

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**OBESIDADE E VITAMINA D EM CADELAS COM TUMORES
MAMÁRIOS MALIGNOS**

**Lismara Castro do Nascimento
Médica Veterinária**

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**OBESIDADE E VITAMINA D EM CADELAS COM TUMORES
MAMÁRIOS MALIGNOS**

Discente: Lismara Castro do Nascimento

Orientadora: Profa. Dra. Lizandra Amoroso

Coorientadora: Profa. Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos

Coorientador: Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi

**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**

2019

N244o

Nascimento, Lismara Castro do

Obesidade e vitamina D em cadelas com tumores mamários malignos / Lismara Castro do Nascimento. -- Jaboticabal, 2019
44 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Lizandra Amoroso

Coorientadora: Rosemeri de Oliveira Vasconcelos

1. Medicina veterinária. 2. Cão. 3. Mamas câncer. 4. Obesidade. 5. Deficiência de vitamina D. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: OBESIDADE E VITAMINA D EM CADELAS COM TUMORES MAMÁRIOS MALIGNOS


AUTORA: LISMARA CASTRO DO NASCIMENTO


ORIENTADORA: LIZANDRA AMOROSO

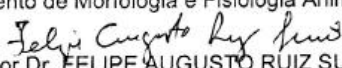
COORIENTADORA: ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS

COORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. SILVANA MARTINEZ BARALDI ARTONI
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisador Dr. FELIPE AUGUSTO RUIZ SUEIRO
Patologia e Biologia Molecular Veterinária - Campinas, SP

Jaboticabal, 31 de julho de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LISMARA CASTRO DO NASCIMENTO – nascida em 08 de dezembro de 1989 na cidade de Juiz de Fora, filha de Geraldo Luiz do Nascimento e Maria Inês de Castro Nascimento. É Médica Veterinária formada na Universidade Federal de Lavras, em 2015. Realizou seu estágio obrigatório de conclusão de curso na Universidade Federal do Rio Grande do Sul na área de Patologia Veterinária. Possui residência em área profissional da saúde em saúde animal e coletiva, com ênfase em Patologia Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 2017. Em março de 2017 iniciou o Mestrado acadêmico na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Câmpus de Jaboticabal, no programa Medicina Veterinária com ênfase em Patologia Veterinária, sob orientação da Professora Lizandra Amoroso e sob coorientação Professora Rosemeri de Oliveira Vasconcelos e do Professor Andrigo Barboza de Nardi.

A vida é como uma câmera foque no que é importante, capture bons momentos, desenvolva a vida a partir dos negativos. E, se as coisas não derem certo, tire outra foto.

DEDICATÓRIAS

A minha Mãe que sorriu ao meu primeiro choro e chorou ao meu primeiro sorriso. Muitas vezes trabalhou dobrado, sacrificando seus sonhos em favor dos meus. Para você, que me ajudou a superar as minhas decepções e aplaudiu minhas conquistas. Não somente mãe, mas verdadeira amiga! Você me ensinou a dizer “obrigada”, mas não avisou que neste dia não haveria palavras... e, hoje, só posso dizer: pai, mãe, amo vocês!

A Deus, agradeço por me guiar, proteger diariamente e por me lembrar que posso ser mais do que imagino. De Deus vem tudo o que sei, tenho e sou. É Ele o meu maior mestre.

Aos meus pais, Inês e Luis. Nenhuma palavra é o bastante para agradecer toda a vida de dedicação. Obrigada por serem meu alicerce e minha motivação. Amo vocês!

Ao meu namorado Ricardo pelo apoio e incentivo.

Aos meus familiares e amigos de Juiz de Fora.

Aos amigos de Lavras, Porto Alegre e demais cidades que acreditaram e torceram pelo meu sucesso.

Aos amigos de Jaboticabal pelos momentos de descontração e por tornarem esses dois anos e meio mais fáceis e felizes.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Lizandra Amoroso, que me acolheu em seu grupo de pesquisa, por contribuir com a minha formação acadêmica, pelo apoio, incentivo, ensinamento e pela amizade, que Deus abençoe sempre você e sua família.

Aos meus coorientadores Professora Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos e o Professor Dr. Andriago Barboza de Nardi pelo apoio, ensinamentos, disposição, companheirismo, além de toda ajuda no desenvolvimento do projeto, suporte metodológico para que fosse possível a condução do trabalho.

Aos funcionários da biblioteca que contribuíram com a minha pesquisa bibliográfica.

Aos funcionários do Hospital Veterinário Laudo Natel.

Aos tutores dos animais que permitiram que seus animais participassem do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT.....	v
Lista de abreviaturas.....	vi
Lista de tabelas.....	vii
Lista de figuras	viii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Panorama geral da obesidade.....	3
2.2 Avaliação da obesidade e da densidade mineral óssea	6
2.3 Concentrações de colesterol	7
2.4 Vitamina D	8
2.5 Tumor de mama	10
2.6 Vitamina D e tumores	11
3. REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO 2 - Associação da vitamina D em cadelas obesas com tumores mamários malignos	21
Resumo.....	21
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.1 Seleção dos animais e avaliação epidemiológica.....	24
2.2 Grupos experimentais.....	25
2.3 Análises séricas da 25(OH)D e do colesterol	25
2.4 Avaliação da composição corporal	26

2.5 Processamento das amostras e classificação histológica	27
2.6 Análise estatística.....	27
3. RESULTADOS	27
Análise multivariada.....	31
4. DISCUSSÃO	33
5. CONCLUSÕES	37
Agradecimentos.....	37
6. REFERÊNCIAS.....	38
CAPÍTULO 3 - Considerações finais	43
Desafios e perspectivas	43
ANEXO 1	44

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



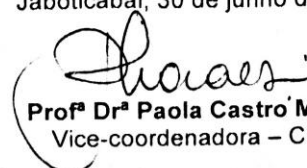
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**Influência da obesidade nos tumores de mama de cadelas**”, protocolo nº 010092/17, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Lizandra Amoroso, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado “Ad-referendum” pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP.

