.  
Aprenda como se fosse viver pra sempre.”  
Mahatma Gandhi



## RESUMO

Gabriela Basilio Roberto. Avaliação comparativa de dosagem do marcador tumoral CA 15-3 em cadelas (*Canis lupus familiaris*) híginas e com neoplasia mamária

O antígeno CA 15-3 é uma proteína presente no soro utilizado no acompanhamento de mulheres com câncer de mama, essencialmente na detecção de metástases. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a efetividade e a viabilidade da utilização do marcador tumoral CA 15-3 em cadelas, comparando-se os valores do marcador entre cadelas sem e com neoplasia mamária, avaliando-se alterações nos valores do marcador após a mastectomia, e suas correlações entre o tipo histológico. Este estudo fez a quantificação sérica do marcador tumoral CA 15-3 (teste de eletroquimioluminescência), em vinte cadelas híginas (grupo controle) e vinte cadelas com neoplasia mamária (grupo teste), os animais com neoplasia tiveram a dosagem do marcador realizada antes e 10 dias após a mastectomia. Também foram realizados exames histopatológicos dos tumores para posterior comparação dos dados. Os valores encontrados do marcador no grupo controle foram uma média de  $0,19 \pm 0,39$  U/mL; no grupo pré-mastectomia  $1,56 \pm 0,39$  U/mL e pós-mastectomia  $0,66 \pm 0,27$  U/mL. Em análise estatística com a comparação de grupo pré e pós-mastectomia, e do grupo controle com o grupo pré e pós-mastectomia observou-se significância com  $p \leq 0,005$ . Assim, observou-se diferença nos valores do marcador antes e depois da remoção cirúrgica da neoplasia, indicando importante função no controle pós mastectomia individual. Porém há muita variação dos resultados nos diferentes métodos existentes, e não há ainda um padrão dos valores de referência para cada método, sendo necessários mais estudos sobre o uso dos marcadores.

**Palavras-Chave:** Eletroquimioluminescência; Prognóstico; Mastectomia

## ABSTRACT

Gabriela Basilio Roberto. Comparative evaluation of tumor marker CA 15-3 dosage in dogs (*Canis lupus familiaris*) intact healthy and breast cancer

The CA 15-3 antigen is a protein present in the serum, used to monitoring women with breast cancer, mainly in metastatic disease detection. The objectives of this study were to evaluate the effectiveness and feasibility of using the CA 15-3 tumor marker in dogs, comparing the marker values between dogs with and without breast cancer, estimating changes in marker values after mastectomy, and their correlation between the histological types. In this study, the serum quantification of tumor marker CA 15-3 (electrochemiluminescence test) was made in twenty intact healthy dogs (control group) and twenty bitches with mammary neoplasia (patient group), animals with cancer had the content of the tracer performed before and 10 days after mastectomy. Also histopathology of tumors for subsequent comparison of the data were performed. The values of the marker in the control group were an average of  $0.19 + 0.39$  U/mL; pre-mastectomy group  $1.56 + 0.39$  U/mL and post-mastectomy  $0.66 + 0.27$  U/mL. The statistic was performed by comparison between groups pre and post-mastectomy and the control group comparisons with the group pre and post-mastectomy with statistical significance  $p \leq 0.005$  in both tests . Thus, there is a difference in marker values before and after the surgical removal of the neoplasia, indicating a significant role in post mastectomy individual control. But there is much variation results in the different existing methods, and there is still a standard reference values for each method, more research is needed on the use of markers.

**Keywords:** Electrochemiluminescence; Prognosis; Mastectomy

**LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

CEVET: Clínica Escola Veterinária

cm: Centímetro

EGF-R: Fatores de crescimento epidérmico

ER: Receptores de estrogénio

G: Grau de malignidade tumoral

LOG: Logaritmo

M: Metástase à distância

MUC – 1: Mucina

MPA: Medicação pré-anestésica

N: Linfonodos metastáticos

OSH: Ovariosolpingohisterectomia

PR: Receptores de progesterona

PRL-R: Receptores de prolactina

T: Tamanho do tumor

U/mL: Unidade internacional por mililitro

**LISTA DE QUADRO**

Quadro 1 - Valores séricos individuais numéricos de CA 15-3 de cada grupo de animais encontrados no experimento e valores da média $\pm$ desvio padrão, mediana e erro padrão encontrados no experimento, através do método de eletroquimioluminescência, Guarapuava-PR, 2015.....	31
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Imagem fotográfica de quatro pacientes que participaram do projeto (grupo teste), demonstrando a variedade de apresentação clínica das neoplasias. A e B representam nódulos pequenos, sem ulceração em apenas uma mama. C e D estágio mais avançado da doença, com neoplasias grandes o ulceradas cometendo mais de uma mama..... 30
- Figura 2 - Figura 2: Gráfico demonstrativo dos valores do marcador CA 15-3 representados em média e erro padrão do grupo teste (pré e pós-mastectomia) (n=20) e do grupo controle (n=20), encontrados no experimento, através do método de eletroquimioluminescência. Guarapuava/PR, 2015..... 32

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução e Revisão bibliográfica.....</b>	<b>15</b>
1.1 Epidemiologia.....	16
1.2 Fatores de risco.....	17
1.3 Diagnóstico.....	19
1.4 Tratamento.....	21
1.5 Marcadores Tumerais.....	22
<b>2. Artigo científico.....</b>	<b>25</b>
Abstract.....	26
Resumo.....	26
Introdução.....	27
Material e Métodos.....	28
Resultados.....	29
Discussão.....	32
Conclusões.....	34
Referências.....	34
<b>3. Referências.....</b>	<b>37</b>
<b>4. Anexos.....</b>	<b>42</b>

## **1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA**

Define-se neoplasia como o crescimento celular em que ocorre alteração permanente e hereditária nas células de maneira errônea. A proliferação celular anormal excessiva, intencional e não autônoma, que continua indefinidamente devido os efeitos da neoplasia em crescimento gera o tumor (RODASKI e PIEKARS, 2009; BICALHO, 2012). Essa proliferação celular anormal que escapa do controle de crescimento e do sistema imunológico pode caracterizar o câncer (ARAÚJO, 2013; WITHROW e MACEWEN, 2007).

Em geral, é durante a fase de progressão tumoral que a maioria das células adquire um fenótipo mais agressivo, invadindo tecidos adjacentes e formando metástases, as quais caracterizam as neoplasias malignas (BICALHO, 2012; RODASKI e PIEKARS, 2009).

### **1.1 Epidemiologia**

A neoplasia mamária em humanos é o segundo tipo de câncer mais comum, depois do de pele, correspondendo a cerca de 30% dos novos casos anuais. Em 2013 ela foi responsável pela morte de 14206 mulheres e 181 homens. E a estimativa para 2016 é de 54960 novos casos (INCA, 2016).

Com alta incidência nas mulheres, as neoplasias mamárias são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo (RIBEIRO, 2012) e são muito comuns em cães onde representam a neoplasia mais comum em cadelas inteiras, alcançando de 50% a 70% de todos os tumores que acometem uma população, tendo um impacto muito grande em medicina veterinária (LANA et al., 2007; CASSALI et al., 2014). Além da sua importância em medicina veterinária é ainda muito investigada, principalmente por servir de modelo para o estudo do câncer de mama na mulher (FELICIANO et al., 2012; GARRIDO, 2011).

Sua ocorrência varia conforme a característica da população, como o hábito de realizar a ovarioparingectomia em animais jovens, a idade e a raça dos cães (LANA et al., 2007). Um estudo realizado no Reino Unido revelou a incidência de 205 casos de neoplasia mamária a cada 100.000 cães (LANA et al., 2007). No Brasil, Daleck et al. (1998), afirmam que os tumores de mama acometem cães de idade média a avançada, sem predisposição de raça ou idade.

Quanto ao tipo histológico, aproximadamente 35% a 50% das neoplasias mamárias em caninos e 90% dos tumores mamários felinos são malignos (FOSSUM et al., 2008; CIRILO, 2008), e, os indivíduos da espécie canina que apresentam vários nódulos, podem possuir neoplasias malignas e benignas ao mesmo tempo (OLIVEIRA et al., 2003; WITHROW e



MACEWEN, 2007). Os nódulos benignos representam cerca de 50% das neoplasias mamárias caninas, e os tipos histológicos geralmente encontrados são: adenomas, tumores mesenquimais benignos e fibroadenomas. Já nos nódulos malignos, a ocorrência mais comum é do carcinoma, mas o sarcoma e o carcinosarcoma também podem ocorrer (FOSSUM et al., 2008; FELICIANO et al., 2012). E sabe-se que o carcinoma de mama em mulheres é frequentemente associado com a doença óssea metastática (O'BRIEN et al., 1992).

A variedade de tipos histológicos neoplásicos ocorre devido ao local de início de desenvolvimento da neoplasia e acredita-se que ela se inicia como lesão benigna e progride para neoplasias malignas (LANA et al., 2007).

## **1.2 Fatores de risco**

Existem semelhanças nas alterações bioquímicas, na epidemiologia e na clínica entre cães e humanos com neoplasias mamárias. Entre elas estão a idade, a disseminação de metástase pulmonar e para outros órgãos, a maior incidência de tumores malignos oriundos de células epiteliais e, como fator de risco, o aumento no período de exposição a estrógenos endógenos e exógenos (GARRIDO, 2011).

Os fatores de risco já identificados para os nódulos de mama em cadelas são: idade, exposição hormonal e raça. Em menor grau, a dieta e o peso corporal ou a obesidade podem também contribuir para o risco (LANA et al., 2007). As características clínicas como faixa etária de aparecimento (mais comum é entre 7 a 13 anos de idade), morfologia, efeito protetor da ovariectomia (OSH), presença de receptores de estrógeno e progesterona na massa tumoral, órgãos alvo de metástase, evolução clínica e a hereditariedade em alguns casos são as mais citadas (FELICIANO et al., 2012; LANA et al., 2007).

O efeito hormonal para o desenvolvimento da neoplasia mamária pode ser avaliado pela incidência do desenvolvimento tumoral e sua relação com a fase hormonal em que as fêmeas são submetidas à ovariectomia (FELICIANO et al., 2012; BICALHO, 2012). A castração antes do primeiro estro reduz o risco de neoplasia mamária a menos de 0,5% (LANA et al., 2007; FOSSUM et al., 2008). Este risco aumenta para 8% após o primeiro ciclo estral e para 26% após o segundo cio (FOSSUM et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2003; FONSECA e DALECK, 2000).

