

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**VALOR CLÍNICO DO CEA E DA AFP NA DETECÇÃO DE
CARCINOMA DE MAMA EM CADELAS**

Igor Luiz Salardani Senhorello
Médico Veterinário

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

**VALOR CLÍNICO DO CEA E DA AFP NA DETECÇÃO DE
CARCINOMA DE MAMA EM CADELAS**

Igor Luiz Salardani Senhorello

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mirela Tinucci Costa

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Erika Maria Terra

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária)

2017

S474v Senhorello, Igor Luiz Salardani
Valor clínico do CEA e da AFP na detecção de carcinoma de mama em cadelas/ Igor Luiz Salardani Senhorello. -- Jaboticabal, 2017
iv, 22 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientadora: Mirela Tinucci Costa
Banca examinadora: Felipe Augusto Ruiz Sueiro, Letícia Abrahão

Anai
Bibliografia

1. Prognóstico. 2. Tumor-mama. 3. Biomarcadores. 4. Metástase. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-006:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: VALOR CLÍNICO DO CEA E DA AFP NA DETECÇÃO DE CARCINOMA DE MAMA EM CADELAS

AUTOR: IGOR LUIZ SALARDANI SENHORELLO

ORIENTADORA: MIRELA TINUCCI COSTA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ERIKA MARIA TERRA

Departamento de Medicina Veterinária / Centro Universitário Central Paulista - São Carlos, SP

Pesquisador Dr. FELIPE AUGUSTO RUIZ SUEIRO

Patologia e Biologia Molecular Veterinária - Campinas, SP / Patologia e Biologia Molecular Veterinária - Campinas, SP

Pós-doutoranda LETÍCIA ABRAHÃO ANAI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 17 de fevereiro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Igor Luiz Salardani Senhorello nasceu em Venda Nova do Imigrante-ES no ano de 1989. Iniciou os estudos na Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio “Sirena Rezende Fonseca” concluindo o ensino fundamental no ano de 2004. Em 2005 iniciou o ensino médio e profissionalizante em técnico em agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Alegre-ES, concluindo em 2007, e no ano seguinte ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Durante a graduação foi aluno de iniciação científica e monitor de diversas disciplinas, concluindo a graduação em 2012. Realizou Residência em Clínica Médica de Pequenos Animais pelo Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária e Saúde Pública na Universidade Estadual Paulista- UNESP Campus de Jaboticabal de 2013 a 2015, participando da Associação dos Médicos Veterinários da UNESP-Jaboticabal como tesoureiro no ano de 2013. Atualmente é Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na área de Clínica Médica Veterinária e foi aprovado no processo seletivo para o Doutorado pelo mesmo programa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me permitiu chegar até aqui.

À minha família (pai, mãe e irmão) meu porto seguro, minha confiança em seguir em frente, sem vocês caminhar não seria possível e também a grande família Salardani.

À minha namorada Camila Goloni, por estar ao meu lado em todos os momentos, me dando forças quando o desânimo aparecia. Você é muito importante para mim.

À minha orientadora Professora Mirela Tinucci, que desde o começo da minha trajetória na UNESP-Jaboticabal foi sempre uma mãe, me dando apoio em todas as situações. Obrigado infinitamente por toda orientação, carinho e confiança.

À minha co-orientadora Professora Erika Terra, por ter aceitado seguir comigo esse trabalho me dando apoio e me ajudando a crescer a cada dia. Obrigado por seu carinho e preocupação comigo.

A todos os amigos que conquistei em Jaboticabal em especial a família HV, por toda parceria, ajuda e motivação para conclusão dessa etapa.

Aos meus grandes amigos da rep. a esclarecer Bruno, Julielton, Paulo e Nazilton, vocês fazem parte da minha família.

Ao Serviço de Oncologia e de Obstetrícia do Hospital Veterinário da UNESP-Jaboticabal, sem o apoio de vocês nada disso seria possível.

À UNESP-Jaboticabal pela oportunidade oferecida.

Ao Laboratório VetPat pela parceria realizada nesse trabalho.

À FAPESP (Processo 2015/15015-9) pela concessão da bolsa de mestrado e auxílio para pesquisa.

Aos cães que participaram desse trabalho, espero poder retribuir de alguma maneira.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- Considerações gerais.....	1
Introdução e revisão de literatura	1
Referências	4
CAPÍTULO 2 - Valor clínico do CEA e da AFP na detecção de carcinoma de mama em cadelas	8
Introdução.....	9
Material e métodos.....	9
Resultados.....	11
Discussão	15
Conclusões.....	19
Referências	20

*Capítulo 2 realizado nas normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnica.



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 10801/15 do trabalho de pesquisa intitulado **"Uso de marcadores sorológicos para o estabelecimento do prognóstico e o monitoramento de recidivas em neoplasias mamárias de cadelas"**, sob a responsabilidade da Profª Drª Mirela Tinucci Costa está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 12 de junho de 2015.

Jaboticabal, 12 de junho de 2015.


Profª Drª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

VALOR CLÍNICO DO CEA E DA AFP NA DETECÇÃO DE CARCINOMA DE MAMA EM CADELAS

RESUMO - Tumores mamários são altamente prevalentes em cadelas e apresentam comportamento biológico semelhante ao das mulheres, fazendo da cadela um modelo para o estudo comparativo. Em mulheres, a utilização dos marcadores sorológicos está bem consolidada, sendo um método útil para o acompanhamento da paciente desde o diagnóstico. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento do antígeno carcinoembrionário (CEA) e da Alfafetoproteína (AFP) em cadelas com carcinomas mamários metastáticos e não metastáticos, para futuramente utilizá-los no monitoramento e prognóstico das pacientes. Para tanto, foram utilizados soros de 35 cadelas, separados em três grupos; G1 (n=10): grupo controle (cadela livre de neoplasias); G2 (n=20): cadelas com carcinoma de mama sem metástase em linfonodo e G3 (n=5): cadelas com carcinoma de mama com metástase em linfonodo. O CEA e a AFP foram dosados por ELISA e os resultados foram avaliados pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, quanto à presença de cada marcador no soro da paciente, sua relação com o comportamento biológico da neoplasia e as alterações clínico-patológicas encontradas. Os resultados mostraram que os valores de CEA ($p < 0,0001$) e AFP ($p = 0,0004$) foram significativamente maiores nas cadelas com carcinoma de mama, em comparação as saudáveis. Além disso, os valores de CEA estavam significativamente aumentados nas cadelas com metástase ($p < 0,0001$) e naquelas com tumores maiores do que 3 cm de diâmetro ($p = 0,0091$). Houve aumento significativo da AFP em animais castrados ($p = 0,0307$). Não houve relação entre as variáveis grau histológico, necrose, ulceração e inflamação para ambos os marcadores. Os resultados evidenciaram que o CEA se mostrou eficiente em detectar carcinoma de mama em cadelas e pode ser um marcador promissor para o acompanhamento de cadelas com neoplasia mamária. Estudos futuros, que incluam o *follow up* das pacientes serão necessários para que esse marcador seja efetivamente incluído na rotina clínica da oncologia veterinária como marcador de prognóstico.

