

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/02/2018.

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 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; 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 cicloxigenase-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.; FRITSCHÉ 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.