Vigência do Projeto	15/07/2017 a 01/02/2019
Espécie / Linhagem	Cães / <i>Canis familiaris</i>
Nº de animais	30
Peso / Idade	Variável
Sexo	Fêmeas
Origem	Hospital Veterinário Governador Laudo Natel

Jaboticabal, 30 de junho de 2017.


Profª Drª Paola Castro Moraes
 Vice-coordenadora – CEUA

OBESIDADE E VITAMINA D EM CADELAS COM TUMORES DE MAMA MALIGNOS

RESUMO - A obesidade é o transtorno nutricional mais observado em cães. Em mulheres, esta condição corporal é fator predisponente para tumor de mama e é também responsável por diminuir os níveis séricos de vitamina D. Considerando as ações reguladoras e preventivas da vitamina D em células tumorais, objetivou-se pesquisar a influência da obesidade e os níveis séricos de vitamina D de cadelas com tumores mamários malignos. Para isso, foi realizada a triagem de cães, fêmeas, sem predileção por raça, com e sem tumor de mama, por meio de exames sanguíneos, cardiográficos e ultrassonográficos. Na ausência de alterações sistêmicas, os tutores foram entrevistados e dois grupos experimentais foram estabelecidos, sendo um grupo constituído por 12 cadelas saudáveis (grupo controle) e o grupo com tumor de mama maligno, por 11 cadelas de acordo com o perfil dos animais e com os resultados do Escore de Condição Corporal (ECC). Foram avaliados os níveis séricos de vitamina D, HDL, LDL, colesterol total e triglicérides; e a composição corporal no equipamento de absorciometria de raios-X de dupla energia. Após entrevista com o tutor, verificou-se que a maioria das cadelas com tumor não eram castradas, não praticavam atividade física e 18,3% apresentaram pseudociese. A análise estatística multivariada demonstrou que cadelas idosas com tumor de mama e alta porcentagem de gordura corporal apresentaram menores concentrações de 25(OH)D, quando comparadas ao grupo controle. Quanto à avaliação histopatológica, 63,7% dos tumores eram multicêntricos, sendo o carcinoma tubular o mais frequente. O presente trabalho contribui para o entendimento sobre a relação da composição corporal e dos níveis sanguíneos de vitamina D de cadelas com tumor de mama, bem como na conduta dos clínicos veterinários diante da cadela obesa e com tumor de mama.

Palavras-chave: 25(OH)D, cadelas, composição corporal, excesso peso, mamas

OBESITY AND VITAMIN D IN BITCHES WITH MALIGNANT MAMMARY TUMORS

ABSTRACT - Obesity is the most commonly observed nutritional disorder in dogs. In women, this body condition is a predisposing factor for breast tumor and is also responsible for lowering serum vitamin D levels. Considering the regulatory and preventive actions of vitamin D in tumor cells, the objective was to investigate the influence of obesity and the levels D serum levels of female dogs with malignant breast tumors. For this, dogs were screened, female, without race preference, with and without breast tumor, through blood, cardiogram and ultrasound exams. In the absence of systemic alterations, tutors were interviewed and two experimental groups were established: one group consisting of 12 healthy female dogs (control group) and the group with malignant breast tumor, 11 female dogs according to the animal profile and the results of the Body Condition Score (ECC). Serum levels of vitamin D, HDL, LDL, total cholesterol and triglycerides were evaluated; and body composition on dual energy X-ray absorptiometry equipment. After interview with the tutor, it was found that most of the female dogs with tumor were not castrated, did not practice physical activity and 18.3% had pseudocyesis. Multivariate statistical analysis showed that older female dogs with breast tumor and high body fat percentage presented lower concentrations of 25 (OH) D when compared to the control group. Regarding the histopathological evaluation, 63.7% of the tumors were multicenter, with tubular carcinoma being the most frequent. This paper contributes to the understanding of the relationship between body composition and blood levels of vitamin D in female dogs with breast tumor, as well as in the conduct of veterinary clinicians in relation to the obese dog and breast tumor.

KEY WORDS: 25 (OH) D, bitches, body composition, over weight, mammary gland

LISTA DE ABREVIATURAS

25(OH)D - 25 hidroxivitamina D

CEUA - Comitê de ética e bem-estar animal

DXA - Absorciometria de raios - X de dupla energia

DMO - Densidade mineral óssea

ECC - Escore de condição corporal

HDL - Lipoproteína de alta densidade

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade

GC – Grupo controle

GT – Grupo tumor

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil das cadelas do grupo controle e do grupo com tumor de mama após entrevista com tutores29.

Tabela 2. Gordura corporal (%), peso corporal (kg), idade (anos), concentração de 25(OH)D (ng mL⁻¹) e densidade mineral óssea (DMO) (g/cm²) das cadelas do grupo controle (GC) (n=12) e com tumor de mama (n=11) (GT), e o diagnóstico histopatológico dos tumores30.

Tabela 3. Resultados gerados a partir da análise das variáveis para as cadelas do estudo.....33.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Análise dos componentes principais das variáveis referentes ao grupo controle e ao grupo com tumor de mama. Variáveis consideradas: níveis séricos de vitamina D e LDL, porcentagem de gordura, idade, densidade mineral óssea (DMO), peso, escore, prática de atividade física e tipo de alimento fornecido	32
--	----

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo país com maior número de cães e gatos no mundo, são cerca de 52,2 milhões de cães (IBGE, 2013). As cadelas representam quase metade da população canina (Canatto et al., 2012). Devido aos hábitos sedentários e ao aumento da expectativa de vida, elas são propensas às diversas doenças crônicas como a obesidade e os tumores (Weidner et al. 2017), sendo portanto de grande importância a investigação dessas doenças para prevenção, diagnóstico precoce e sucesso no tratamento com aumento da sobrevida do animal.