PALAVRAS-CHAVE: prognóstico, tumor de mama, biomarcadores, metástase

CLINICAL SIGNIFICANCE OF CEA AND AFP IN THE DETECTION OF MAMMARY CARCINOMAS IN BITCHES

ABSTRACT- Mammary tumors are highly prevalent in bitches and present biological behavior for women, making the bitch a model for the comparative study. In women, the use of serological markers for prognostic determination is well established, being a useful method for monitoring patients since his diagnosis. Thus, the objective of this study was to evaluate the behavior of carcinogenic antigen (CEA) and alpha-fetoprotein (AFP) in bitches with mammary tumors, with the aim of using those as diagnostic and prognostic markers in these animals. For that, sera from 35 bitches were used and separated into three groups; G1 (n = 10) control group; G2 (n = 15) animals with mammary carcinomas with no lymph node metastasis and G3 (n = 5) animals with mammary carcinomas with lymph node metastasis. Markers were measured by ELISA method. Results regarding the presence of markers in sera of each patient, its relation with tumor behavior and clinical-pathological variables were analyzed with Tukey test with a significance level of 5%. Results showed that values of CEA ($p < 0.0001$) and AFP ($p = 0.0004$) were significantly higher in bitches with mammary tumors. In addition, CEA values significantly increases in bitches with metastasis ($p < 0.0001$) and larger than 3.0 cm tumors ($p = 0.0091$). There was a significant increase in AFP in intact bitches ($p = 0.0307$). There was no significance among histological grade, necrosis, ulceration and inflammation for both markers. CEA was efficient in detecting the presence of mammary carcinomas and may be a promising marker for the follow-up of female dogs with mammary tumors. Future studies, including follow-up of patients with serial measures should be performed to include these markers in the clinical routine of veterinary oncology.

KEY WORDS: prognosis, mammary tumor, biomarkers, metastasis

CAPÍTULO 1- Considerações gerais

Introdução e revisão de literatura

Segundo relatório da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC)/OMS (Organização Mundial da Saúde), o impacto global do câncer mais que dobrou em 30 anos. Estimou-se que, no ano de 2012, ocorreriam cerca de 14,1 milhões de casos novos, com 8,2 milhões de óbitos. No Brasil, cerca de 58.000 mulheres foram diagnosticadas com câncer de mama em 2016 (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2012; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA, 2016).

A glândula mamária é o sítio tumoral mais frequente nas fêmeas da espécie canina, especialmente nas adultas e não castradas, com incidência três vezes maior que a mulher, além de serem malignas em cerca de 50% dos casos (LINDBLAD-TOH et al., 2005.; UVA et al., 2009; SHAFIEE et al., 2013).

Cadelas com neoplasias mamárias malignas apresentam sobrevida significativamente menor se comparadas àquelas com neoplasias benignas. Uma causa comum de mortalidade por esta enfermidade, tanto em mulheres quanto em cadelas, deve-se ao aparecimento de recidivas e metástases do tumor primário, principalmente para linfonodos regionais, pulmões, fígado e baço (DE NARDI et al., 2008; KLOPFLEISCH e GRUBER, 2009). Segundo Sorenmo (2003) a sobrevida de dois anos de cadelas com neoplasias malignas é de 25% a 40%, no entanto, esta sobrevida pode ser influenciada por vários fatores e, variar significativamente dependendo do tipo e grau histológico do tumor, presença de metástases regionais ou à distância, estágio da doença e tratamento utilizado.

A busca por iniciativas e métodos que auxiliem no diagnóstico, monitoramento e estabeleçam o prognóstico dos pacientes é constante e os fatores prognósticos podem ser estabelecidos por uma característica clínica, patológica, biológica ou um conjunto destas, sendo elas específicas de indivíduos e de seus tumores. Estes fatores permitem a previsão da evolução clínica e sobrevida de pacientes após a cirurgia inicial (CALVANTTI e CASSALI, 2006).

Estudo dos fatores prognósticos, assim como, de métodos de diagnóstico e monitoramento é de extrema importância, pois através deles é possível selecionar pacientes para tratamentos específicos e individualizados, com intensidade e eficácia adequadas, fornecendo suporte para prever o comportamento e a evolução clínica dos tumores mamários (ABREU e KOIFMAN, 2002; MARINHO et al., 2008).

Embora na medicina humana já existam diversos marcadores prognósticos estabelecidos, em oncologia veterinária a busca de possíveis marcadores está em curso, sendo a maioria destes obtidos por meio da imuno-histoquímica. Desta forma, esses marcadores, quando expressos no tumor, são avaliados em um único momento, quando o tumor primário é retirado cirurgicamente (CASSALI, 2000; DE NARD et al., 2007; GAMA et al., 2008b; CASSALI et al., 2014).

Em humanos, tanto para o câncer de mama, como em outras neoplasias, o uso de marcadores sorológicos foi introduzido a fim de auxiliar o acompanhamento da paciente desde o diagnóstico até o término do tratamento, sendo útil na detecção precoce de recidivas, além de contribuírem para diminuir o desgaste físico e emocional inerentes aos exames utilizados para o acompanhamento dos pacientes. Além disto, sabe-se também que estes marcadores possuem relação com o prognóstico dos pacientes (HARRIS et al., 2007).

Marcadores sorológicos são proteínas ou enzimas produzidas pelas células tumorais em resposta à tumorigênese e que estão presentes no soro do paciente (UEHARA et al., 2008). Essas enzimas ou proteínas variam dependendo do tipo de tumor e órgão afetado (HARRIS et al., 2007) e podem, pelo aumento em suas concentrações, indicar a origem, recidiva ou crescimento do tumor (CAPELOZZI, 2001). Um marcador sorológico considerado ideal é aquele que sendo produzido pelo tumor se dissemina pelos fluidos corpóreos e pode ser detectado por métodos não invasivos. Ademais, seus níveis devem aumentar proporcionalmente ao caráter de malignidade ou progressão da neoplasia, além de estarem relacionados ao estágio da doença (SOUZA, 2002).