A influência hormonal descrita também pode ser avaliada pelo fato de muitos estudos terem comprovado a presença de receptores de estrogênio (ER), progesterona (PR),

prolactina (PRL-R), e fatores de crescimento epidérmico (EGF-R) nas glândulas mamárias normais ou em portadores de tumores mamários benignos e malignos (MISDORP, 2002). Porém, a maioria dos estudos não mostra, na maioria dos casos, nenhum efeito protetor da OSH realizada após os quatro anos de idade. Suspeita-se que a ausência do efeito protetor após este período seja pelos maiores efeitos dos hormônios ovarianos na glândula mamária ocorrerem durante o seu desenvolvimento (LANA et al., 2007).

Esses achados também podem explicar por que outros fatores, que resultam em variação fisiológica com influência hormonal sobre os tecidos mamários como gestação, ou parto, que ocorrem normalmente depois de algum ciclo estral, assim como a gestação psicológica, não influenciam significativamente o risco de tumor (LANA et al., 2007; DALECK et al., 1998). Entretanto, comprovou-se que a exposição a doses farmacológicas de hormônios exógenos são capazes de aumentar o risco de desenvolvimento de tumores mamários em cães, tornando a risco 2,3 vezes maior de desenvolvimento de neoplasia mamária (LANA et al., 2007; MISDORP, 2002).

As raças de cães mais susceptíveis ao desenvolvimento das neoplasias mamárias são as de pequeno porte como poodle; chihuahuas, daschshunds, yorkshire terriers, maltese e cocker spaniels. Estes dados são principalmente de pesquisas nos EUA, havendo divergências quanto as raças com maior risco de tumor mamário em outros países (LANA et al., 2007).

Outros fatores de risco já conhecidos são: peso corporal, dieta com alto teor de gordura e carne vermelha no início da vida, onde se observou que em mulheres aumentam o risco de câncer de mama (LANA et al., 2007). Em cadelas, a obesidade até o primeiro ano de vida é uma das causas de predisposição de tumor mamário. Esta predisposição pode ser decorrente do aumento de depósito de gordura, e esta uma fonte de aumento da produção de andrógenos, com sua conversão em estrógeno (ZUCCARI et al., 2001). O estrógeno e a progesterona induzem as expansões de lóbulos e ductos epiteliais, levando a expansão da glândula mamária. (LANA et al., 2007; BICALHO, 1012). Desta forma, a exposição hormonal é importante no desenvolvimento tumoral, observando-se que os tumores benignos são mais propensos do que os tumores malignos a manter os receptores hormonais, tanto os receptores de estrógeno como os de progesterona (LANA et al., 2007; FOSSUM et al., 2008).

Ainda, sabe-se que animais jovens, inteiros e em estro possuem mais receptores hormonais que cães idosos e em anestro. Essa variação dos receptores hormonais auxilia na avaliação tumoral pela imuno-histoquímica pelo fato de tumores benignos apresentarem maior

número de receptores hormonais que os tumores malignos (WITHROW e MACEWEN, 2007).

### **1.3 Diagnóstico**

Quanto ao diagnóstico clínico das neoplasias mamárias, o tumor de mama é facilmente diagnosticado ao exame físico e a glândula mamária deve ser palpada para tentar se observar qualquer anormalidade (CASSALI et al., 2014).

Um estudo recente documentou que 70% das fêmeas intactas tinham mais de um tumor mamário no momento do diagnóstico e as glândulas mamárias inguinais eram mais frequentemente acometidas que as torácicas (LANA et al., 2007; CASSALI et al., 2014). Normalmente observam-se nódulos de tamanhos variados e firmes, que podem estar associados à pele ulcerada ou inflamada (CASSALI et al., 2014).

Apesar dos nódulos mamários serem facilmente identificados, o exame físico deve ser minucioso já que os tumores malignos podem gerar metástases para vários órgãos, sendo os linfonodos regionais e os pulmões os mais comumente afetados (DALECK et al., 1998). A avaliação de metástases distantes, principalmente pulmonares, deve ser realizada sempre nos pacientes com neoplasia mamária antes da indicação cirúrgica (CASSALI et al., 2014). Os órgãos de predileção para o desenvolvimento de metástase são os linfonodos e pulmões, contudo as metástases distantes podem envolver também fígado, ossos (LANA et al., 2007), glândula adrenal, rins, coração, cérebro e pele (FOSSUM et al., 2008).

A citologia aspirativa por agulha fina é um bom exame para se avaliar o acometimento de linfonodos, e em caso de resultado positivo, o linfonodo deve ser retirado durante o procedimento cirúrgico (CASSALI et al., 2014; DALECK et al., 1998).

Para o estadiamento clínico é necessário no mínimo exame de sangue completo (com hemograma e perfil bioquímico sérico), três projeções radiográficas torácicas e citologia por aspiração com agulha fina de linfonodos ou órgãos suspeitos (LANA et al., 2007). Este estadiamento se dá pela avaliação do tamanho do tumor (T), da presença ou não de linfonodos metastáticos (N) e da presença ou não de metástases à distância (M). O estadiamento das neoplasias mamárias é disposto em estágios de I a V, de acordo com o tamanho do tumor e presença ou não de metástases. Assim, de acordo com o tamanho do tumor eles são classificados em estágios I, II e III, onde tumores com menos de 3 cm correspondem ao estágio I, com 3 a 5 cm estágio II e maiores de 5 cm estágio III. Quando o paciente possui

metástase linfática é considerado estágio IV e quando possui metástase a distância é classificado como estágio V. Esse mecanismo classificatório é utilizado para tumores epiteliais, não para sarcomas ou carcinomas inflamatórios (LANA et al., 2007).

O carcinoma inflamatório (carcinoma anaplásico com infiltração inflamatória) é um tipo raro de tumor de mama, que pode ser confundido com mastite ou dermatites, pois apresenta edema, calor e dor associados (LANA et al., 2007). Este tipo tumoral é definido a partir de critérios clínicos, que incluem crescimento tumoral rápido, em forma de placa contínua, invadindo vasos linfáticos, envolvendo normalmente mais de uma glândula mamária, associado à reação inflamatória intensa e difusa (RIBEIRO, 2012; FOSSUM et al., 2008).

O diagnóstico definitivo do tipo de tumor é possível por meio de microscopia, por citologia ou histopatologia. A avaliação histopatológica pode ser realizada por meio de biopsias ou excisões da neoplasia em sua totalidade (MISDROP et al., 2002; SAKAMOTO, 2011).

A radiografia de tórax e ultrassonografia abdominal são procedimentos rotineiros na veterinária como auxílio no diagnóstico e prognóstico, e na avaliação em casos de suspeita de metástases à distância (CAVALCANTI e CASSALI, 2006). Ainda na categoria de exames de imagem temos a tomografia computadorizada e a ressonância magnética que apresentam maior acurácia na detecção de metástases e na avaliação de invasão tumoral (ALEXANDER et al., 2012).

Mais recentemente a imuno-histoquímica tem revolucionado o diagnóstico na oncologia, pois, além do auxílio ao diagnóstico de vários tipos de neoplasia, a imuno-histoquímica tem permitido a identificação de diferentes tipos de marcadores (enzimas, receptores, outros produtos de genes, etc.) que estão relacionados ao comportamento biológico das neoplasias tanto em mulheres como em cadelas (ZUCCARI et al., 2009).

#### **1.4 Tratamento**

A remoção cirúrgica é a primeira linha de tratamento para tumor de mama em cadelas, exceto no carcinoma inflamatório (CASSALI et al., 2014). O tipo do tumor, o estágio da doença e os sinais sistêmicos devem ser averiguados, para se definir se a paciente está apta ou não para o tratamento cirúrgico (LANA et al., 2007).

A mastectomia total unilateral tem sido a terapia cirúrgica de escolha, principalmente nos casos de neoplasias malignas, onde tanto a técnica cirúrgica escolhida para a remoção do tumor quanto a quantidade de tecido mamário retirados dependem do tamanho do tumor, localização e sua consistência (DALECK et al., 1998; FELICIANO et al., 2012). O desafio na preparação e indicação do melhor procedimento cirúrgico para cada paciente é a falta de ensaios clínicos mais amplos e uniformes que esclareçam a extensão da excisão cirúrgica mais indicada: lumpectomia simples, mastectomia unilateral, mastectomia regional ou mastectomia bilateral (LANA et al., 2007). A mastectomia regional é a remoção da glândula acometida e das glândulas adjacentes. A mastectomia unilateral é realizada quando numerosos tumores são encontrados ao longo da cadeia e há a remoção de todas as mamas de uma mesma cadeia mamária. 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, entretanto, o fechamento da pele pode ser dificultado, aumentando o tempo cirúrgico, podendo ser necessária cicatrização por segunda intenção (FELICIANO et al., 2012; CASSALI et al., 2014).

Em relação ao carcinoma inflamatório, até o momento, os tratamentos existentes são apenas paliativos e a exérese cirúrgica é contraindicada por sua alta taxa de recidiva, e ainda apresentando sobrevida média de apenas 60 dias após o diagnóstico (RIBEIRO, 2012; LANA et al., 2007). Nesse caso o tratamento com a associação de fármacos para o controle da dor, com quimioterapia é indicado, na tentativa de aumentar a sobrevida e a qualidade de vida do paciente (CASSALI et al., 2014)

A terapia antineoplásica pode ser auxiliar no controle de alguns tumores malignos sendo que os antiestrogênicos, a antiprogesterina ou a antiprolactinas são alguns dos fármacos utilizados. Entretanto, os protocolos de quimioterapia antineoplásica e a radioterapia apresentam baixa efetividade para as neoplasias mamárias em animais de companhia, sendo que a ovariectomia é muito utilizada em substituição aos fármacos acima citados (FELICIANO et al., 2012; CIRILO, 2008). A quimioterapia tem sido usada como terapia adjuvante nos casos de neoplasias mamárias malignas em alguns casos principalmente em tumores muito indiferenciados (adenocarcinomas de grau II ou III, carcinomas ou sarcomas indiferenciados), porém a grande variedade de tipos tumorais, e a pouca aceitação pelos proprietários limita seu uso em alguns casos (CASSALI et al., 2014; CIRILO, 2008).