A obesidade em cães é fator de risco para outras enfermidades como dermatopatias, doenças cardíacas (Thengchaisri et al., 2014), distúrbios urinários, complicações anestésicas e, em especial, para os tumores (German, 2006). Em mulheres, o sobrepeso e a obesidade contribuem com o aumento da agressividade e favorecem a evolução do tumor de mama (Greenlee et al., 2019), porém, em cadelas, os estudos sobre a influência da obesidade nos tumores de mama são escassos.

A obesidade proporciona microambiente inflamatório e produtor de estrogênio. Este hormônio favorece a proliferação celular local. A produção de mediadores inflamatórios na gordura visceral e subcutânea estimula a biossíntese de estrogênio por meio da aromatase, elevando o risco de carcinogênese mamária. (Costa et al., 2016).

A proliferação celular, com aumento anormal da população de adipócitos contribui para um quadro inflamatório crônico graças à secreção de adipocinas, citocinas e quimiocinas e de mediadores inflamatórios como prostaglandina E2, fator nuclear kappa beta e de leptina. Há aumento desses mediadores em cadelas com sobrepeso ou obesas, e com tumores mamários malignos, os quais estão relacionados à obesidade e contribuem para a progressão do tumor (Shin et al., 2016). Além disso, de acordo com Ellulu et al. (2017), o excesso de macronutrientes no tecido adiposo ocasiona a liberação do fator de necrose tumoral α (TNF α) e a interleucina 6 (IL6) e reduz a produção de adiponectina. De acordo com os referidos

autores, o gerenciamento da obesidade pode reduzir as consequências da obesidade ao inibir as vias inflamatórias.

Algumas pesquisas sugerem que o excesso de tecido adiposo exacerbe a inflamação, considerando que os adipócitos podem liberar ácidos graxos saturados que medeiam os sinais inflamatórios (Shin et al., 2016). No obeso crônico, o tecido adiposo se torna microambiente inflamatório favorável à invasão tumoral mamária devido à produção de citocinas que desregulam o microambiente tecidual (Gilbert, 2013).

Todavia, a produção de certas citocinas inflamatórias, leptina, fator-1 de insulina, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF's) no tecido adiposo obeso proporciona microambiente inflamatório crônico que favorece a motilidade de células tumorais, invasão e transição epitelial-mesenquimal para aumentar o potencial metastático das células tumorais (Gilbert, 2013).

O excesso de tecido adiposo na mama pode apresentar perfil inflamatório crônico devido à infiltração de macrófagos, os quais favorecem a transformação de células epiteliais da mama em células tumorais e com características de invasão por favorecer a neovascularização e contribuir para o mau prognóstico do tumor (Cranford et al., 2019).

Os tumores foram a terceira causa mais frequente de doença em cães obesos, precedido apenas das doenças orais e dermatopatias (Lund et al., 2006). As cadelas são susceptíveis a diversos tipos de tumores, dos quais cerca de 50% são de mama (Oliveira-Filho et al., 2010). Destes, os malignos são diagnosticados em até 81,42% dos casos (Andrade et al., 2017) e a metástase pode estar presente em metade dos diagnósticos de tumor mamário (Oliveira-Filho et al., 2010). Citocinas e quimiocinas secretadas pelo tecido adiposo do obeso são capazes de promover a metástase (Germano et al., 2008). Ainda, de acordo com Zhang e Xiang (2019), a condição inflamatória da obesidade proporciona a formação de microambiente metastático. A obesidade aumenta o conteúdo local de miofibroblastos no tecido adiposo mamário e essa alteração estromal favorece o potencial maligno da matriz extracelular (MEC).

O escore corporal de mulheres obesas é associado com aumento do risco de ocorrência do tumor mamário, menor latência do tumor e aumento significativo da

massa tumoral (Bianchini et al., 2011). Este relato está relacionado com as características do tumor, como tamanho, quantidade de nódulos e com os tumores triplo negativos, ou seja, não há marcação por imuno-histoquímica para os receptores que classificam o tumor de mama (Cleary, 2013). A obesidade no período pré-menopausa, associada ao excesso de calorias na dieta e ao estilo de vida sedentário elevam o risco de tumor de mama (Anders et al., 2009) e reduzem a sobrevida do paciente (Cleary, 2013).

A obesidade em mulheres, além de estar associada ao tumor de mama, é sabido influencia em outras enfermidades crônicas como a hipovitaminose D, em função de que os metabólitos da vitamina D (25(OH)D) ser armazenado no tecido adiposo, dessa forma, há diminuição em seus níveis séricos (Pereira-Santos et al., 2015). Em cadelas, os níveis sanguíneos de 25(OH)D de cadelas podem estar menores concomitantes aos tumores: linfoma, osteossarcoma ou mastocitomas (Weidner et al., 2017). Porém, estudos sobre a variação dos níveis séricos de vitamina D com os tumores de mama de cadelas obesas, não foram encontrados na literatura consultada.

Nesse sentido, mediante às consequências da deficiência de vitamina D e obesidade, tem-se o objetivo geral pesquisar a influência da obesidade e os níveis séricos de vitamina D de cadelas com tumores mamários malignos. Os objetivos específicos para obter esta resposta, tais como mensurar os níveis séricos de vitamina D, colesterol, HDL e LDL; classificar o escore corporal das cadelas com tumores mamários, avaliar a porcentagem de gordura das cadelas com tumores mamários por meio da absorciometria de raios - X de dupla energia (DXA) e classificar os tumores mamários por meio do exame histopatológico. Por meio da análise multivariada os fatores inerentes às cadelas foram agrupados para verificar se havia associação entre eles.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama geral da obesidade

A obesidade é um desafio de saúde pública de alta prevalência que compromete o metabolismo. Pode ocasionar alterações endócrinas e

osteoarticulares e provocar o aparecimento de tumores, afetando a qualidade de vida e a longevidade (Bjørnvad et al., 2017). A obesidade é o estado clínico de excesso de tecido adiposo no corpo com aumento de, no mínimo 20 a 25%, do peso ideal (Laflamme, 2012). Este transtorno nutricional é mais observado na rotina clínica de cães (Bjørnvad et al., 2017), tornando-se grande preocupação na medicina veterinária (Osto; Lutz, 2015).