Em mulheres com câncer de mama, um dos principais biomarcadores utilizados é o antígeno carcinoembrionário (CEA). Esse marcador está aumentado no soro da maioria das mulheres com câncer de mama quando comparado às

mulheres saudáveis e também quando há metástase em linfonodo regional (WANG et al., 2014; WU et al., 2014).

O CEA é o protótipo de marcador tumoral por ser o primeiro marcador sorológico descoberto. Inicialmente foi estudado em câncer de cólon e reto, porém observou-se que esse marcador também estava aumentado em outras neoplasias malignas, incluindo o câncer de mama. O CEA é produzido pela mucosa gastrointestinal, possui peso molecular aproximado de 200kD fazendo parte do grupo das imunoglobulinas (KASPER et al., 2004). Este antígeno pode também estar aumentado em alguns distúrbios benignos, portanto, para sua adequada interpretação, é imprescindível que o estadiamento clínico seja realizado da forma mais detalhada possível (HARRIS et al., 2007).

O CEA parece ser útil para estabelecer o prognóstico de pacientes no pré-operatório; o valor aumentado tem relação com o tamanho do tumor. Ele também é utilizado para o monitoramento de mulheres com câncer de mama metastático (VERONESI et al., 2002; WU et al., 2014).

Outro marcador sorológico associado ao câncer de mama em mulheres é a alfafetoproteína (AFP). Segundo Sarcione e Biddle (1987), a AFP está aumentada no soro de mulheres que apresentam carcinoma mamário primário e sua avaliação seriada pode fornecer informações importantes quanto ao diagnóstico e prognóstico dos pacientes. AFP é uma importante proteína do soro fetal, sintetizada no fígado, saco vitelino e intestino do feto, com funções de transporte plasmático e de manutenção da pressão oncótica, desaparecendo no primeiro ano de vida (GOMES, 1997; ROSA et al., 2005). Em humanos, níveis acima de 500ng/mL são altamente sugestivos de malignidade; valores acima 1000ng/mL são indicativos de presença de neoplasia (ALMEIDA, 2004). Em cães, a dosagem sérica aumentada de AFP foi relacionada à presença de carcinoma hepático e colangiocarcinoma (LOWSETH et al., 1991; YAMADA et al., 1999).

Apesar de muito utilizados na medicina humana, o emprego de marcadores sorológicos no monitoramento de neoplasias e na determinação do prognóstico ainda não é uma realidade na medicina veterinária, embora estejam sendo testados com alguns resultados promissores. Manuali et al. (2012) observaram aumento nas

concentrações de CEA em cadelas com neoplasias mamárias e Campos et al. (2012) também encontraram resultados semelhantes utilizando o CA 15.3.

Cadelas portadoras de tumores mamários devem ser submetidas à cirurgia, não sem antes realizar exames periódicos para estadiamento e monitoramento da doença (CASSALI et al., 2014). A possibilidade da utilização de marcadores menos invasivos que possam indicar precocemente a recidiva tumoral ou de um foco metastático, torna-se cada vez mais útil e necessário.

Desta forma, estudos com marcadores sorológicos em neoplasias mamárias caninas estão sendo realizados (MARCHESI et al., 2010; CAMPOS et al., 2012; MANUALI et al., 2012) e devem ser estimulados. Sendo assim, este estudo visou avaliar os marcadores CEA e AFP em cadelas com carcinoma mamário, buscando correlacionar os valores às alterações clínico-patológicas. Para futuramente avaliar o comportamento desses marcadores na determinação do prognóstico e detecção precoce de metástase e/ou recidiva.

Referências

- ABREU E.; KOIFMAN, S. Fatores prognósticos no câncer da mama feminina. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, p. 31-113, 2002.
- ALMEIDA, J.R. C. **Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade**. São Paulo: Atheneu, p.61-72, 2004.
- CAMPOS, L.C.; LAVALLE, G.E.; ESTRELA-LIMA, A. et al. CA15.3, CEA, and LDH in dogs with malignant mammary tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, n.1383, p.88, 2012.
- CAPELOZZI V.L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. **Journal Pneumology**, v.27, n.6, p.321-28, 2001.
- CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E. et al. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013. **Brazilian Journal of Veterinary Patology**, v. 7, n. 2, p. 38-69, 2014.

CASSALI, G.D. **Estudos morfológicos, imunohistoquímicos e citométrico de tumores mamários da cadela – aspectos comparativos com neoplasias da mama humana.** (2000). 73 f. (Doutorado) - Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas - revisão. **Revista Clínica Veterinária**, v.11, p. 56-64, 2006.

DE NARDI, A.B.; DALECK, C.R.; LAUFER-AMORIM, R. et al. Correlação da ciclooxigenase-2 com o prognóstico dos carcinomas mamários de cadelas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.27, p.619, 2007.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias Mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds.) **Oncologia em Cães e Gatos**, 1ª Edição. São Paulo: Roca, 2008, cap. 25, p. 372-383.

ELSTON, C.W.; ELLIS, I. O. Assessment of histological grade. ELSTON CW., ELLIS IO. Eds. **Systemic Pathology. The breast.** London: Churchill Livingstone, p. 365-384, 1998.

GAMA, A.; PAREDES, J.; GÄRTNER, F. et al. Expression of E-cadherin, P-cadherin and β -catenin in canine malignant mammary tumors in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. **The Veterinary Journal**, v.177, n.45, p.53, 2008b.

GOMES, F. R. Marcadores tumorais (alcances e limites). **Acta Medica Portuguesa**. v.10, n.1, p.:75-80, 1997.

HARRIS L.; FRITSCH H.; MENNEL R. American Society of Clinical Oncology 2007: Update of recommendations for the use tumor markers in breast cancer. **Journal Clinical Oncology**, v. 25, p.5287–5312, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. Estimativa 2016 – Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>. Acesso em: 04 de janeiro de 2017.

KASPER, D. L.; BRAUNWALD E.; FAUCI, A. S. et al. *Harrisons Principles of internal medicine*. Part five: oncology and hematology. Section 1: Neoplastic Disorders. 16th ed. New York: **McGraw-Hill Education**, p. 240-50, 2004..

KLOPFLEISCH, R., GRUBER, A. D., Differential expression of cell cycle regulators p21, p27 and p53 in metastasizing canine mammary adenocarcinomas versus normal mammary glands. **Research in Veterinary Science**, v. 87, p. 91-96, 2009.

LINDBLAD-TOH, K.; WADE, C. M.; MIKKELSEN, T. S. et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. **Nature**, v. 438, 803-819, 2005.

LOWSETH, L. A. et al. Detection of serum alpha-fetoprotein in dogs with hepatic tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 6, p. 735-741, 1991.

MANUALI, E.; DE GIUSEPPE, A.; FELIZIANI, F. et al. CA 15-3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade. **BMC Vet Res**, p. 8-86, 2012.