Os principais protocolos utilizados associam dois ou três fármacos. Os quimioterápicos mais utilizados para o tratamento das neoplasias mamárias são a doxorubicina, a ciclofosfamida e o 5-Fluorouracil (CIRILO, 2008).

A radioterapia e hormonioterapia são métodos alternativos ainda pouco adotados na medicina veterinária (NOVOSAD, 2003). A utilização de hormonioterapia pode ser uma opção de terapia adjuvante, ela é indicada pela presença de receptores hormonais nos tumores mamários de cadelas, principalmente os benignos, porém mais estudos devem ser realizados nessa espécie (GOLDHIRSCH, 2005).

### **1.5 Marcadores tumorais**

Os marcadores tumorais podem ser componentes estruturais, bioquímicos e celulares presentes tanto em células tumorais como normais. Eles podem ser intermediários, que medem as alterações celulares antes do aparecimento de doença maligna e marcadores diagnósticos que estão presentes em associação a ela (CAPELOZZI, 2001).

São em sua maioria proteínas ou pedaços de proteínas também conhecidos por marcadores biológicos, presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos. A formação e o crescimento de células neoplásicas levam ao aparecimento e ou alterações em suas concentrações (ALMEIDA et al., 2007; MATTOS et al., 2005; SOUZA, 2002). Essas macromoléculas podem ser formadas pela neoplasia, ou podem ser referentes a resposta no organismo à presença no tumor (ARAÚJO, 2013) e podem ser quantificados ou detectados por testes bioquímicos ou imunoistoquímicos (MATTOS et al., 2005)

Os marcadores mucinosos e de tipo mucinosos mais estudados hoje são: CA 125, CA 15-3, CEA (carcinoembrionário) e CA 19-9 (SOUZA, 2002). A mucina (MUC 1), é um complexo glicoprotéico gigante que localiza-se extracelularmente, porém sua função exata nas células normais ainda está em discussão. Nas células malignas, a presença da mucina está elevada, e sua dosagem no sangue pode indicar a ocorrência de neoplasias, e determinar a presença de doença recidivante, progressão ou avaliar a resposta à terapia (MANUALI et al., 2012; SOUZA, 2002).

A avaliação dos marcadores tumorais para definição de prognóstico do câncer de mama tem avançado significativamente nos últimos anos (EISENBERG e KOIFMAN, 2001). Recentemente, o antígeno CA 15-3 tem sido utilizado no acompanhamento de mulheres com câncer de mama, principalmente na detecção de metástases, antes mesmo do surgimento de

manifestações clínicas, sendo o mais sensível atualmente (BICALHO, 2012; GERAGHTY et al., 1992; LOPEZ et al., 2012). Este marcador é uma glicoproteína formada pelas células epiteliais glandulares, sendo em humanos seu valor de referência de 25 U/mL, onde se acredita até o momento que apenas 1,3% da população apresente CA 15-3 elevado, sem a ocorrência da neoplasia mamária (ALMEIDA et al., 2007).

Assim, o aumento superior a 25% na concentração do marcador está relacionado a evolução da doença em até 90% dos casos, em contrapartida, uma redução na concentração está associada à regressão em até 80% dos casos (ALMEIDA, 2006). Silveira (2005), relata ainda que níveis muito elevados desse marcador estão associados à pior prognóstico e sobrevida reduzida.

Baseados nestes conhecimentos, Almeida et al. (2007) recomendaram que a dosagem do CA 15-3 fosse efetuada antes do tratamento, após 2 a 4 semanas do tratamento (cirúrgico ou quimioterápico) e um acompanhamento a cada 3 a 6 meses.

Os níveis de CA 15-3 elevados também podem ser observados em outros tipos de câncer como: ovário, pulmão, colo uterino, hepatocarcinoma e linfomas. Também apresenta concentração elevada em doenças benignas como: hepatite crônica, tuberculose, sarcoidose e lúpus eritematoso sistêmico, sendo assim não indicado como forma de diagnóstico, mas sim de controle e prognóstico (OLIVEIRA e FONSECA, 2011).

Em medicina veterinária Marchesi et al. (2010), realizaram um trabalho de avaliação da concentração sérica e plasmática do CA 15-3 em cães, com o objetivo de determinar um valor de referência para a espécie. O estudo avaliou o marcador sérico em grupos de animais saudáveis e animais com diferentes lesões neoplásicas. Porém, devido à diversidade dos tipos tumorais e a não especificidade para câncer de mama, não foi possível estabelecer um parâmetro de comparação para o marcador em cadelas portadoras de carcinoma mamário. Já Manuali et al. (2012), constataram em seu experimento que os níveis séricos do CA 15-3 tiveram correlação significativa com o grau de malignidade histológico do tumor de mama em cadelas.

O marcador ideal reúne as características de monitorização da resposta terapêutica e detecção precoce de recidiva, além de diagnóstico precoce de neoplasias e de sua origem, e estabelecimento da extensão da doença. Esse marcador ainda não existe, e alguns pecam pela falta de especificidade e sensibilidade. Devendo sempre ser avaliados associando-se com a

clínica ou demais exames do paciente (ALMEIDA et al., 2007; OLIVEIRA e FONSECA, 2011).



**2. ARTIGO CIENTÍFICO**  
**(Artigo de acordo com as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira)**

## Avaliação comparativa de dosagem do marcador tumoral CA 15-3 em cadelas (*Canis lupus familiaris*) hígdas e com neoplasia mamária<sup>1</sup>

Gabriela Basilio Roberto<sup>2,3\*</sup>, Liane Ziliotto<sup>2</sup>, Meire Christina Seki<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Roberto G B., Ziliotto L., Seki M. C. [Comparative evaluation of tumor marker CA 15-3 dosage in dogs (*Canis lupus familiaris*) intact healthy and breast cancer] Avaliação comparativa de dosagem do marcado tumoral CA 15-3 em cadelas (*Canis lupus familiaris*) hígdas e com neoplasia mamária. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Rua Semeão Camargo Varela de Sá, 03, Vila Bela, Guarapuava, PR 85040-080, Brazil. E-mail: [gabi\\_basilio1988@hotmail.com](mailto:gabi_basilio1988@hotmail.com)

The CA 15-3 antigen is a protein present in the serum, used to monitoring women with breast cancer, mainly in metastatic disease detection. The objectives of this study were to evaluate the effectiveness and feasibility of using the CA 15-3 tumor marker in dogs, comparing the marker values between dogs with and without breast cancer, estimating changes in marker values after mastectomy, and their correlation between the histological types. In this study, the serum quantification of tumor marker CA 15-3 (electrochemiluminescence test) was made in twenty intact healthy dogs (control group) and twenty bitches with mammary neoplasia (patient group), animals with cancer had the content of the tracer performed before and 10 days after mastectomy. Histopathological examinations of the tumors were also carried out and for the vaginal cytology the material was collected at the moment of the mastectomy. The evaluation of the vaginal cytology data among the groups Diestro, Proestro and Anestro by the ANOVA test did not show a statistically significant difference among the values found. And in the analysis for comparing tumor marker values with histological types of neoplasms, divided into two groups, benign and malignant, using the Mann-Whitney Rank Sum Test, the test did not show a statistically significant difference, since  $p > 0,05$ . The values of the marker in the control group were an average of  $0.19 + 0.39$  U/mL; pre-mastectomy group  $1.56 + 0.39$  U/mL and post-mastectomy  $0.66 + 0.27$  U/mL. The statistic was performed by comparison between groups pre and post-mastectomy and the control group comparisons with the group pre and post-mastectomy with statistical significance  $p \leq 0.005$  in both tests. Thus, there is a difference in marker values before and after the surgical removal of the neoplasia, indicating a significant role in post mastectomy individual control. But there is much variation results in the different existing methods, and there is still a standard reference values for each method, more research is needed on the use of markers.

INDEX TERMS: Tumor Marker CA 15-3, electrochemiluminescence; prognosis; mastectomy

<sup>1</sup>Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

<sup>2</sup>Pós-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: [gabi\\_basilio1988@hotmail.com](mailto:gabi_basilio1988@hotmail.com)

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

**RESUMO.** - O antígeno CA 15-3 é uma proteína presente no soro utilizado no acompanhamento de mulheres com câncer de mama, essencialmente na detecção de metástases. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a efetividade e a viabilidade da utilização do marcador tumoral CA 15-3 em cadelas, comparando-se os valores do marcador entre cadelas sem e com neoplasia mamária, avaliando-se alterações nos valores do marcador após a mastectomia, e suas correlações entre o tipo histológico. Este estudo fez a quantificação sérica do marcador tumoral CA 15-3 (teste de eletroquimioluminescência), em vinte cadelas hígdas (grupo controle) e vinte cadelas com neoplasia mamária (grupo teste), os animais com neoplasia tiveram a dosagem do marcador realizada antes e 10 dias após a mastectomia. Também foram realizados exames histopatológicos dos tumores e a para citologia vaginal o material foi coletado no momento da mastectomia. A avaliação dos dados de citologia vaginal entre os grupos Diestro, Proestro e Anestro pelo teste de ANOVA não demonstrou diferença estatística significativa entre os valores encontrados. E na análise para a comparação dos valores do marcador tumoral com os tipos histológicos de neoplasias, divididas em dois grupos, benignas e malignas, utilizando o teste de Mann-Whitney Rank Sum Test, o teste não demonstrou diferença estatística significativa visto que  $p > 0,05$ . Os valores encontrados do marcador no grupo controle foram uma média de  $0,19 \pm 0,39$  U/mL; no grupo pré-mastectomia  $1,56 \pm 0,39$  U/mL e pós-mastectomia  $0,66 \pm 0,27$  U/mL. Em análise estatística com a comparação de grupo pré e pós-mastectomia, e do grupo controle com o grupo pré e pós-mastectomia observou-se significância com  $p \leq 0,005$ . Assim, observou-se diferença nos valores do marcador antes e depois da remoção cirúrgica da neoplasia, indicando importante função no controle pós mastectomia individual. Porém há muita variação dos resultados nos diferentes métodos existentes, e não há ainda um padrão dos valores de referência para cada método, sendo necessários mais estudos sobre o uso dos marcadores.

TERMOS DE INDECAÇÃO: Marcador tumoral CA 15-3, eletroquimioluminescência, prognóstico, mastectomia.

## INTRODUÇÃO

Define-se neoplasia como o crescimento celular em que ocorre alteração permanente e hereditária nas células de maneira errônea. A proliferação celular anormal excessiva, intencional e não autônoma, que continua indefinidamente devido aos efeitos da neoplasia em crescimento gera o tumor (RODASKI & PIEKARS 2009, BICALHO 2012).