A condição corporal dos cães é estimada corretamente por quase 50% dos tutores de cães, portanto, há desconhecimento sobre o peso ideal dos cães e a maioria dos tutores subestima a avaliação do escore (Yam et al., 2017). O escore da condição corporal (ECC) também foi subestimado na pesquisa de Aptekmann et al. (2014), em que dos 52% dos cães obesos, apenas 27% dos tutores estavam de acordo.

O processo de antropomorfização ocasiona a falta de atividade física e, acesso à dieta rica em gordura e em petiscos, o que agrava a obesidade canina (Oliveira; Zimmermann, 2017). Esse quadro, quando associado ao desconhecimento dos tutores sobre os benefícios da alimentação e da prática de exercícios, prejudica programas de redução de peso de cães (Webb et al., 2018). Embora a condição corporal do tutor, seu nível de escolaridade, renda e ambiente domiciliar dos proprietários não estejam correlacionadas ao ECC dos animais (Aptekmann et al., 2014), intervenções efetivas que visam o comportamento dos tutores podem reduzir o sobrepeso e a obesidade dos cães (Krasuska; Webb, 2018).

Em estudo epidemiológico realizado na cidade de São Paulo, 16,5% dos cães eram obesos sendo que cães sem raça definida representaram 28% da população obesa, seguidos por animais da raça Cocker (10,3%), Poodle (10,3%), Dachshund (6,5%) e Labrador (5,6%) (Jericó e Scheffer, 2002). Resultados semelhantes foram encontrados por Aptekmann et al. (2014) em que, dentre os cães obesos, as cadelas adultas, castradas e sem raça definida representaram a 33% dos animais avaliados. Há relatos nos EUA de 36% de animais acima do peso (Lund et al., 2006), 44,4% em Pequim (Mao et al., 2013), e recentemente, Yam et al. (2017) encontraram quase 38% de cães com sobrepeso ou obesos na Escócia. Os cães de porte médio normalmente são obesos aos 10 anos de idade, além disso, cães castrados de

pequeno e médio porte, geralmente, estão acima do peso ideal em relação aos cães de grande porte (Usui et al., 2016).

A obesidade é observada principalmente em cães castrados (Jericó; Scheffer, 2002; Lund et al., 2006; Mao et al., 2013), entre seis e 10 anos de idade (Lund et al., 2006), com idade média de 7 anos de idade (Aptekmann et al., 2014). No levantamento realizado por Mao et al. (2013) 68,6% dos animais com 11 anos de idade estavam obesos. Essa condição corporal tende a aumentar com a idade, por estar relacionada às doenças geriátricas como os tumores. Além disso, a massa magra tende a ser substituída por massa gorda (Aptekmann et al., 2014) e cães idosos realizam menos atividade física e apresentam menor taxa metabólica basal, o que predispõe ao ganho de peso (Lund et al., 2006).

As cadelas são mais predispostas ao ganho de peso excessivo (Mao et al., 2013). Neste sentido, Jericó e Scheffer (2002) realizaram estudo epidemiológico em São Paulo, e observaram que, 62,6% dos cães obesos eram fêmeas, das quais 32,8% eram castradas. O ganho de peso, nesta situação deve-se à redução dos hormônios sexuais em cadelas gonadectomizadas e como resultado ocorre aumento do consumo de alimentos e diminuição da massa magra e do gasto metabólico (Mao et al., 2013). Este excesso de peso após a castração pode ser intensificado, também, devido falta de conhecimento dos tutores a respeito da predisposição à obesidade após a cirurgia. Estas consequências poderiam ser prevenidas com a conscientização de um plano de dieta após a castração (Bannister, 2013).

Kealy et al. (2002) realizaram estudo prospectivo em cães desde 8 meses de idade até o final da vida, com o objetivo de comparar a dieta *ad libitum* com restrição calórica. O ECC ideal proporcionou saúde e longevidade aos cães e postergou o aparecimento de sinais clínicos de doenças crônicas. Yam et al. (2016) também observaram que cães com sobrepeso ou obesos possuem qualidade de vida e de saúde diminuída em relação aos cães com ECC ideal. Estes resultados servem de motivação para que haja maiores esforços para combater a obesidade canina.

O bom escore corporal de cães entre 9 e 12 meses reduz o risco de tumor de mama. Sugere-se que a obesidade e o consumo de dieta rica em gordura por cães de até um ano de idade sejam fatores predisponentes ao desenvolvimento tumor de mama (Sonnenschein et al., 1991).

Existem vários métodos de avaliação da composição corporal de cães como a análise química, medidas morfométricas, ECC, densitometria, absorciometria de raios-X de dupla energia, ultrassonografia, condutância elétrica, diluição do isótopo deutério e técnicas avançadas de imagem como tomografia computadorizada e ressonância magnética (German, 2006; Mawby et al., 2004).

As medidas morfométricas se fundamentam em equações baseadas em mensurações corporais, como por exemplo, na distância que compreende desde o ligamento patelar intermédio até a tuberosidade do calcâneo (Silva et al., 2016).

A avaliação do ECC de cães através do sistema de nove pontos baseia-se em características visuais, como a inspeção da silhueta e reentrância abdominal, e na palpação do tecido adiposo sobre as costelas e dos processos espinhosos das vértebras. Neste sistema, cada ponto significa aumento ou diminuição de 10-15% de gordura corporal Laflamme (1997).