MARCHESE, M. C.; MANUALI, E.; PACIFICO, E. et al. Cancer antigen 15/3: possible diagnostic use in veterinary clinical oncology. Preliminary study. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. S103-S106, 2010.

MARINHO, V. F Z.; METZE K.; SANCHES, F.S.F. et al. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. **Revista da Associação Médica Brasileira** ,v. 53, p. 72- 86, 2008.

ROSA, G. D.; BARCELLOS, G. B.; CARVALHAL, G. F. et al. Marcadores tumorais em urologia. **Acta Médica**, v. 26, p.155-65, 2005.

SARCIONE, E. J.; BIDDLE, W. Elevated serum alpha fetoprotein levels in postmenopausal women with primary breast carcinoma. **Disease markers**, v. 5, n. 2, p. 75-79, 1987.

SHAFIEE, R.; JAVANBAKHT, J.; ATYABI, N. et al. Diagnosis, classification, and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: an Clinico-cytohistopathological study with environmental factors influencing public health and medicine. **Cancer Cell International**. v. 13, n. 1, p. 79, 2013.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumours. **Veterinary Clinics of Small Animal Practice**. v. 33, p. 573-596, 2003.

SOUZA, J. V. Marcadores mucinosos associados ao câncer. **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre**, v. 46, n. 1-2, p. 70-83, 2002.

UEHARA, M. et al. Long-term prognostic study of carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 15-3 (CA 15-3) in breast cancer. **International journal of clinical oncology**, v. 13, n. 5, p. 447-451, 2008.

UVA, P.; AURISICCHIO, L.; WATTERS, J. et al. Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. **BMC genomics**, v. 10, n. 1, p. 135, 2009.

VERONESI, U.; LUINI A.; COSTA, A.; ANDREOLI, C. **Mastologia oncológica**. Milão: Medsi; 2002.

WANG, G.; QIN, Y.; ZHANG, J. et al. Nipple discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a new biomarker panel for breast cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 6, p. 9546-9565, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Cancer Report, 2012. International Agency for Research on Cancer.

WU, S. G.; HE, Z. Y.; ZHOU, J. et al. Serum levels of CEA and CA15-3 in different molecular subtypes and prognostic value in Chinese breast cancer. **The Breast**, v. 23, n. 1, p. 88-93, 2014.

YAMADA, T. et al. Serum alpha-fetoprotein Values in Dogs with Various Hepatic Diseases. **Journal of veterinary medical science**, v. 61, n. 6, p. 657-659, 1999.

CAPÍTULO 2 - Valor clínico do CEA e da AFP na detecção de carcinoma de mama em cadelas

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento do antígeno carcinoembrionário (CEA) e da Alfetoproteína (AFP) em cadelas com carcinomas mamários metastáticos e não metastáticos, para futuramente utilizá-los no monitoramento e prognóstico das pacientes. Para tanto, foram utilizados soros de 35 cadelas, separados em três grupos, sendo; G1 (n=10): grupo controle (cadela livre de tumor); G2 (n=20): cadelas com carcinoma de mama sem metástase em linfonodo; G3 (n=5): cadelas com carcinoma de mama com metástase em linfonodo. Os marcadores foram dosados por kits ELISA e resultados foram avaliados pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, quanto à presença de cada marcador no soro da paciente, sua relação com o comportamento biológico da neoplasia e as alterações clínico-patológicas encontradas. Os resultados mostraram que os valores de CEA ($p < 0,0001$) e AFP ($p = 0,0004$) foram significativamente maiores nas cadelas com carcinoma de mama, em comparação as saudáveis. Além disso, os valores do CEA estavam significativamente aumentados nas cadelas com metástase ($p < 0,0001$) e naquelas com tumores maiores do que 3,0 cm de diâmetro ($p = 0,0091$). Houve aumento significativo da AFP em cadelas castradas ($p = 0,0307$). Não houve significância entre grau histológico, necrose, ulceração e inflamação para ambos os marcadores. Os resultados evidenciaram que o CEA se mostrou eficiente em detectar a presença de carcinomas mamários em cadelas e pode ser um marcador promissor para o acompanhamento de cadelas com essa neoplasia. Estudos futuros, incluindo o *follow up* das pacientes serão necessários para que esse marcador seja efetivamente incluído na rotina clínica da oncologia veterinária.

PALAVRAS-CHAVE: prognóstico, tumor de mama, CEA, AFP, metástase

Introdução

Tumores mamários são altamente prevalentes em cadelas e apresentam comportamento biológico semelhante ao das mulheres, fazendo da cadela um modelo para o estudo comparativo. Todavia, diferente das mulheres, para as cadelas faltam métodos que auxiliem no diagnóstico, no monitoramento da doença e na estimativa do prognóstico. Em mulheres, a utilização dos marcadores sorológicos está bem consolidada, sendo um método útil para o acompanhamento do paciente desde o momento do diagnóstico.

O presente estudo teve por objetivos avaliar o comportamento do CEA e da AFP em cadelas com carcinomas mamários metastáticos e não metastáticos, antes do tratamento cirúrgico e correlacionar suas concentrações as variáveis clínico-patológicas, tais como: tamanho do tumor, grau histológico, presença de necrose, ulceração, inflamação e a influência da castração, para futuramente utilizá-los no monitoramento e prognóstico das pacientes.

Material e métodos

Coleta do Material

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP-Jaboticabal (protocolo nº 10801/15), e os proprietários que aderiram ao projeto assinaram orientação e um termo de consentimento livre esclarecido.

Foram utilizadas 35 cadelas, sem predileção por raça ou idade, oriundas do atendimento dos Serviços de Oncologia e de Obstetrícia Veterinária do Hospital Veterinário da UNESP, campus de Jaboticabal, SP, Brasil. Foram coletados no momento do diagnóstico 5,0 mL de sangue por venopunção jugular, com posterior centrifugação para obtenção do soro. Os soros foram divididos em alíquotas individuais e armazenados a -20 °C para posterior dosagem dos marcadores sorológicos.

O material biológico coletado foi separado em três grupos experimentais:

- Grupo 1 (G1), grupo controle composto por 10 alíquotas de soros de cadelas saudáveis, sem histórico de neoplasias;

- Grupo 2 (G2), composto por 20 alíquotas de soros de cadelas com carcinomas mamários sem metástase, conforme estadiamento clínico;
- Grupo 3 (G3), foi composto por cinco alíquotas de soros de cadelas portadoras de carcinomas mamários com metástase em linfonodo regional, detectado pela avaliação histológica.