As neoplasias mamárias são muito comuns em cães, alcançando de 50% a 70% de todos os tumores que acometem uma população (LANA et al. 2007, CASSALI et al. 2014). Além da sua importância em medicina veterinária é ainda muito investigada, principalmente por servir de modelo para o estudo do câncer de mama na mulher (FELICIANO et al. 2012, GARRIDO 2011).

Quanto ao tipo histológico, aproximadamente 35% a 50% das neoplasias mamárias caninas são malignas (FOSSUM et al. 2008, CIRILO 2008, OLIVEIRA et al. 2003, WITHROW & MACEWEN 2007).

Sua ocorrência varia conforme a característica da população, como o hábito de realizar a ovariopalingohisterectomia em animais jovens, a idade e a raça dos cães (LANA et al. 2007). No Brasil, Daleck et al. (1998), afirmam que os tumores de mama acometem cães de idade média a avançada, sem predisposição de raça ou idade.

O efeito hormonal para o desenvolvimento da neoplasia mamária pode ser avaliado pela incidência do desenvolvimento tumoral e sua relação com a fase hormonal em que as fêmeas são submetidas à ovariopalingohisterectomia (FELICIANO et al. 2012, BICALHO 2012). A castração antes do primeiro estro reduz o risco de neoplasia mamária a menos de 0,5% (LANA et al. 2007, FOSSUM et al. 2008). Este risco aumenta para 8% após o primeiro ciclo estral e para 26% após o segundo cio (FOSSUM et al. 2008, OLIVEIRA et al. 2003, FONSECA & DALECK 2000). Porém, a maioria dos estudos não mostra, na maioria dos casos, nenhum efeito protetor da OSH realizada após os quatro anos de idade (LANA et al. 2007).

Entretanto, comprovou-se que a exposição a doses farmacológicas de hormônios exógenos são capazes de aumentar o risco de desenvolvimento de tumores mamários em cães, tornando a risco 2,3 vezes maior de desenvolvimento de neoplasia mamária (LANA et al. 2007, MISDORP 2002).

A influência hormonal descrita também pode ser avaliada pelo fato de muitos estudos terem comprovado a presença de receptores de estrogênio (ER), progesterona (PR), prolactina (PRL-R), e fatores de crescimento epidérmico (EGF-R) nas glândulas mamárias normais ou em portadores de tumores mamários benignos e malignos (MISDORP 2002).

Apesar dos nódulos mamários serem facilmente identificados ao exame físico, este deve ser minucioso já que os nódulos malignos podem gerar metástases para vários órgãos, sendo os linfonodos regionais e os pulmões os mais comumente afetados (DALECK et al. 1998). A avaliação de metástases distantes, principalmente pulmonares, deve ser realizada sempre nos pacientes com neoplasia mamária antes da indicação cirúrgica (CASSALI et al. 2014). O diagnóstico definitivo do tipo de tumor é possível por meio de microscopia, por citologia ou histopatologia. A avaliação histopatológica pode ser realizada por meio de biopsias ou excisões da neoplasia em sua totalidade (MISDORP 2002, SAKAMOTO 2011). Mais recentemente a imuno-histoquímica tem revolucionado o diagnóstico na oncologia, pois, além do auxílio ao diagnóstico de vários tipos de neoplasia, a imuno-histoquímica tem permitido a identificação de diferentes tipos de marcadores (enzimas, receptores, outros produtos de genes, etc.) que estão relacionados ao comportamento biológico das neoplasias tanto em mulheres como em cadelas (ZUCCARI et al. 2009).

A radiografia de tórax e ultrassonografia abdominal são procedimentos rotineiros na veterinária como auxílio no diagnóstico e prognóstico, e na avaliação em casos de suspeita de metástases à distância (CAVALCANTI & CASSALI 2006). Ainda na categoria de exames de imagem temos a tomografia computadorizada e a ressonância magnética que apresentam maior acurácia na detecção de metástases e na avaliação de invasão tumoral (ALEXANDER et al. 2012).

A remoção cirúrgica (mastectomia) é a primeira linha de tratamento para o tumor de mama em cadelas, exceto no carcinoma inflamatório (CASSALI et al. 2014). O tipo do tumor, o estágio da doença e os sinais sistêmicos devem ser averiguados, para se definir se a paciente está apta ou não para o tratamento cirúrgico (LANA et al. 2007).

Os marcadores tumorais podem ser componentes estruturais, bioquímicos e celulares presentes tanto em células tumorais como normais (CAPELOZZI 2001). São em sua maioria proteínas ou pedaços de proteínas, presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos. A formação e o crescimento de células neoplásicas levam ao aparecimento e ou alterações em suas concentrações (ALMEIDA et al. 2007, MATTOS et al. 2005, SOUZA 2002). Essas macromoléculas podem ser formadas pela neoplasia, ou podem ser referentes à resposta no organismo à presença no tumor (ARAÚJO, 2013) e podem ser quantificados ou detectados por testes bioquímicos ou imunoistoquímicos (MATTOS et al. 2005). A avaliação dos marcadores tumorais para definição de prognóstico do câncer de mama tem avançado significativamente nos últimos anos (EISENBERG & KOIFMAN, 2001).

Os marcadores mucinosos e de tipo mucinosos mais estudados hoje são: CA 125, CA 15-3, CEA (carcinoembrionário) e CA 19-9 (SOUZA 2002). A mucina (MUC 1), é um complexo glicoprotéico gigante que localiza-se extracelularmente. Nas células malignas, a presença da mucina está elevada, e sua dosagem no sangue pode indicar a ocorrência de neoplasias, e determinar a presença de doença recidivante, progressão ou resposta à terapia (MANUALI et al. 2012, SOUZA 2002).

O antígeno CA 15-3 tem sido utilizado no acompanhamento de mulheres com câncer de mama, principalmente na detecção de metástases, antes mesmo do surgimento de manifestações clínicas, sendo o mais sensível atualmente (BICALHO 2012, GERAGHTY et al. 1992, LOPEZ et al. 2012).

O aumento superior a 25% na concentração desse marcador está relacionado a evolução da doença em até 90% dos casos, em contrapartida, uma redução na concentração está associada à regressão em até 80% dos casos (ALMEIDA 2006). Silveira (2005) relatou ainda que níveis muito elevados desse marcador estão associados à pior prognóstico e sobrevida reduzida.

Baseados nestes conhecimentos, Almeida et al. (2007) recomendaram que a dosagem do CA 15-3 fosse efetuada antes do tratamento, após 2 a 4 semanas do tratamento (cirúrgico ou quimioterápico) e um acompanhamento a cada 3 a 6 meses.

Em medicina veterinária Marchesi et al. (2010), realizaram um trabalho de avaliação da concentração sérica e plasmática do CA 15-3 em cães, com o objetivo de determinar um valor de referência para a espécie. O estudo avaliou o marcador sérico em grupos de animais saudáveis e animais com diferentes lesões neoplásicas. Porém, devido à diversidade dos tipos tumorais e a não especificidade para o câncer de mama, não foi possível estabelecer um parâmetro de comparação para o marcador em cadelas portadoras de carcinoma mamário. Já Manuali et al. (2012), constataram em seu experimento que os níveis séricos do CA 15-3 tiveram correlação significativa com o grau de malignidade histológico do tumor de mama em cadelas.

O marcador ideal reúne as características de monitorização da resposta terapêutica e detecção precoce de recidiva, além de diagnóstico precoce de neoplasias e de sua origem, e estabelecimento da extensão da doença. Esse marcador ainda não existe, e alguns pecam pela falta de especificidade e sensibilidade. Devendo sempre ser avaliados associando-se com a clínica ou demais exames do paciente (ALMEIDA et al. 2007, OLIVEIRA & FONSECA 2011).

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a efetividade e a viabilidade da utilização do marcador tumoral CA 15-3 para definição de diagnóstico/prognóstico em cadelas com neoplasias mamárias, buscando assim novos meios para o diagnóstico precoce e seguimento. Também se buscou a análise de parâmetros do marcador em cadelas sem neoplasias mamárias, comparando os valores do marcador entre cadelas sem e com neoplasia mamária, além da avaliação das alterações nos valores do marcador pré e pós a remoção da neoplasia mamária (mastectomia), comparação e correlações entre o tipo histológico, as características do tumor e os valores obtidos no marcador.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado através da quantificação sérica do marcador tumoral CA 15-3 em vinte cadelas hígidas e 20 cadelas com neoplasia mamária. Os animais utilizados foram provenientes da rotina da Clínica Escola Veterinária (CEVET) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

**Seleção dos Animais.** Os animais foram divididos em 2 grupos. No primeiro (grupo controle), foram utilizadas 20 cadelas castradas antes do primeiro estro (sem exposição de estrógeno em tecido mamário). No segundo grupo (grupo teste) foram utilizadas 20 cadelas apresentando neoplasia mamária.

As cadelas com neoplasia mamária, atendidas na Clínica Escola Veterinária da UNICENTRO, passaram por avaliação clínica e foram encaminhadas para o setor de cirurgia, onde foram realizados os exames pré-operatórios como exames radiográficos para pesquisa de metástases, hemograma e exames bioquímicos renal (creatinina) e hepático (alanina aminotransferase - ALT). Os animais que apresentaram alguma alteração nesses exames, como infecções uterinas, alterações renais ou hepáticas, ou apresentavam alguma outra alteração compatível com outro tipo de neoplasia, não fizeram parte do projeto. Os animais selecionados como aptos, fizeram parte do grupo teste deste trabalho e foram então encaminhados para o serviço de cirurgia onde se definiu o tratamento cirúrgico mais adequado.

**Técnica Cirúrgica e Protocolo Anestésico.** O protocolo anestésico utilizado foi com medicação pré-anestésica, seguida de indução e manutenção anestésicas. Os fármacos utilizados na medicação pré-anestésica foram metadona ou morfina, associadas ou não com clorpromazina ou midazolam; para indução anestésica foi utilizado propofol e para manutenção o isoflurano.

As técnicas cirúrgicas realizadas nos animais do grupo teste foram adotadas de acordo com as mamas envolvidas e as características clínicas de cada paciente, sendo realizadas nos animais participantes deste trabalho a mastectomia total unilateral ou a mastectomia regional.