A estimativa da porcentagem de gordura através do ECC correlaciona-se com a massa gorda corporal determinada pela absorciometria de raios - X de dupla energia (DXA) (Bjørnvad et al., 2017). Assim como as medidas morfométricas, o sistema de 9 pontos e diluição do isótopo deutério correlacionam-se com a porcentagem de gordura determinada pela DXA (Mawby et al., 2004).

2.2 Avaliação da obesidade e da densidade mineral óssea

A DXA é padrão-ouro para avaliar a composição corporal constituída por tecidos moles, os quais são expressos pela quantidade e porcentagem de gordura corporal, e porcentagem de massa magra. O equipamento também fornece o conteúdo ósseo, apresentado na forma de densidade mineral óssea (DMO) (g/cm^2) e pelo conteúdo mineral ósseo (g). A DMO é uma medida areal que considera a espessura óssea como valor pouco variável, por isso seu uso é limitado em animais devido à grande variedade de tamanho e conformação (Lauten et al., 2001). A DXA é padrão-ouro para avaliar a DMA e é utilizada para diagnosticar precocemente a osteoporose em cães (Kwon et al., 2018).

A DXA fornece estimativa precisa da composição corporal em cães e gatos com peso corporal entre 1,8 e 22,1 kg (Speakman et al., 2001), estudo mais recente

concluiu que a composição de gordura de cães pela DXA é fidedigna nas diferentes raças, independente do tamanho e idade dos animais (Bjørnvad et al., 2017).

2.3 Concentrações de colesterol

Os cães podem ser acometidos pela hiperlipidemia primária ou a secundária, Na hiperlipidemia secundária as concentrações séricas de colesterol e triglicérides se mantêm altas, de modo patológico. Esta é a forma mais comum e pode ser resultado de distúrbios endócrinos, como hipotireoidismo, *diabetes mellitus*, pancreatite, colestase, nefropatia perdedora de proteínas, obesidade e dietas ricas em gordura (Rogers et al., 1975).

As lipoproteínas são compostas por quilomícrons, LDL, VLDL, HDL (Usui et al., 2015). Entre elas, a HDL faz o transporte reverso do colesterol, ou seja, dos tecidos periféricos para o fígado. As maiores concentrações de HDL estão relacionadas à redução na síntese de VLDL no fígado (Usui et al., 2015).

A depuração de triglicerídeos VLDL em cães diminui à medida que envelhecem, assim como ocorre diminuição das concentrações de colesterol HDL (Usui et al., 2015).

Os cães obesos ou com excesso de peso apresentam altas concentrações de colesterol, triglicérides, VLDL e HDL em relação aos cães com escore normal (Usui et al., 2015). A maior concentração de triglicérides e VLDL, e aumento da massa gorda, também são encontradas em cadelas obesas e castradas, devido à taxa metabólica reduzida (Roque, 2017). Este autor considera que a redução de peso proporciona diminuição de tecido adiposo e da concentração de colesterol total, LDL, VLDL e triglicérides, trazendo benefícios ao animal.

A hipertrigliceridemia e a hipercolesterolemia foram 15% menores em cães submetidos à restrição alimentar (Kealy et al., 2002). As concentrações de triglicerídeos são maiores em cães obesos em jejum e no pós-prandial em relação aos magros (Verkest et al., 2012).

Jeusette et al. (2005) realizaram estudo para avaliar possíveis mudanças na composição de lipídeos plasmáticos em cães obesos e constataram que a obesidade crônica ocasiona aumento dos níveis séricos da leptina, do colesterol e

dos triglicerídeos em cães. Forster et al. (2018) sugerem que as concentrações plasmáticas de porções de fosfolipídeos sejam considerados como marcadores bioquímicos de comorbidades relacionadas à obesidade canina.

2.4 Vitamina D

A vitamina D é um secosteroide, um composto químico derivado de um esteroide, também considerado um hormônio, pois é produzida pela pele humana e é armazenada, principalmente, no tecido adiposo como também no fígado. Esta vitamina é alvo de estudos recentes na medicina veterinária e possui seu metabolismo diferenciado em cães (Pandolfi et al., 2017).

O 7-deidrocolesterol é um dos produtos intermediários da síntese da vitamina D e quando irradiada pela luz UV forma o colecalciferol (vitamina D3). Os cães, apesar de terem grandes quantidades de colesterol na pele, não possuem o 7-deidrocolesterol (Wheatley; Sher, 1961). Além disso, foi verificado que em cães expostos à radiação UV não ocorre o aumento esperado dos níveis séricos dessa vitamina (How; Hazewinkel; Mol, 1994). Logo, a síntese de precursores de vitamina D na pele ocorre em quantidades inadequadas, de tal forma que os cães são dependentes das fontes alimentares para suprir as necessidades de vitamina D, por isso ela é uma das vitaminas essenciais para esta espécie (Weidner; Verbrugghe, 2017).

Os alimentos podem conter dois metabolitos inativos da vitamina D, um deles o ergocalciferol (vitamina D2) encontrado, principalmente, nos vegetais; e o colecalciferol (vitamina D3) molécula mais utilizada pelos cães, presente em carnes gordurosas e fígado (How et al., 1994).

Os metabolitos da vitamina D quando chegam ao fígado sofrem ação das enzimas do citocromo P450 e são hidroxiladas e convertidas em 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], forma mais frequentemente dosada no soro, pois é o metabolito mais estável, portanto mais confiável para quantificar a vitamina D. Então a 25 (OH) D quando no rim sofre a ação da 1- α -hidroxilase, enzima controlada pelo hormônio da paratireoide, e logo é convertida em calcitriol, a forma mais ativa da vitamina D (Weidner e Verbrugghe, 2017; Groth et al., 2019).

A ingestão diária recomendada para cães indicada pela Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos está entre 500-5000UI de vitamina D por Kg e a indicada pela NRC está entre 552-3200UI de vitamina D por Kg, no entanto a quantidade que de fato o animal irá ingerir depende do quanto de vitamina é adicionada na ração comercial (Weidner e Verbrugghe, 2017).