Para a seleção das pacientes e estadiamento clínico foram realizados, no momento do diagnóstico, exame físico detalhado, de acordo com os preceitos semiológicos (palpação das mamas, mensuração dos nódulos, avaliação do estado geral da paciente), exames laboratoriais de rotina, bem como, radiografias torácicas (3 projeções) e ultrassonografia abdominal para pesquisa de metástases. O estadiamento clínico (TNM) foi realizado de acordo com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (WHO) (OWEN, 1980).

A mastectomia total, uni ou bilateral, foi realizada de acordo com a indicação para cada caso (Cassali *et al.*, 2104), durante a qual foi retirado o linfonodo regional (inguinal e/ou axilar) para avaliação histopatológica e estadiamento.

Foram avaliadas variáveis clínico-patológicas como: tamanho tumoral, presença de ulceração pela avaliação macroscópica; grau histológico, necrose e inflamação pela avaliação histopatológica, além de realização prévia de ovariectomia. Para obtenção do tamanho do tumor seguiu-se a metodologia proposta por Yamagami *et al.* (1996), a qual propõe mensurar a medida do maior diâmetro do tumor, em centímetros (cm), com auxílio de um paquímetro digital.

Foram incluídas no projeto as cadelas que apresentavam metástase detectável apenas em linfonodo regional; aquelas que apresentaram imagem sugestiva de metástase à distância no momento do diagnóstico foram excluídas do projeto. Metástase à distância foi considerada a detecção de massas na cavidade torácica ou abdominal, no momento do diagnóstico, por meio de imagem radiográfica e/ou ultrassonográfica. Outros critérios de exclusão foram outras neoplasias e doenças concomitantes, isso para evitar qualquer alteração nas concentrações dos marcadores que não fosse relacionada à neoplasia mamária.

Histopatologia

Imediatamente após a remoção cirúrgica, amostras de neoplasias mamárias foram fixadas em formalina tamponada a 10% por um período de 24 a 48 horas e, em seguida, armazenadas em

álcool 70% até o momento do processamento. Posteriormente, foram processadas, incluídas em parafina, cortadas na espessura de 5 μ em micrótomo e coradas pela Hematoxilina & Eosina. A análise, em microscopia de luz, seguiu o preconizado por Cassali *et al.* (2014), avaliando-se grau de diferenciação celular, pleomorfismo, anaplasia, metástase em vasos sanguíneos e linfáticos, invasão do tecido adjacente e metástases em linfonodos. Com relação ao grau histológico, os grupos foram divididos em grau I, II e III, seguindo a classificação histopatológica de Elston e Elis (1998).

Marcadores Sorológicos

Para dosagens dos marcadores sorológicos foram empregados kit ELISA humano (AccuBind ELISA Kits - MONOBIND INC) para CEA (catalogo 1825-300) e AFP (catalogo 1925-300). O equipamento para leitura foi o *ELISYS UNO human* e a técnica empregada foi a recomendada pelo fabricante.

Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise de variância para delineamento inteiramente ao acaso e com nível de significância de 5%. As variáveis que apresentaram coeficientes de variação altos foram transformadas antes das análises em log da resposta da medida + 1. Nas comparações múltiplas das médias, utilizou-se o teste de Tukey (nível de significância = 0,05). Para essas análises foi utilizado o procedimento General Linear Models (GLM) do programa computacional SAS (SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA)

Resultados

O carcinoma em tumor misto foi o tipo histológico (Cassali *et al.*, 2014), mais frequentemente diagnosticado (15/25; 60%), seguido do carcinoma tubular (4/25; 16%) (Tab. 1). Com relação à frequência das raças, os animais sem raça definida (SRD) foram à maioria (13/25; 52%) e a idade variou de 5 a 15 anos (média de $10 \pm 2,42$).

Tabela 01- Classificação histológica dos tumores de mama deste estudo (n=25).

Diagnóstico	Frequência	%
Carcinoma em tumor misto	15	60
Carcinoma tubular	4	16
Carcinoma papilar	3	12
Carcinoma sólido	2	8
Carcinoma micropapilar	1	4
Total	25	100

Analisando as médias das concentrações de CEA nos grupos G1, G2 e G3 foram observadas diferenças significantes entre as médias do CEA para os grupos G1 e G2 ($p < 0,00001$), grupos G2 e G3 ($p < 0,00001$) e entre os grupos G1 e G3 ($p < 0,00001$), mostrando os grupos com carcinoma mamário e carcinoma mamário metastático com valores de CEA mais elevados do que o grupo controle. Também, cadelas com carcinomas metastáticos apresentaram valores de CEA significativamente mais elevados do que cadelas com carcinomas mamários não metastáticos.

As concentrações de AFP mostraram diferença entre as médias dos grupos G1 e G2 ($p = 0,0004$), onde cadelas com carcinoma mamário apresentaram valores de AFP maiores do que o grupo controle, e não significante entre os grupos G2 e G3 ($p > 0,05$) (Tab. 2).

Tabela 02. Média e desvio padrão dos valores das dosagens de CEA e AFP no soro de cadelas sadias (G1), com carcinomas mamários sem metástase (G2) e com carcinomas mamários com metástase (G3).

Grupos (n)	CEA (ng/ml)	AFP (T) (ng/ml)
G1 (10)	0.47 (± 0.38) a	0.41 (± 0.14) a
G2 (20)	1.90 (± 0.81) b	0.89 (± 0.34) b
G3 (5)	2.94 (± 0.64) c	0,73 (± 0.12) b

CEA; antígeno carcinoembrionário; AFP: Alfafetoproteína; Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$); Letras iguais indicam que não há diferença entre as médias ($p > 0,05$).

*T- houve transformação logarítmica nos valores de AFP.

Para avaliar se as concentrações de CEA e AFP apresentavam relação com o tamanho tumoral, as amostras de soro das cadelas do G2 e G3 foram separadas em três grupos (n=25), sendo:

- T1: soros de cadelas com tumores menores que 3,0 cm (n=14)
- T2: soros de cadelas com tumores entre 3,0 e 5,0 cm (n=6)
- T3: soros de cadelas com tumores maiores que 5,0 cm (n=5)

Foi observada diferença significativa nas concentrações de CEA entre os grupos T1 e T2 e T1 e T3 ($p=0.0091$). Não houve diferença entre os grupos T2 e T3 (Tab. 3). De modo geral, soros de cadelas com tumores maiores do que 3,0 cm apresentavam concentrações de CEA superiores a aqueles menores do que 3,0cm. Quando se analisou a AFP, não se observou diferença significativa entre os três grupos ($p=0.1614$).

Tabela 03- Concentrações de CEA e AFP em relação ao tamanho do tumor das cadelas com carcinoma mamário (média e desvio padrão).