**Análise de Ficha Clínica.** O levantamento de dados do trabalho também foi realizado através da avaliação da ficha clínica dos pacientes que participaram do projeto. Dados como utilização de progestágeno, presença de ulceração na neoplasia, quais mamas estavam acometidas pelos nódulos, idade e raça dos animais foram extraídos da anamnese e exame físico realizados pelo clínico que atendeu cada paciente.

**Exame Histopatológico.** Após a cirurgia, as mamas removidas com os nódulos ou massas tumorais foram acondicionadas em formol 10% pelo período de 48 horas, e depois eram realocados em álcool a 70% para sua conservação e posterior envio para a realização de exame histopatológico. O material foi enviado para o laboratório VetPat®<sup>1</sup> para realização desses exames, através da coloração de HE (Hematoxilina-Eosina).

**Citologia Vaginal.** Foram realizados esfregaços vaginais para a execução de citologia vaginal no grupo teste. A colheita foi feita no momento da cirurgia, após a indução anestésica, onde foram confeccionadas duas lâminas através de swab vaginal, para posterior leitura. As lâminas foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). As amostras submetidas à avaliação citoscópica foram coradas pelo Panótico - Instant-Prov®<sup>2</sup>. A citologia vaginal objetivou determinar o momento do ciclo estral das cadelas operadas e definir uma possível interferência hormonal nos resultados.

**Análise do Marcador Tumoral.** Para a análise do marcador tumoral CA 15-3 foi realizada a coleta de sangue em apenas um momento nos animais do grupo controle e em dois momentos nos animais do grupo teste. As coletas foram de 3 mL de sangue, através de venopunção da jugular, e as amostras foram acondicionadas em tubos sem anticoagulante para a realização da dosagem do marcador tumoral CA 15-3. Nos indivíduos do grupo 1 a coleta foi realizada no momento do primeiro atendimento após o exame físico geral detalhado para se descartar a presença de qualquer doença ou condição que pudesse interferir no resultado do exame.

Nos animais do grupo 2 (grupo teste) a primeira coleta foi realizada imediatamente após a indução anestésica (e, portanto antes do início do procedimento cirúrgico) e a segunda coleta de sangue para dosagem do marcador foi realizada 10 dias após a mastectomia, no momento em que os animais retornavam a clínica escola para retirada dos pontos. Para o marcador tumoral, o soro foi encaminhado para o Laboratório Biolabor®<sup>3</sup> em Itararé - SP. O método utilizado pelo laboratório foi a eletroquimioluminescência através do kit Elecsys CA 15-3 II®<sup>4</sup>.

**Análise Estatística.** Os dados foram tabulados e analisados por programa computacional Sigma Stat for Windows (2009), aplicando-se o teste t pareado para comparar o grupo pré-mastectomia com o grupo pós-mastectomia. Para análise estatística realizada entre os grupos controle e pré-mastectomia e grupo controle e pós-mastectomia não foi possível utilizar o teste t, sendo então utilizado o teste de Mann-Whitney Rank Sum, por se tratarem de grupos de diferentes animais e valores que não seguiram uma distribuição normal. Para análise na citologia vaginal o teste utilizado foi o One Way Analysis of Variance (ANOVA) para comparação dos grupos anestro, proestro e diestro. Já para a análise entre os dois grupos de tumores benignos e malignos o teste estatístico utilizado foi Mann-Whitney Rank Sum Test.

## RESULTADOS

Durante os atendimentos e avaliações para seleção dos pacientes do grupo teste, com neoplasia mamária, as mais diferentes apresentações clínicas foram observadas, como tumores de tamanhos variáveis, com o menor medindo 0,5 cm e o maior mais de 11 cm de comprimento. Também foi observada a presença de ulcerações em tumores e uma maior prevalência de neoplasias nas mamas inguinais em comparação as outras mamas.

A escolha dos procedimentos cirúrgicos variou conforme a apresentação clínica dos tumores, e com o estado geral das pacientes submetidas ao procedimento. A maioria dos animais foi submetida à mastectomia total unilateral, por estarem aptas a passar por esse procedimento, e por esta ser a técnica de escolha na Clínica Escola. Na Figura 1 estão podem ser observadas algumas das características tumorais, encontradas.

Nos exames pré-operatórios nenhum animal apresentou alteração em imagem radiográfica compatível com metástase, e os exames hematológicos e bioquímicos apresentaram-se dentro dos valores de normalidade, sendo que em alguns animais (2; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 12 e 18) observou-se leucocitose por neutrofilia correspondendo a 45% dos pacientes.

Sobre a utilização de progestágenos nos animais que participaram do projeto, seis animais (30%) utilizaram uma ou mais doses de progestágeno durante a vida, 11 (55%) não utilizaram, e em três (15%) os proprietários não souberam informar.

A média de idade de pacientes acometidos com neoplasias mamárias durante a pesquisa foi de 9,85 ( $\pm$  2,3) anos. Por esse motivo o protocolo anestésico mais utilizado foi aquele considerado mais seguro para a maioria dos animais: 1 - Medicação pré-anestésica (MPA): metadona com midazolam; 2 - Indução: propofol; 3 -

<sup>1</sup>Endereço: Rua Coronel Manuel de Moraes, 146, Jd. Brasil, CEP:13073-022, Campinas/SP Fones:(19)4062-9232/3500-2478E-mail: contato@vetpat.com. Responsável técnico: Felipe Augusto Ruiz Sueiro, CRMV-SP 10800) - Laboratório Veterinário em Campinas - SP.

<sup>2</sup>Newprov - Rua Primeiro de Maio, 590, Pinhais - Paraná - CEP: 83323-020, Brasil.

<sup>3</sup>Endereço: Rua São Pedro, Nº 557 - Itararé SP. Responsável técnico Vinícius Taliberti - Farmacêutico CRF SP 71178.

<sup>4</sup>Roche Diagnostica Brasil Ltda - Av. Engenheiro Billings, 1729 - Jaguaré - Prédio 38 São Paulo BRASIL 0800772295.

Manutenção: isoflurano. Sendo que devido a algumas alterações clínicas ou comportamentais de alguns pacientes a MPA sofreu algumas alterações como adição de clorpromazina (pacientes 7 e 15), devido o comportamento agitado, e a utilização apenas de metadona (pacientes 3; 4; 5; 7) por se apresentarem mais debilitados.

Referente à raça de maior casuística no grupo teste da pesquisa, SRD (sem raça definida) corresponderam a 15 animais (80%), os outros 20% foram compostos de um Border Collie (5%); um Pinscher (5%); um (5%) Dachshund e um (5%) Cocker Spaniel Inglês.

Dos 20 animais do grupo teste, um animal apresentou neoplasia em M<sub>1</sub>, oito animais em M<sub>2</sub>, 12 animais em M<sub>3</sub>, 13 animais em M<sub>4</sub> e oito animais em M<sub>5</sub>. Sendo que um mesmo animal teve neoplasias em mais de uma mama e que as mamas mais acometidas por neoplasias foram a M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub> e M<sub>5</sub>.



Fig 1: Imagem fotográfica de quatro pacientes que participaram do projeto (grupo teste), demonstrando a variedade de apresentação clínica das neoplasias. A e B representam nódulos pequenos, sem ulceração em apenas uma mama. C e D estágio mais avançado da doença, com neoplasias grandes o ulceradas cometendo mais de uma mama.

Referente aos exames histopatológicos realizados após a mastectomia, dos 20 animais pesquisados, tivemos três animais (15%) que apresentaram neoplasias benignas e 17 (85%) que apresentaram neoplasias malignas. Como alguns animais apresentavam mais que um nódulo ou massa mamária, o total de lesões encaminhadas para exame histopatológico foi de 44 nódulos ou massas. Sendo que desses, quatro (10%) foram benignos, onde os quatro foram classificados como tumor mamário misto benigno. Os outros 40 (90%) foram malignos, onde tivemos desses 40, um caso (2,5%) classificado como carcinosarcoma mamário e os outros 39 (97,5%) como carcinoma, desses os tipos prevaletentes foram, sólido, papilífero e misto, dos mais variados graus.

Quanto a citologia vaginal foram observados 12 animais (60%) em anestro, três animais (15%) em proestro e dois animais (10%) em estro, não foi possível a identificação do ciclo estral em três animais (15%), devido a contaminação da amostra, ou coleta de material inadequada.

Na análise do marcador tumoral CA 15-3 pode-se observar que os valores obtidos na análise das amostras variaram entre 1 e 2,4 U/mL nas amostras pré-mastectomia, entre 0,09 e 0,9 U/mL nas pós mastectomia e valores entre 0,09 e 0,7 U/mL no grupo controle (Quadro 1).



Quadro 1 – Valores séricos individuais numéricos de CA 15-3 de cada grupo de animais encontrados no experimento e valores da média  $\pm$  desvio padrão, mediana e erro padrão encontrados no experimento, através do método de eletroquimioluminescência, Guarapuava-PR, 2015

<b>MARCADOR TUMORAL CA 15-3 (em U/mL)</b>				
<b>Animal teste</b>	<b>Pré mastectomia</b>	<b>Pós mastectomia</b>	<b>Animal controle</b>	<b>Controle</b>
<b>1</b>	1	0,9	<b>1</b>	0,09
<b>2</b>	1,8	0,7	<b>2</b>	0,6
<b>3</b>	1,2	0,7	<b>3</b>	0,7
<b>4</b>	1,3	0,6	<b>4</b>	0,4
<b>5</b>	1,5	0,4	<b>5</b>	0,4
<b>6</b>	1,2	0,7	<b>6</b>	0,1
<b>7</b>	1	0,6	<b>7</b>	0,1
<b>8</b>	2,2	0,9	<b>8</b>	0,09
<b>9</b>	1,4	0,9	<b>9</b>	0,09
<b>10</b>	1,8	0,9	<b>10</b>	0,1
<b>11</b>	1,8	0,8	<b>11</b>	0,09
<b>12</b>	1,4	0,8	<b>12</b>	0,09
<b>13</b>	1,4	0,7	<b>13</b>	0,09
<b>14</b>	1,9	0,9	<b>14</b>	0,09
<b>15</b>	1,2	0,9	<b>15</b>	0,09
<b>16</b>	2	0,8	<b>16</b>	0,1
<b>17</b>	1,5	0,7	<b>17</b>	0,1
<b>18</b>	1,3	0,09	<b>18</b>	0,4
<b>19</b>	2,4	0,2	<b>19</b>	0,09
<b>20</b>	1,9	0,09	<b>20</b>	0,09
<b>Média</b>	1,56 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	0,66 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	-	0,19 $\pm$ 0,39
<b>Mediana</b>	1,45 <sup>B</sup>	0,7 <sup>C</sup>	-	0,095 <sup>A</sup>
<b>Erro Padrão</b>	0,09	0,06	-	0,04

<sup>ab</sup>Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam médias com diferenças estatísticas significativas entre grupos (pré e pós mastectomia) com os mesmos animais. Teste t pareado (n=20)

<sup>AB</sup>Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam medianas com diferenças estatísticas significativas entre grupos (pré mastectomia e controle). Teste Mann-Whitney Rank Sum (n=20)

<sup>AC</sup>Letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam medianas com diferenças estatísticas entre grupos (pós mastectomia e controle) Teste Mann-Whitney Rank Sum (n=20)

Fonte: produção do próprio autor

Na Figura 2 observa-se um gráfico com os valores do marcador tumoral CA 15-3 obtidos pelo grupo teste (pré e pós-mastectomia) e pelo grupo controle.