Os níveis séricos de 25(OH)D em cães saudáveis alimentados com ração comercial variaram amplamente, desde 9,5 a 249 ng mL⁻¹, sendo sugerido como suficiência de vitamina D em cães o intervalo de 100 a 120 ng mL⁻¹ (Selting, 2014). Em outro estudo, a maioria dos animais apresentaram níveis séricos abaixo de 100 ng mL⁻¹, sendo que a média foi de 66,2 ng mL⁻¹. Estudos como estes reafirmam que os níveis séricos de vitamina D encontrados em cães são muito variáveis e ainda são pouco compreendidos (Young e Backus, 2016). Além disso, ainda há carência de estudos na área, bem como sugestões para novos trabalhos para definir a suficiência em vitamina D (Weidner e Verbrugghe, 2017).

Os níveis séricos de vitamina D são influenciados por diversos fatores, podendo variar de acordo com a suplementação na dieta e qualidade da ração (Selting, 2014). A suplementação da dieta de cães, como o óleo de salmão, alimento rico em vitamina D, apresentou impacto significativo nas concentrações séricas de vitamina D (Sharp et al., 2015).

Os fatores inerentes ao animal, como raça, sexo e status reprodutivo, também já foram pesquisados. Sabe-se que, pastores alemães apresentam maiores concentrações séricas de 25(OH)D em relação à Golden Retrievers (Selting et al., 2014) e foram observadas maiores concentrações em machos inteiros do que, nos castrados e em relação às fêmeas inteiras (Selting, 2014).

As baixas concentrações séricas de 25(OH)D em cães relacionadas a problemas de saúde já foram observadas em insuficiência renal crônica (Gerber et al., 2003), doença inflamatória intestinal e hipoalbuminemia (Titmarsh et al., 2015); como fator de risco para insuficiência cardíaca congestiva (Kraus et al., 2014); relacionada ao aumento da eficácia de tratamentos e atuando como biomarcador no prognóstico de doenças (Weidner e Verbrugghe, 2017); associada à polirradiculoneurite aguda (Laws et al., 2018), além de ser importante para a função renal e influenciar na absorção gastrintestinal de cálcio (Groth et al., 2019).

As ações ósseas da vitamina D, como no aumento da absorção de cálcio no intestino delgado e na absorção de cálcio e fosfato no rim; e extra-ósseas, como já citadas acima, se devem à presença de receptores em vários órgãos e tecidos (Selting, 2014), o que justifica, por exemplo, sua relação com diversas doenças crônicas.

2.5 Tumor de mama

Os tumores têm impacto como causa de morte de animais, representando segunda maior causa de eutanásia em cães (Figuera et al., 2008). Os tumores mamários em cadelas representam cerca de 50% de todos os tumores nessa espécie (Im et al., 2014, Jubb, 2007, Kelsey; Moore; Glickman, 1998) e metade desses tumores, é maligno (Im et al., 2014). Estes são pouco frequentes em animais com menos de cinco anos de idade, e mais comuns entre 10 a 11 anos de idade, mas a idade não está relacionada à fisiopatologia do tumor (Jubb, 2007; Andrade et al., 2017).

As glândulas mamárias mais afetadas na cadela são as abdominais caudais e a inguinal, possivelmente, devido à maior quantidade de parênquima do que as demais mamas, portanto são mais comumente acometidas por tumores malignos (Andrade et al., 2017). Além de que, sugere-se que nas mamas mais caudais haja maior quantidade de receptores hormonais, predispondo aos tumores de mama hormônio-dependentes (Donnay et al., 1995). Contudo Misdorp e Hart (1979) não observaram associação entre a localização e o prognóstico do tumor mamário.

Os critérios de malignidade propostos por Goldschmidt et al. (2011) são o tipo do neoplasma, anisocitose e anisocariose significativos, índice mitótico, áreas de necrose distribuídas aleatoriamente, invasão peritumoral e linfática, e metástase para linfonodos regionais. Ainda considera-se como fator prognóstico a expressão tumoral da proteína CD31, por estar relacionada à densidade intratumoral de microvascularização (Queiroga e Lopes, 2002).

Os tipos histológicos mais, comumente, encontrados em cães são os carcinomas (Andrade et al., 2017, Ariyaratna et al., 2018), dentre os subtipos,

carcinoma sólido (32,2%) (Dias et al., 2016) e carcinoma papilar (50,5%), há variação de acordo com os estudos.

A metástase nos vasos linfáticos foi mais frequente em casos de carcinoma anaplásico e inflamatório (Im et al., 2014). A categoria basal, um dos subtipos moleculares baseados em marcadores imuno-histoquímicos dos tumores mamários, foi a mais maligna, relacionada, com maior frequência, com carcinoma sólido, categoria grau III e invasão linfática (Im et al., 2014), além de estar mais associada à menor taxa de sobrevivência (Gama; Alves; Schmitt, 2008).

A metástase dos tumores mamários para linfonodos foi correlacionada ao aumento da expressão de leptina e aromatase, proteínas envolvidas com a obesidade e na progressão de tumores (Shin et al., 2016). Além disso, de acordo com Monteiro et al. (2018), macrófagos associados ao tumores estão relacionados a tipos mais agressivos de tumores mamários em cães.

A metástase à distância ocorre mais comumente para o pulmão, sendo considerado prognóstico desfavorável, exames radiográficos são indicados para diagnosticar nódulos acima de 6 mm (Cassali et al., 2014). A metástase para localizações distantes, além dos pulmões, ocasionalmente são observados no fígado, baço, coração, rim e adrenal, além dos ossos, porém sugere-se ser um local pouco examinado macroscopicamente, portanto subestimado (Oliveira-Filho et al., 2010).