Grupos	<i>n</i>	CEA (ng/ml)	AFP (ng/ml)
T1 (<3cm)	14	1,66 ($\pm 0,69$) a	1,32 ($\pm 0,75$)a
T2 (3-5 cm)	6	2,79 ($\pm 0,66$)b	2,23 ($\pm 1,79$)a
T3 (>5 cm)	5	2,54 ($\pm 0,95$)b	1,13 ($\pm 0,25$)a

CEA; antígeno carcinoembrionário; AFP: Alfafetoproteína; Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias ($p<0,05$); Letras iguais indicam que não há diferença entre as médias ($p>0,05$).

Não houve diferença nas dosagens de CEA e AFP com relação às variáveis clínico-patológicas utilizadas no presente estudo: grau histológico, ulceração, necrose e inflamação (Tabela 4).

Tabela 04- Relação das concentrações sérias do CEA e AFP com as variáveis clínico-patológicas analisadas (média e desvio padrão).

		CEA (ng/ml)	P-valor	AFP (ng/ml)	P-valor
Histológico	Grau I (n=8)	1,82 ($\pm 0,74$)a	0,37	1,06 ($\pm 0,03$)a	0,42
	II (n=8)	1,96 ($\pm 0,91$)a		1,83 ($\pm 1,70$)a	
	III (n=9)	2,50 ($\pm 0,91$)a		1,55 ($\pm 0,83$)a	
Ulceração	Não (n= 20)	2,19 ($\pm 0,90$)a	0,2993	1,59 ($\pm 1,15$)a	0,3411
	Sim (n= 5)	1,68 ($\pm 0,66$)a		1,02 ($\pm 0,14$)a	
Necrose	Não (n= 19)	2,08 ($\pm 0,95$)a	0,8075	1,64 ($\pm 1,21$)a	0,2637
	Sim (n= 6)	2,19 ($\pm 0,65$)a		1,06 ($\pm 0,07$)a	
Inflamação	Não (n=10)	2,18 ($\pm 1,13$)a	0,75	1,38 ($\pm 0,68$)a	0,65
	Sim (n=15)	2,06 ($\pm 0,70$)a		1,58 ($\pm 1,29$)a	

CEA; antígeno carcinoembrionário; AFP: Alfetoproteína; Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$); Letras iguais indicam que não há diferença entre as médias ($p > 0,05$).

No que diz respeito à castração, foi observada diferença significativa nas concentrações de AFP entre animais castrados e não castrados, onde fêmeas castradas apresentaram menores valores de AFP ($p = 0,0307$). Não se observou o mesmo em relação às concentrações de CEA ($p = 0,34$) (Figura 1).

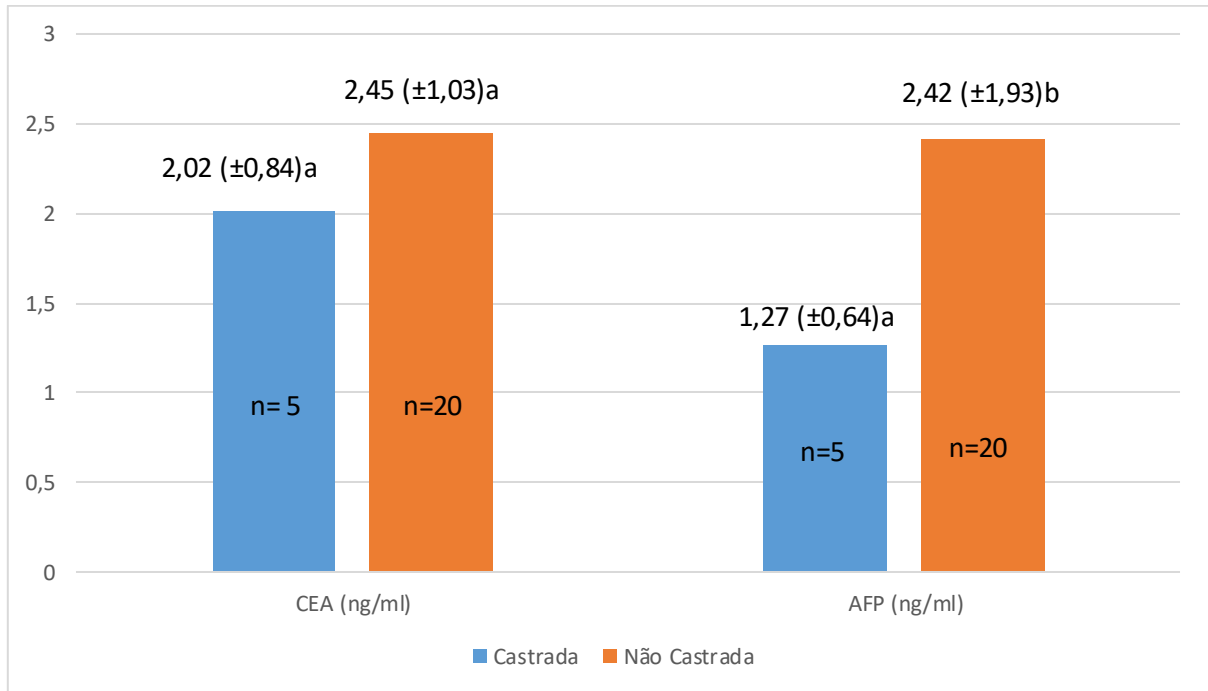


Figura 1: Valores séricos de CEA e AFP em cadelas com carcinoma de mama castradas e não castradas (média e desvio padrão). Letras iguais indicam que não há diferença estatística ($p > 0,05$). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Discussão

Neoplasias mamárias malignas espontâneas são muito frequentes em fêmeas da espécie canina, registrando incidência três vezes maior que em mulheres (Lindblad-Toh *et al.*, 2005; Uva *et al.*, 2009; Shafiee *et al.*, 2013). A literatura registra o carcinoma em tumor misto o tipo histológico mais frequente nas cadelas (Misdorp *et al.*, 1999; Campos *et al.*, 2012; Cassali *et al.*, 2014), coincidente com o encontrado no estudo em tela.

Cadelas sem definição racial (SRD) foram as mais frequentes entre o grupo de animais com neoplasia, o que difere dos estudos de Alenza *et al.* (2000) e Campos *et al.* (2012). Para Alenza *et al.* (2000), os animais de raça pura apresentaram predisposição maior para desenvolver neoplasia mamária, e Campos *et al.* (2012) relatam os da raça poodle. Essa discordância pode ser atribuída à clientela de cada uma das localidades estudadas, sendo regiões diferentes e com possível influência nessa variável. A idade média de 10 anos

observada foi semelhante à reportada em outros estudos (Campos *et al.*, 2012; Cassali *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2016).