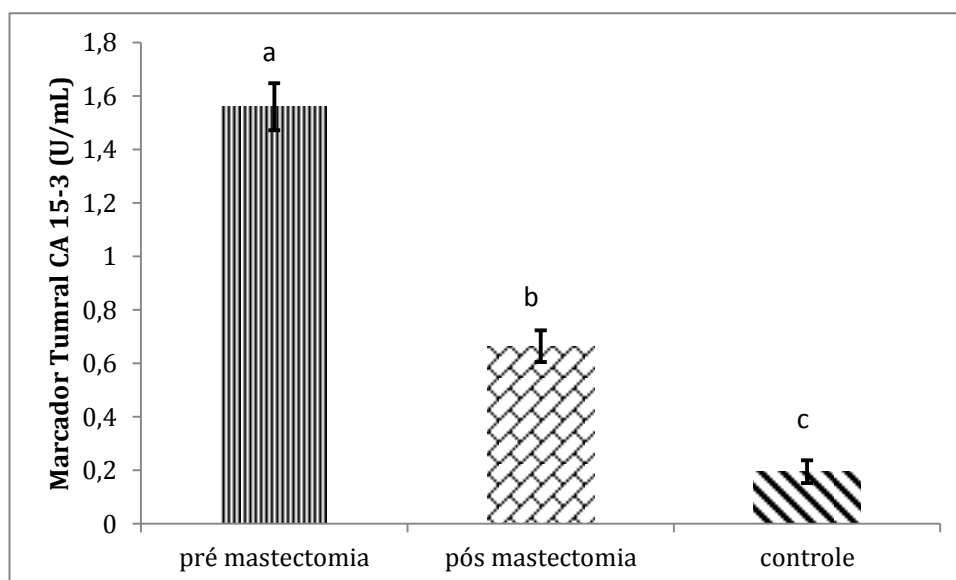


Fig 2: Gráfico demonstrativo dos valores do marcador CA 15-3 representados em média e erro padrão do grupo teste (pré e pós-mastectomia) (n=20) e do grupo controle (n=20), encontrados no experimento, através do método de eletroquimioluminescência. Guarapuava/PR, 2015. Letras diferentes entre si indicam diferença estatística entre os grupos onde  $p < 0,05$

Na Quadro 1 observam-se os dados obtidos na análise estatística de média, erro padrão e mediana, onde os valores de média encontrados do marcador tumoral no grupo controle foram de  $0,19 \pm 0,39$  U/mL; no grupo pré-mastectomia de  $1,56 \pm 0,39$  U/mL e no grupo pós-mastectomia de  $0,66 \pm 0,27$  U/mL. Os dados foram tabulados e analisados por programa computacional Sigma Stat for Windows (2009), aplicando-se o teste t pareado para comparar o grupo pré-mastectomia com o grupo pós-mastectomia, onde se observa que os valores médios obtidos através do teste estatístico t pareado apresentaram diferença significativa entre as duas concentrações, visto que  $p \leq 0,05$ . Para análise estatística realizada entre os grupos controle e pré-mastectomia não foi possível utilizar o teste t, pois os dois grupos não eram compostos pelos mesmos animais, e encontravam-se valores discrepantes que impossibilitaram a utilização desse teste. Foi tentado levar os valores a uma linha de normalidade utilizando o LOG de 10+1, mas também não permitiu a utilização do referido teste, sendo então utilizado o teste de Mann-Whitney Rank Sum, por se tratarem de grupos de diferentes animais e valores que não seguiram uma normalidade. O referido teste apontou uma diferença estatística significativa entre os dois grupos, visto que  $p \leq 0,05$ . O mesmo teste foi utilizado para a análise entre os grupos controle e pós-mastectomia, o qual também apontou diferença estatística, visto que  $p \leq 0,05$ .

A avaliação dos dados de citologia vaginal entre os grupos Diestro, Proestro e Anestro pelo teste de ANOVA não demonstrou diferença estatística significativa entre os valores encontrados. E na análise para a comparação dos valores do marcador tumoral com os tipos histológicos de neoplasias, divididas em dois grupos, benignas e malignas, utilizando o teste de Mann-Whitney Rank Sum Test, o teste não demonstrou diferença estatística significativa visto que  $p > 0,05$ .

## DISCUSSÃO

A realização desse trabalho justifica-se devido à carência de estudos sobre os marcadores tumorais em cadelas, e a alta incidência desta neoplasia nessa espécie (DE NARDI et al. 2002, BICALHO 2012).

As características clínicas encontradas durante a realização do experimento foram que as cadelas atendidas apresentavam média de idade de  $9,85 (\pm 2,3)$  anos, muito próximo a pesquisa de Oliveira et al. (2003) que encontraram média de idade de  $9 (\pm 3,1)$  anos e a maioria eram cães sem raça definida. Também Silva et al. (2014), encontraram em seu estudo uma idade média de 10,1 anos (5 a 17). Referente à raça a maioria dos animais atendidos pela pesquisa foi SRD (sem raça definida), o que correspondeu a 15 animais (80%). Assim como o observado nos animais deste projeto de pesquisa, no Brasil, os tumores de mama acometem mais comumente cães de idade média a avançada, sem predisposição de raça (Daleck et al. 1998).

As informações referentes a vida reprodutiva e uso de progestágenos das pacientes atendidas pelo projeto nem sempre puderam ser respondidas de maneira adequada pelos proprietários. Da mesma forma como descrito por Bueno et al. (2008), 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 deles não possuem informações anteriores sobre o animal. Portanto, as informações obtidas sobre o uso de progestágenos exógenos foi de que seis animais (30%) utilizaram uma ou mais doses de progestágeno durante a vida, 11 (55%) não utilizaram, e três (15%) os proprietários não souberam informar por serem animais adotados da rua já adultos.



Quanto ao número de nódulos 15 animais (75%) apresentaram mais de um nódulo no momento do diagnóstico e apenas cinco (25%), apresentavam nódulo único, corroborando com um estudo que documentou que 70% das fêmeas intactas tinham mais de um tumor mamário no momento do diagnóstico (LANA et al. 2007, CASSALI et al. 2014).

Quanto ao envolvimento das glândulas mamárias, foi observado no presente estudo que, um animal (5%) apresentou neoplasia em M<sub>1</sub>, oito animais (40%) em M<sub>2</sub>, 12 animais (60%) em M<sub>3</sub>, 13 animais (65%) em M<sub>4</sub> e oito (40%) em M<sub>5</sub>. Sendo que um mesmo animal teve neoplasias em mais de uma mama e as mais acometidas por neoplasias foram a M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub>. As quartas e quintas glândulas mamárias são as mais acometidas já que apresentam maior quantidade tecidual e por estarem em uma região predisposta a traumatismos (LOPES 2012, CIRILO 2008).

Nos exames pré-operatórios a única alteração constatada na pesquisa foi leucocitose por neutrofilia em 9 animais (45%). Este resultado encontra-se superior ao encontrado por Silva et al. (2014), que em seu estudo constataram leucocitose neutrofílica em 18,6% das pacientes. A leucocitose por neutrofilia verificada neste trabalho possivelmente reflete a condição inflamatória decorrente da neoplasia mamária, e também à ulceração presente em algumas pacientes (CHILDRESS 2012).

Quanto a classificação histológica 10% dos tumores pesquisados foram benignos e 90% malignos, resultado esse próximo ao encontrado por Oliveira et al. (2003), que em sua pesquisa encontrou observou que em 71 cadelas com neoplasia mamária, 71,8% delas apresentaram neoplasias malignas e 28,2% neoplasias benignas. Entretanto, estes achados entram em desacordo com Fossum et al. (2008) e Feliciano et al. (2012) que citam que os tumores benignos representam cerca de 50% das neoplasias mamárias caninas. Tais divergências podem ser pelas próprias características da população atendida em nossa clínica escola, que em geral demora mais para buscar atendimento e com frequência seus animais apresentam neoplasias de grandes tamanhos e longo tempo de evolução. A maior incidência de neoplasias malignas em relação as benignas também foi observado no trabalho de Marchesi et al. (2010), onde as formas malignas da neoplasias corresponderam a 78,2% de todas as formas neoplásicas. Para os autores esta maior ocorrência se justifica pelos pacientes terem sido atendidos por um cirurgião quando o estágio da doença neoplásica já estava avançado.

A presença de receptores hormonais nas neoplasias mamárias, como ER, PR, PRL-R e o EGF-R pode ser um indicativo da influência hormonal no desenvolvimento de neoplasias benignas ou malignas (MISDORP 2002). Ainda, as variações fisiológicas com influência hormonal nos tecidos mamários como a gestação psicológica, a gestação, ou o parto, que ocorrem normalmente depois de algum ciclo estral, não parecem influenciar na ocorrência da neoplasia mamária. (LANA et al. 2007, DALECK et al. 1998). No presente trabalho, foi observado que os 3 animais (15%) encontravam-se em proestro e apresentavam hiperplasia mamária, porém, o ciclo estral dos animais, não influenciou nos valores encontrados do marcador tumoral CA 15-3.