2.6 Vitamina D e tumores

A relação da vitamina D com os diversos tumores é descrita em várias espécies, como em cães, ratos e em humanos. Ela é um potente metabólito antineoplásico, está associada à prevenção e contenção da população de células tumorais devido ao controle da apoptose (Tavera-Mendoza, 2017) e atua na prevenção de metástase por modular o processo de angiogênese tumoral (García-Quiroz et al., 2014).

As ações antitumorais da vitamina D são possíveis, em função da sua atuação diretamente no metabolismo celular e devido à presença de receptores de vitamina D nos núcleos das células, os quais dão suporte para o controle da

transcrição de genes o que prejudica o microambiente do tumor (Abu el Maaty et al., 2017).

A vitamina D é capaz de reativar a expressão de proteínas, silenciadas nos tecidos tumorais, as quais reduzem os níveis intracelulares de glicose, assim como induzem a apoptose e por isso são consideradas como anti-tumorais (Abu el Maaty et al., 2017). A vitamina D, quando no microambiente de tumor de mama luminal, ou seja, tumores que possuem células malignas similares ao da mama normal, também é capaz de controlar a população de células tumorais, pois após ativar o seu receptor, atua induzindo à ativação transcripcional autofágica e aumentando a sobrevida dos pacientes (Tavera-Mendoza, 2017).

Dentre suas ações também relata-se a inibição da invasão de tecido normal por células neoplásicas, evitando assim a metástase; assim como, a inibição da angiogênese de tal forma que não haja aporte suficiente de nutrientes para o tumor, tornando limitada a proliferação de células tumorais (Pandolfi et al., 2017).

A baixa concentração de vitamina D em humanos está relacionada ao aumento da mortalidade e do risco de diversos tumores, dentre eles, o tumor de mama (Mohr et al., 2012; Yao et al., 2017). Os pacientes com concentrações baixas de 25 (OH) D apresentam maior taxa de mortalidade por tumor de mama, em relação aos pacientes com as maiores concentrações da vitamina D (Mohr et al., 2012). A suplementação desta vitamina na dieta auxilia na quimioterapia, por tornar as células cancerígenas mais susceptíveis aos fármacos utilizados (Selting, 2014).

A carboxilação do piruvato nas células tumorais de mama resulta na síntese de ácidos gordos que servem de substratos para a proliferação das células tumorais. O tratamento contínuo de linhagens celulares epiteliais mamárias malignas por 5 e 7 dias com o metabólito ativo da vitamina D, regulou o metabolismo lipídico em células epiteliais mamárias malignas (Wilmanski et al., 2017).

Sugere-se que em cães com osteossarcoma, a vitamina D tenha atividades antineoplásicas, de modo que haja efeitos apoptóticos e antimetastáticos sobre as células neoplásicas (Davies et al., 2012). Em estudo com cães, Weidner et al. (2017) observaram correlação entre alterações nas vias metabólicas da vitamina D com as comorbidades associadas aos osteossarcomas, linfomas e aos mastocitomas.

Em síntese, os estudos recentes que investigam a atuação da vitamina D com os vários tipos de tumores e nas diversas espécies animais, convergem nos resultados de que a vitamina D, possivelmente, tem potencial para se tornar um coadjuvante no tratamento de tumores (Pandolfi et al., 2017).

Considerando a literatura acima e a carência de dados sobre a obesidade e a agressividade de tumores em cadelas, a proposta desse estudo é investigar a correlação de tumores mamários na cadela obesa ou com sobrepeso e possíveis alterações na concentração de vitamina D e no colesterol sanguíneo.

3. REFERÊNCIAS

Abu el Maaty MA, Almouhanna F, Wöfl S (2017) Vitamin D as a novel regulator of tumor metabolism: insights on potential mechanisms and implications for anti-cancer therapy. **International journal of molecular sciences**, 19:2184.

Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A (2009) Breast cancer before age 40 years. **Seminars in oncology** 36:237-249.

Andrade MB, Guimarães EC, Coletto AF, Soares NP, Medeiros-Ronchi AA (2017) Estudo retrospectivo de lesões mamárias em cadelas-Uberlândia, MG, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae** 45:1-8.

Aptekmann KP, Suhett WG, Junior M, Francisco A, Souza GB, Tristão AP, Adams FK, Aoki CG, Junior P, Garrido RJ, Carciofi AC (2014) Nutritional and environment aspects of canine obesity. **Ciencia Rural** 44:2039-2044.

Ariyaratna H, de Silva N, Aberdein D, Kodikara D, Jayasinghe M, Adikari R, Munday J (2018) Clinicopathological Diversity of Canine Mammary Gland Tumors in Sri Lanka: A One-Year Survey on Cases Presented to Two Veterinary Practices. **Veterinary sciences** 5:46.

Bannister S (2013) Possible preventive obesity measures for consideration in Labrador Retrievers *Canis lupus familiaris* according to veterinarian and owner opinions. **The Plymouth Student Scientist** 6:1-15.

Bianchini L, Saâda E, Gjernes E, Marty M, Haudebourg J, Birtwisle-Peyrottes I, Pedoutour F (2011) Let-7 MicroRNA and HMGA2 levels of expression are not inversely linked in adipocytic tumors: Analysis of 56 lipomas and liposarcomas with molecular cytogenetic data. **Genes, Chromosomes and Cancer** 50:442-455.

Bjørnvad CR, Nielsen ME, Hansen SE, Nielsen DH (2017) The effect of position on the precision of dual-energy X-ray absorptiometry and correlation with body condition score in dogs and cats. **Journal of nutritional science** 6:1-4.

Canatto BD, Silva EA, Bernardi F, Mendes MCNC, Paranhos NT, Dias RA (2012) Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64:1515-1523.

Cassali GD, Lavallo GE, Ferreira E, Estrela-Lima A, De Nardi AB, Ghever C, Sobral RA, Amorim RL, Oliveira LO, Sueiro FA, Beserra HE (2014) Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors-2013. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology** 7:38-69.