As concentrações de CEA foram associadas à presença de tumores, a tumores mais agressivos e maiores, mostrando que esse marcador apresenta potencial de triagem para diferenciar animais com carcinoma mamário de animais saudáveis e, principalmente, de diferenciar carcinomas metastáticos de não metastáticos. Isso ganha grande importância quando se pensa em prognóstico, pois animais com metástase em linfonodo apresentam pior prognóstico em relação a animais com o linfonodo livre, com implicação também no tempo de sobrevida e no tipo de tratamento a ser utilizado (Cassali *et al.*, 2014).

Estudos semelhantes realizados por Wang *et al.* (2014) e por WU *et al.* (2014), avaliando os valores de CEA em mulheres com câncer de mama, revelaram que esse marcador está aumentado em mulheres doentes em comparação a mulheres saudáveis e que mulheres doentes que apresentavam comprometimento do linfonodo tinham valores de CEA significativamente maiores ($p < 0,05$) do que mulheres sem comprometimento do linfonodo. Nossos estudos revelaram resultados semelhantes aos encontrados por Wang *et al.* (2014) e Wu *et al.* (2014), uma vez que fêmeas caninas doentes apresentaram valores de CEA elevados em comparação ao grupo controle. E ainda, animais com metástase em linfonodo apresentaram diferença significativa nos valores de CEA em comparação com animais sem metástase. Resultados semelhantes também foram publicados por Valencakova-Agyagosova *et al.* (2012), na Eslováquia, estudando cadelas com carcinomas mamários em comparação a cadelas saudáveis.

Entretanto, Campos *et al.* (2012), avaliaram 60 cadelas com neoplasias mamárias malignas e não encontraram diferença nos níveis de CEA nas cadelas com neoplasia em comparação com cadelas saudáveis. Interessante ressaltar que diferentemente deste estudo que empregou kits ELISA humanos para dosar o CEA, Campos *et al.* (2012), empregaram a quimiluminescência, e a disparidade de resultados pode ser atribuída a escolha da técnica. Como não há disponibilidade de se adquirir um kit diagnóstico espécie/específico, a escolha do kit destinado à espécie humana, pautou-se nas experiências de outros pesquisadores que validaram o uso em cães (Marchesi *et al.*, 2010; Manuali *et al.*, 2012; Valencakova-Agyagosova *et al.* 2012).

Em humanos, o emprego do CEA não visa apenas o diagnóstico, mas sim a atribuição de prognóstico e acompanhamento após tratamento (Veronesi *et al.*, 2002). Comparando os resultados do presente estudo com os de outros pesquisadores, é possível que em cadelas o CEA possa ser um bom indicador de prognóstico. Para isso, estudos com *follow up* das pacientes necessitam ser realizados. Desta forma, a monitoração pós-operatória ou após tratamento quimioterápico por meio de dosagens seriadas de CEA poderia ser aplicável, reduzindo custos com exames de imagem periódicos, além de anteceder recidivas e/ou metástases à distância. A maioria dos estudos mencionados anteriormente mostra que há semelhança no comportamento do CEA em mulheres e cadelas com neoplasias mamárias. O aumento nos valores de CEA em cadelas com metástase em linfonodo observado em nosso estudo sugere que se possa empregar esse marcador para se estabelecer o prognóstico de cadelas com carcinoma de mamas.

As dosagens de AFP, também foram úteis em diferenciar cadelas saudáveis e doentes, sem, contudo, diferenciar os grupos com metástase em linfonodo e livres de metástase. O primeiro estudo envolvendo a AFP em neoplasias mamárias em mulheres foi realizado por Sarcione e Biddle (1987), mostrando resultado similar ao encontrado em nosso estudo. Os autores concluíram que a AFP estava aumentada no soro de mulheres com tumores de mama primário, sugerindo que mensurações seriadas poderiam fornecer informações importantes quanto ao diagnóstico e prognóstico desse tipo de neoplasia.

Em contrapartida, em estudo envolvendo um painel de marcadores sorológicos, dentre eles a AFP, em mulheres com neoplasias mamárias, pesquisadores observaram que não houve diferença entre os valores de AFP em mulheres com neoplasia mamária e mulheres saudáveis, concluindo que esse marcador não seria útil para monitorar a evolução do câncer de mama em mulheres (Opstal-Van Winden *et al.*, 2012).

Em cadelas com neoplasias mamárias não existem estudos anteriores avaliando a AFP como possível marcador sorológico, mesmo na medicina humana poucos estudos foram realizados com esse fim. Entretanto, nossos resultados mostram que esse marcador pode ter potencial utilização em cadelas com neoplasias mamárias, uma vez que pode ser útil em diferenciar no soro de cadelas, a ausência ou a presença de tumor mamário. Todavia, há necessidade de se ampliar a investigação acerca desse marcador para confirmar seu potencial como marcador sorológico em cadelas com neoplasias mamárias.

Quando as concentrações dos marcadores foram analisadas de acordo com o tamanho tumoral foi possível observar que quanto maior o tamanho do tumor, mais altos foram os valores do CEA. Cadelas com tumores maiores que 3,0 cm apresentam maiores valores de CEA. Intuitivo se pensar que quanto maior o tamanho do tumor maiores seriam os valores dos marcadores a ele relacionados, pois a quantidade de células produtores de antígenos seria maior, contudo essa mesma correspondência não ocorreu com a AFP.

Em mulheres, o tamanho tumoral também influenciou nos níveis de CEA (Veronesi *et al.*, 2002; Wang *et al.* 2014; Wu *et al.*, 2014). Esses resultados corroboram com a indicação de que os valores de CEA possam correlacionar-se ao prognóstico de cadelas, uma vez que maior volume do tumor corresponde a fator prognóstico negativo (De Nardi *et al.*, 2008; Cassali *et al.*, 2014). Entretanto, esta relação não pode ser estabelecida quando se analisou as demais variáveis clínico-patológicas, como grau histológico, necrose, ulceração e inflamação. Resultados semelhantes foram publicados por Manuali *et al.* (2012) com o marcador CA 15.3, onde não houve relação entre os valores desse marcador e a presença de necrose, ulceração e inflamação, embora nesse mesmo estudo foi significativa a diferença entre os graus histológicos II e III. Em mulheres com câncer de mama Wang *et al.* (2014), também observaram relação entre o grau histológico e os valores de CEA.

Em nosso estudo, os valores de CEA foram crescentes com o aumento do grau histológico, todavia não significativa. A repetição deste ensaio com maior número de animais poderá esclarecer se este marcador também se relaciona ao grau histológico em cadelas.