Durante o trabalho, uma das dificuldades foi a escassez de valores de referência fato também evidenciado por Marchesi et al. (2010) que realizaram a pesquisa com 57 amostras de soro e tecidos das fêmeas de cães com lesões mamárias neoplásicas e 24 amostras de soro de indivíduos clinicamente saudáveis para posterior comparação de resultados. Bicalho (2012) realizou uma pesquisa de dosagem do marcador CA 15-3 em cadelas híginas através do ensaio imunoluminométrico por quimioluminescência e obteve valores médios de  $0,4140 \pm 0,25$  U/mL nas amostras concentradas duas vezes e  $0,5170 \pm 0,25$  U/mL nas amostras concentradas quatro vezes. No presente trabalho se pode observar que as cadelas com neoplasia mamária apresentaram valores maiores ( $1,56 \pm 0,39$  U/mL), sem a necessidade de concentração da amostra. Ainda a regressão dos valores de CA 15-3 após 10 dias da mastectomia, com queda da média de  $1,56 \pm 0,39$  U/mL pré-mastectomia para  $0,66 \pm 0,27$  U/mL pós-mastectomia mostrou-se importante para um futuro controle de recidivas, ou doença metastática. Este achado vem de encontro ao de Almeida et al. (2007), que em humanos relacionaram o aumento superior a 25% na concentração do CA 15-3 em pacientes com a progressão da doença em 80% a 90% dos casos, e a diminuição em sua concentração está associada à regressão da doença em 70% a 80% dos casos.

Agyagosova et al. (2012), encontraram em seu trabalho com o método de radioimunoensaio valor médio de CA 15-3 em cadelas com tumor de  $8,58 \pm 1,27$  U/mL. Já Marchesi et al. (2010), com o método de quimioluminescência direta encontraram valores de  $0,79 \pm 0,56$  U/mL. Valores estes diferentes aos encontrados na presente pesquisa.

Campos (2010) utilizou-se do ensaio ELISA para quantificar o marcador CA 15-3 em cadelas híginas e portadoras de neoplasia mamária. As cadelas saudáveis apresentaram valores de  $1,37 \pm 0,46$  ng/mL. Os animais híginos desse trabalho apresentavam valores de  $0,19 \pm 0,39$  UI/mL.

Como Marchesi et al. (2010) constataram em seus estudos, o uso da quimioluminescência e os kits utilizados na medicina humana podem ser promissores para a determinação dos níveis de CA 15-3 em cães, e os valores encontrados nesse estudo através da eletroquimioluminescência corroboram tal afirmação.

Mesmo com os valores significativos encontrados, onde pode se observar queda do valor do marcador tumoral em todos os animais após a mastectomia, são necessários mais estudos sobre os marcadores tumorais em cães e também a busca da melhor técnica a ser utilizada para esta avaliação e de valores constantes que possam ser utilizados como referência.

Em relação aos resultados do histopatológico não foi verificada variação significativa sobre o tipo histológico e a elevação do marcador tumoral, e uma análise estatística mais apurada não foi realizada pela

diferença dos grupos com três animais apenas com neoplasias benignas, e 17 animais com malignas. Visualmente observamos certa tendência de maior valor de CA 15-3 nas neoplasias benignas, porém não foi confirmada estatisticamente. Contudo, segundo Manuali et al. (2012) em sua pesquisa com 50 neoplasias mamárias malignas foi possível observar níveis mais significativos do marcador.

### CONCLUSÕES

Através do método utilizado, observou-se diferença estatística nos valores do marcador CA 15-3 antes e depois da remoção cirúrgica do tumor e que o tipo histológico não influenciou nos valores do marcador tumoral, podendo indicar que para acompanhamento individual do paciente, é uma escolha interessante, pois este pode apresentar aumento sérico do CA 15-3 antes mesmo de sinais clínicos ou dos exames de imagem identificarem massas. Porém ainda existe muita variação dos resultados nos diferentes métodos existentes, e não há ainda um padrão dos valores de referência para cada método, e desta forma, mais estudos são necessários sobre esse assunto.

A utilização dos marcadores tumorais como fatores de prognóstico da neoplasia mamária deve ser realizada com cautela. Novos estudos precisam ser realizados para se avaliar a sobrevida e a relação com o marcador tumoral, padronizando os métodos e em um número cada vez maior de pacientes. Há necessidade de um cooperativismo entre os especialistas para buscar a cada dia, outras formas de diagnóstico e prognóstico para esses casos.

### REFERÊNCIAS

- Alexander K, Joly H., Blond L., D'anjou M., Nadeau M.E., Olive J. & Beauchamp G.A. 2012. Comparison of computed tomography, computed radiography, and film-screen radiography for the detection of canine pulmonary nodules. *Vet Radiol Ultrasound*. 53 (3): 258-265.
- Almeida J.R.C. 2006. Marcadores Tumorais, p. 61-72. cap 3. In: \_\_\_\_ Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade. Atheneu, São Paulo.
- Almeida J.R.C., Pedrosa N.L., Leite J.B., Fleming T.R.P., Carvalho V.H. & Cardoso A.A.A. 2007. Marcadores Tumorais: Revisão de literatura. *Rev. Bras. de Cancer*. 53 (3): 305-316.
- Agyagosova A.V., Frischova Z., Sevcikova Z., Hajurka J., Lepej J., Szakalova I., Kredatusova G., Nagy V. & Ledecy V. 2012. Determination of carcinoembryonic antigen and cancer antigen (ca 15-3) in bitches with tumours on mammary gland: preliminary report. *Veterinary and Comparative Oncology*. 12 (3): 205-214.
- Araújo J.H.G. 2013. Principais Marcadores Tumorais Utilizados na Prática Clínica: Uma revisão bibliográfica. 68 f. Monografia (Graduação). UFPB. João Pessoa - PB. Disponível em: <http://rei.biblioteca.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/566/1/JHGA11072014.pdf>. Acesso em: 20 de ago 2016.
- Bicalho S.R. 2012. Quantificação sérica do marcador tumoral CA 15.3 em cadelas hígdas por quimioluminescência. 28 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/89191>. Acesso em 10 de set. 2016.
- Bueno A.V.J., Fávero C., Geron C.C., Takayama C.M., Giotto F. & Campos F.L. Perfil da população canina e felina assistida pelo serviço de pronto atendimento da clínica escola veterinária (CEVET - UNICENTRO) no biênio 2007- 2008. In: Salão de Extensão e Cultura 2008. Guarapuava - PR, disponível em: [http://anais.unicentro.br/sec/isec/pdf/resumo\\_79.pdf](http://anais.unicentro.br/sec/isec/pdf/resumo_79.pdf). Acesso em 20 de ago. 2016.
- Campos L.C. 2010. Avaliação de marcadores tumorais séricos em cadelas com e sem metástase em câncer de mama. 81 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUOS-8M4HDH>. Acessado em: 23 out. de 2016.
- Capelozzi V.L. 2001. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. *J Pneumol*. 27 (6): 321-28.
- 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.

- Cavalcanti M.F & Cassali G.D. 2006. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas- revisão. *Rev. Clín. Vet.* 11 (61): 56- 63.
- Childress M.O. 2012. Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient. *Vet Clin Small Anim.* 42 (1): 123-155.
- Cirilo J.V. 2008. Tratamento quimioterápico das neoplasias mamárias em cadelas e gatas. *Revista do Instituto Ciência Saúde.* 26 (3): 325-327.
- Daleck C.R, Franceschini, P.H., Alessi A.C., Santana A.E. & Martins M.I.M. 1998. Aspectos clínico e cirúrgico do tumor mamário canino. *Ciência Rural.* 28 (1): 95 – 100.
- De Nardi A.B., Rodaski S., Sousa R.S., Costa T.A., Macedo T.R., Rodigheri S.M., Rios A. & Piekarcz C.H. 2002. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. *Arch. Vet. Scien.* 7 (2): 15-26.
- Eisenberg A.L.A. & Koifman S. 2001. Câncer de Mama: Marcadores Tumorais (Revisão de Literatura). *Rev. Bras. de Cancer.* 47 (4): 377-88,
- Feliciano M.A.R., João C.F., Cardilli D.J., Crivelar R.M. & Vicente5 W.R.R. 2012. Neoplasia mamária em cadelas – revisão de literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária.* 9 (18): 15-30.
- Fonseca C.S & Daleck C.R. 2000. Neoplasias mamarias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariosterectomia como terapia adjuvante. *Ciência Rural.* 30 (4): 731-735.
- 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.
- Garrido E. 2011. Determinação dos valores plasmáticos de osteopontina em cães com tumores mamários metastáticos ou não. Correlações clínicas e anatomopatológicas. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/95960>. Acessado em 15 abr. 2016.
- Geraghty J.G., Coveney E.C., Sherry F., O’Higgins N.J. & Dufy M.J. 1992. CA 15-3 in patients with locoregional and metastatic breast carcinoma. *Cancer.* 70(12): 831-834.
- Lopez N.C., Ramón N.G., Sánchez J.I.M. & De Santiago J.G. 2012. Metástasis óseas múltiples de cáncer de mama. Papel del CA 15.3 y respuesta a la hormonioterapia. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 77 (4): 291 – 295.
- Manuali E., De Giuseppe A., Feliziani F., Forti K., Casciari C., Marchesi M. C., Pacifico E., Pawlowski K. M., Majchrzak K. & Król M. 2012. CA 15-3 cell lines and tissue expression in canine mamary câncer and correlation between serum levels and tumor histological grade. *BMC Veterinary Research, London.* 8 (86): 1-10.
- Marchesi M.C., Manuali E., Pacifico E., Ferri C., Romagnoli M., Mangili V. & Fruganti G. 2010 . Cancer antigen 15/3: possible diagnostic use in veterinary clinical oncology. Preliminary study. *Veterinary research communications, Vet. Res. Commun.* 34(1): 103–106.
- Mattos L.L., Machado L.N., Sugiyama M.M., Bozzetti R.M. & Pinhal M.A.S. 2005. Tecnologia aplicada na detecção de marcadores tumorais. *Arq méd ABC.* 30(1): 19-25.
- Misdorp W. 2002. Tumors of the Mammary Gland, p 575 – 606, In: Meuten D.J. *Tumors in Domestic Animals.* 4ª ed. Iowa State Press, Iowa.
- Novosad C.A. 2003. Principles of treatment for mammary gland tumors. *Clin Tech Small Anim Pract.* 8(2): 107-109.
- Oliveira G.G. & Fonseca C.A. 2011. Uso de marcadores tumorais no diagnóstico e acompanhamento do tratamento do câncer. *Rev. Eletr. Farm.* 8(2): 60 – 74.

- Oliveira L.O., Oliveira R.T., Loretto A.P., Rodrigues R. & Driemeier D. 2003. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. *Acta Sci Vet.* 31(2): 105 – 110.
- Rodaski S. & Piekars C.H. 2009. *Biologia do Câncer*, p 24 – 49 In: Daleck C.R., De Nardi A.B. & Rodaski S. (Eds). *Oncologia em cães e gatos*. Roca, São Paulo.
- Sakamoto S.S. 2011. Identificação de elementos traço em tumores de mama de cadelas e sua correlação com histopatologia e prognóstico de vida.. 92f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba-SP. Disponível em: <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/94699>. Acesso em 15 ago. 2016.
- 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.
- Silveira L.A. 2005. *Câncer ginecológico: Diagnóstico e tratamento*. Florianópolis: UFSC. 382p.
- 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*. 4<sup>a</sup> ed. Elsevier, St Louis.
- Souza J.V. 2002. Marcadores mucinosos associados a câncer. *Ver. AMRIGS.* 46(1): 70-83.
- Zuccari D.A.P.C, Castro R., Gavioli A.F., Mancini U.M., Tajara E.H., Frade C.S., Pivaro L.R., Carmona-Rafhe J., Terzian A.C.B., Ruiz C.M., Bertollo E.M.G. & Pavarino-Bertelli E.C. 2009. The maspin expression in canine mammary tumors: An immunohistochemical and molecular study. *Pesq. Vet. Bras.* 29 (2): 167-173.
- Withrow S.J. & Macewen E.G. 2007. *Small Animal Clinical Oncology*. 4th ed. St. Louis: Elsevier. 846p.

#### **Legendas das Figuras**

Fig 1: Imagem fotográfica de quatro pacientes que participaram do projeto (grupo teste), demonstrando a variedade de apresentação clínica das neoplasias. A e B representam nódulos pequenos, sem ulceração em apenas uma mama. C e D estágio mais avançado da doença, com neoplasias grandes o ulceradas cometendo mais de uma mama.

Fig 2: Gráfico demonstrativo dos valores do marcador CA 15-3 representados em média e erro padrão do grupo teste (pré e pós-mastectomia) (n=20) e do grupo controle (n=20), encontrados no experimento, através do método de eletroquimioluminescência. Guarapuava/PR, 2015. Letras diferentes entre si indicam diferença estatística entre os grupos onde  $p < 0,05$



ALEXANDER, K et al. **Comparison of computed tomography, computed radiography, and film-screen radiography for the detection of canine pulmonary nodules.** *Vet Radiol Ultrasound*. v. 53, n. 3, p.258-265, 2012.

ALMEIDA, J.R.C. **Marcadores Tumorais.** In: \_\_\_\_\_Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade. São Paulo: Atheneu; 2006. cap 3, p. 61-72.

ALMEIDA, J.R.C et al. **Marcadores Tumorais: Revisão de literatura.** *Revista Brasileira de Cancerologia*, Malden, v. 53, n. 3, p. 305-316. 2007.

AGYAGOSOVA, A.V et al. **Determination of carcinoembryonic antigen and cancer antigen (ca 15-3) in bitches with tumours on mammary gland: preliminary report.** *Veterinary and Comparative Oncology*; v. 12, n.3, p 205–214, 2012.

ARAÚJO, J.H.G. **Principais Marcadores Tumorais Utilizados na Prática Clínica: Uma revisão bibliográfica.** 2013. 68 f. Monografia (Graduação). UFPB. João Pessoa - PB.

BICALHO, S.R. **Quantificação sérica do marcador tumoral CA 15.3 em cadelas híidas por quimioluminescência.** 2012. 28 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal.

BUENO, A. V. J et al. Perfil da população canina e felina assitidas pelo serviço de pronto atendimento da clínica escola veterinária (CEVET – UNICENTRO) no biênio 2007- 2008. In: Salão de Extensão e Cultura 2008. Guarapuava - PR, disponível em: [http://anais.unicentro.br/sec/isec/pdf/resumo\\_79.pdf](http://anais.unicentro.br/sec/isec/pdf/resumo_79.pdf).

CAMPOS, L.C. **Avaliação de marcadores tumorais séricos em cadelas com e sem metástase em câncer de mama.** 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAPELOZZI, V.L. **Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão.** *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, v. 27, n. 6, p 321-28. 2001.

CASSALI, G.D et al. **Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013.** *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, Belo Horizonte, v. 7, n. 2, p. 38 – 69, 2014.

CAVALCANTI, M.F; CASSALI G.D. **Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas- revisão.** *Revista Clínica Veterinária*, São Paulo, v. 11, n 61, p. 56- 63, 2006.

CHILDRESS, M.O. **Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient.** Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. v. 42, n. 1, p. 123-155, 2012.

CIRILO, J.V. **Tratamento quimioterápico das neoplasias mamárias em cadelas e gatas.** Revista do Instituto Ciência Saúde, v.26, n.3, p. 325-7, 2008.

DALECK, C.R et al. **Aspectos clínico e cirúrgico do tumor mamário canino.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 28, n. 1, p 95 – 100, 1998.

DE NARDI, A.B et al. **Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná.** Archives of Veterinary Science, Curitiba, v. 7, n. 2, p 15-26, 2002.

EISENBERG, A. L. A.; KOIFMAN, S. **Câncer de Mama: Marcadores Tumorais (Revisão de Literatura).** Revista Brasileira de Cancerologia, cidade. v. 47, n 4, p 377-88, 2001.

FELICIANO M.A.R et al. **Neoplasia mamária em cadelas – revisão de literatura.** Revista científica eletrônica de medicina veterinária. Ano IX. n. 18, Janeiro de 2012 – Periódicos Semestral.

FONSECA, C.S; DALECK, C.R. **Neoplasias mamarias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovario-histerectomia como terapia adjuvante.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n.4, p 731-735, 2000.

FOSSUM, T.W et al. **Cirurgia de Pequenos Animais.** 2 ed. p. 1390. São Paulo: Roca, 2008.

GARRIDO, E. **Determinação dos valores plasmáticos de osteopontina em cães com tumores mamários metastáticos ou não. Correlações clínicas e anatomopatológicas.** 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal.

GERAGHTY, J.G et al. **CA 15-3 in patients with locoregional and metastatic breast carcinoma.** Cancer, Hoboken. v. 70, n 12, p 831-834, 1992.

GOLDHIRSCH, A.. **Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005.** Annals of Oncology. v. 16, n 10, p. 1569- 1583, 2005.

INCA – Instituto Nacional do Câncer: banco de dados. Disponível em: <  
[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/mama/cancer\\_mama++>](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/mama/cancer_mama++>).

Acesso em 25/07/2016.

LOPEZ, N. C et al. **Metástasis óseas múltiples de cáncer de mama. Papel del CA 15.3 y respuesta a la hormonoterapia.** Revista chilena obstetricia ginecologia, cidade, v. 77, n. 4, p 291 – 295, 2012.

MANUALI, E et al. **CA 15-3 cell lines and tissue expression in canine mamary câncer and correlation between serum levels and tumor histological grade.** BMC Veterinary Research, London. v. 8, n 86, p 1-10, 2012.

MARCHESI, M.C et al. **Cancer antigen 15/3: possible diagnostic use in veterinary clinical oncology. Preliminary study.** Veterinary research communications, Veterinary Research Communications, Edinburgh. v. 34, n 1, p 103–106, 2010.

MATTOS, L.L et al. **Tecnologia aplicada na detecção de marcadores tumorais.** Arq méd ABC, Santo André. v. 30, n 1, p 19-25, 2005.

MISDORP, W. Tumors of the Mammary Gland. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals.** 4<sup>th</sup> ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. cap 12, p 575 – 606.

NOVOSAD, C.A. **Principles of treatment for mammary gland tumors.** Clinical Techniques in Small Animal Practice, v. 8, n. 2, p. 107- 109, 2003.

O'BRIEN, D.P et al. **CA15-3: a reliable indicator of metastatic bone disease in breast cancer patients.** Annals of the Royal College of Surgeons of England. v. 74, p 9-12, 1992.

OLIVEIRA, G.G.; FONSECA, C.A. **Uso de marcadores tumorais no diagnóstico e acompanhamento do tratamento do câncer.** Revista Eletrônica de Farmácia, Goiânia. v. 8, n 2, p 60 – 74, 2011.

OLIVEIRA, L.O et al. **Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina.** Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre. v. 31, n 2, p 105 – 110. 2003.

RIBEIRO, L.G.R. **Carcinoma inflamatório de mama em cadela: caracterização da resposta inflamatória, achados clínicos e anatomohistopatológicos.** 2012. 142f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.

RODASKI, S.; PIEKARS, C.H. Biologia do Câncer. In: DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B, RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em cães e gatos.** São Paulo: Roca, 2009. cap. 2, p 24 – 49. ISBN – 978-85-7241-764-8.



SAKAMOTO, S. S. **Identificação de elementos traço em tumores de mama de cadelas e sua correlação com histopatologia e prognóstico de vida.** 2011. 92f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba-SP.

SILVA, A. H. C et al. **Alterações no hemograma de cadelas com neoplasia mamária.** Ciência. Animal Brasileira, Goiânia, v.15, n.1, p. 87-92, jan./mar. 2014.

SILVEIRA, L.A. **Câncer ginecológico: Diagnóstico e tratamento.** Florianópolis: UFSC, 2005, 382p. ISBN - 8532803326.

SORENMO, K.U et al. Tumors of the Mammary Gland. In: Withrow, S.J. & Macewen, E.G. **Small Animal Clinical Oncology.** 5th ed. St Louis: Elsevier, 2013. cap. 27, p. 538 – 556.

SOUZA, J.V. **Marcadores mucinosos associados a câncer.** Revista AMRIGS, Porto Alegre. 2002; v. 46, n 1, p 70-83, 2002.

ZUCCARI, D.A.P.C et al. **The maspin expression in canine mammary tumors: An immunohistochemical and molecular study.** Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro. v. 29, n 2, p 167-173, 2009.

ZUCCARI, D. A. P. C.; SANTANA, A. E.; ROCHA, N. S. **Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas – revisão.** Clínica Veterinária, São Paulo, n. 32, p. 50-54, 2001.

WITHROW, S. J. & MACEWEN, E. G. **Small Animal Clinical Oncology.** 4th ed. St. Louis: Elsevier, 2007, 846p. ISBN-13: 978-0-7216-0558-6.