Por sua vez, o estado reprodutivo das cadelas foi relacionado aos valores de AFP. Cadelas com carcinoma mamário e castradas apresentaram valores de AFP significativamente menores que as não castradas. O mesmo não se repetiu quando dosamos CEA, sugerindo que as concentrações de AFP em cadelas possam sofrer algum grau de influência hormonal. Em ratas Uriel *et al.* (1976) observaram que há ligação entre a AFP e estrógeno e que essa importante proteína fetal auxilia no transporte de estrógeno para dentro das células uterinas nesses animais. Anos mais tarde Pool *et al.* (1978) observaram influência no ciclo estral de ratas com hepatoma induzido experimentalmente, onde animais com tumores maiores do que 10 cm de diâmetro produziam altas concentrações de AFP e não entravam em estro. Os autores sugeriram que existe ligação da AFP com o estrógeno, com conseqüente inibição na ação do mesmo. Apesar dos trabalhos não conseguirem provar efetivamente como os hormônios

reprodutivos influenciam nas concentrações de AFP, a relação entre eles já foi observada em estudos prévios e esta relação poderia ser a causa da diferença aqui observada para a AFP entre cadelas castradas e não castradas. Embora seja importante ressaltar, que esse achado pode apenas refletir o baixo número de animais castrados nos grupos experimentais e não necessariamente um resultado consistente, o que aponta para necessidade de maiores investigações.

Torna-se necessário acompanhar um número maior de cadelas com carcinoma de mamas, onde também possa ser contemplado no estudo o seguimento clínico e laboratorial (*follow up*) dessas cadelas, com repetidas dosagens dos marcadores, e se os resultados se repetirem, futuramente introduzir essas dosagens na rotina clínica da oncologia veterinária para monitoramento de metástase e/ou recidiva precoce em cadelas com carcinoma de mamas.

Conclusões

Os resultados deste estudo, nas condições metodológicas empregadas mostram que:

Há aumento dos valores de CEA e AFP em cadelas com carcinomas mamários;

Há relação entre os valores de CEA e a presença de metástase em linfonodos de cadelas com carcinomas de mamas;

Quanto maior o tamanho do tumor de mama na cadela, mais elevados foram os valores de CEA;

AFP parece sofrer influência hormonal já que se encontra reduzida em cadelas castradas em comparação as não castradas;

Há aparente relação das concentrações do CEA com o prognóstico de cadelas com carcinoma de mamas pela associação com o tamanho tumoral e presença de metástase.

Referências

- ALENZA, M. D.; PENA, L.; CASTILLO, N. D. et al. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*, v. 41, n. 7, p. 287-291, 2000.
- CAMPOS, L.C.; LAVALLE, G.E.; ESTRELA-LIMA, A. et al. CA15.3, CEA, and LDH in dogs with malignant mammary tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.26, n.1383, p.88, 2012.
- CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E. et al. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013. *Brazilian Journal of Veterinary Patology*, 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*, v.11, p. 56-64, 2006.
- DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias Mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds.) *Oncologia em Cães e Gatos*, 1ª Edição. São Paulo: Roca, 2008, cap. 25, p. 372-383.
- ELSTON C.W.; ELLIS, I. O. Assessment of histological grade. ELSTON CW., ELLIS IO. Eds. *Systemic Pathology. The breast*. London: Churchill Livingstone, p. 365-384, 1998.
- KIM, H. W.; LIM, H. Y.; SHIN, J. I. et al. Breed-and age-related differences in canine mammary tumors. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 80, n. 2, p. 146-155, 2016.
- LINDBLAD-TOH, K.; WADE, C. M.; MIKKELSEN, T. S. et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, v. 438, 803-819, 2005.
- MANUALI, E.; DE GIUSEPPE, A.; FELIZIANI, F. et al. CA 15-3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade. *BMC Vet Res*, p. 8-86, 2012.

- MARCHESI, M. C.; MANUALI, E.; PACIFICO, E. et al. Cancer antigen 15/3: possible diagnostic use in veterinary clinical oncology. Preliminary study. *Veterinary Research Communications*, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. S103-S106, 2010.
- MISDORP W., ELSE RW., HELLMÉN E., LIPSCOMB E. *Definitions and explanatory notes*. WHO histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1999, 18-27
- OPSTAL-VAN WINDEN, A. W.; RODENBURG, W.; PENNING, J. L. et al. A bead-based multiplexed immunoassay to evaluate breast cancer biomarkers for early detection in pre-diagnostic serum. *International journal of molecular sciences*, v. 13, n. 10, p. 13587-13604, 2012.
- OWEN L. N. TNM Classification of tumors in domestic animals. Ed. Geneva: World Health Organization, 1980
- POOL, T. B.; HAGINO, N.; CAMERON, I. L. Relationship between functional castration and alphafetoprotein produced by hepatoma-bearing female rats. *Journal of reproduction and fertility*, v. 53, n. 1, p. 39-44, 1978.
- SARCIONE, E. J.; BIDDLE, W. Elevated serum alpha fetoprotein levels in postmenopausal women with primary breast carcinoma. *Disease markers*, v. 5, n. 2, p. 75-79, 1987.
- SHAFIEE, R.; JAVANBAKHT, J.; ATYABI, N. et al. Diagnosis, classification, and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: an Clinico-cytopathological study with environmental factors influencing public health and medicine. *Cancer Cell International*. v. 13, n. 1, p. 79, 2013.
- URIEL, J.; BOUILLON, D.; AUSSEL, C.; et al. Alpha-fetoprotein: the major high-affinity estrogen binder in rat uterine cytosols. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 73, n. 5, p. 1452-1456, 1976.
- UVA, P.; AURISICCHIO, L.; WATTERS, J. et al. Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. *BMC genomics*, v. 10, n. 1, p. 135, 2009.
- VALENCAKOVA-AGYAGOSOVA, A. 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.

VERONESI, U.; LUINI A.; COSTA, A.; ANDREOLI, C. Mastologia oncológica. Milão: Medsi; 2002.

WANG, G.; QIN, Y.; ZHANG, J. et al. Nipple discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a new biomarker panel for breast cancer. *International journal of molecular sciences*, v. 15, n. 6, p. 9546-9565, 2014.

WU, S. G.; HE, Z. Y.; ZHOU, J. et al. Serum levels of CEA and CA15-3 in different molecular subtypes and prognostic value in Chinese breast cancer. *The Breast*, v. 23, n. 1, p. 88-93, 2014.

YAMAGAMI, T. KOBAYASHI, T. TAKAHASHI, K. et al. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 58, n. 11, p. 1079-1083, 1996.