Cleary MP (2013) Impact of obesity on development and progression of mammary tumors in preclinical models of breast cancer. **Journal of mammary gland biology and neoplasia** 18:333-343.

Costa Jr JS, Goiozo P, Silva E (2016) Estudo epidemiológico de tumores de mama em cadela na região do oeste paulista. **Colloquium Agrariae** 12:27-31.

Cranford TL, Velázquez KT, Enos RT, Sougiannis AT, Bader JE, Carson MS, Bellone RR, Chatzistamou I, Nagarkatti M, Murphy EA (2019) Effects of high fat diet-induced obesity on mammary tumorigenesis in the PyMT/MMTV murine model. **Cancer biology & therapy** 20:487-496.

Davies J, Heeb H, Garimella R, Templeton K, Pinson D, Tawfik O (2012) Vitamin D receptor, retinoid X receptor, Ki-67, survivin, and ezrin expression in canine osteosarcoma. **Veterinary medicine international** 2012:1-8.

Dias ML, Andrade JM, Castro MB, Galera PD (2016) Survival analysis of female dogs with mammary tumors after mastectomy: epidemiological, clinical and morphological aspects. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 36:181-186.

Donnay I, Rauis J, Devleeschouwer N, Wouters-Ballhnan P, Leclercq G, Verstegen J (1995) Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mammary tissues. **American Journal of Veterinary Research** 56:1188-1194.

Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y (2017). Obesidade e inflamação: o mecanismo de ligação e as complicações. **Arquivos da ciência médica: AMS** 13:851.

Figuera RA, Souza TM, Silva MC, Brum JS, Graça DL, Kommers GD, Irigoyen LF, Barros CSL (2008) Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 28:223-230.

Forster GM, Stockmn J, Noyes N, Heuberger AL, Broeckling CD, Bantle ,CM, Ryan EP (2018) A comparative study of serum biochemistry, metabolome and microbiome parameters of clinically healthy, normal weight, overweight, and obese companion dogs. **Topics in companion animal medicine** 33:126-135.

Gama A, Alves A, Schmitt FJVA (2008) Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. **Virchows Archiv** 453(2), 123-132.

García-Quiroz J, Rivas-Suárez M, García-Becerra R, Barrera D, Martínez-Reza I, Ordaz-Rosado D, Santos-Martinez N, Villanueva O, Santos-Cuevas CL, Avila E, Gamboa-Domínguez A, Gamboa-Domínguez A, Halhali A, Larrea F, Díaz L (2014) Calcitriol reduces thrombospondin-1 and increases vascular endothelial growth factor in breast cancer cells: implications for tumor angiogenesis. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology** 144:215-222.

Gerber B, Hässig M, Reusch CE (2003) Serum concentrations of 1, 25-dihydroxycholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in clinically normal dogs and dogs with acute and chronic renal failure. **American journal of veterinary research** 64:1161-1166.

German, AJ (2006) The growing problem of obesity in dogs and cats. **The Journal of nutrition** 136:1940-1946.

Germano G, Allavena P, Mantovani A. (2008) Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. **Cytokine** 43:374-379.

Gilbert CA, Slingerland JM (2013). Cytokines, obesity, and cancer: new insights on mechanisms linking obesity to cancer risk and progression. **Annual review of medicine** 64, 45-57.

Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli, V (2011) Classification and grading of canine mammary tumors. **Veterinary pathology** 48:117-131.

Gow, AG, Else, R, Evans, H, Berry, JL, Herrtage, ME, Mellanby, RJ (2011). Hypovitaminosis D in dogs with inflammatory bowel disease and hypoalbuminaemia. **Journal of Small Animal Practice** 52:411-418.

Greenlee H, Shi Z, Hibshoosh H, Giri DD, Ahmed A, Williams S, Falcone DJ, Winston LA, Zhou XK, Hudis CA, Hershman DL (2019) Obesity-associated breast inflammation among Hispanic/Latina breast cancer patients. **Cancer Prevention Research** 12:21-30.

Groth EM, Lulich JP, Chew DJ, Parker VJ, Furrow E. (2019) Vitamin D metabolism in dogs with and without hypercalciuric calcium oxalate urolithiasis. **Journal of veterinary internal medicine** 33:758-63.

How KL, Hazewinkel HA, Mol JA. (1994) Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. **General and comparative endocrinology** 96:12-18.

Im K, Kim NH, Lim HY, Kim HW, Shin JI, Sur JH (2014) Analysis of a new histological and molecular-based classification of canine mammary neoplasia. **Veterinary Pathology** 51:549-559.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. População de animais de estimação no Brasil - 2013 – Em milhões. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas-documentos-camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf>> Acesso em: 02 jul. 2019.

Jericó MM, Scheffer KC (2002) Epidemiological aspects of obese dogs in the city of Sao Paulo. **Clínica Veterinária** 37:25-29.

Jeusette IC, Lhoest ET, Istasse LP, Diez MO (2005) Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. **American journal of veterinary research** 66:81-86.

Jubb KV (2007) **Pathology of Domestic Animals**. Academic Press, p.777-779.

Kealy RD, Lawler DF, Ballam JM, Mantz SL, Biery DN, Greeley EH, Lust G, Segre M, Smith GK, Stowe HD (2002) Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 220:1315-1320.

Kelsey JL, Moore AS, Glickman LT (1998) Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pet dogs. **Epidemiologic Reviews** 20:204-217.

Krasuska M, Webb TL (2018) How effective are interventions designed to help owners to change their behaviour so as to manage the weight of their companion dogs? A systematic review and meta-analysis. **Preventive veterinary medicine** 159:40-50.

Kraus MS, Rassnick KM, Wakshlag JJ, Gelzer ARM, Waxman AS, Struble AM, Refsal K (2014) Relation of vitamin D status to congestive heart failure and cardiovascular events in dogs. **Journal of veterinary internal medicine** 28:109-115.

Laflamme DR (1997) Development and validation of a body condition score system for dogs.: a clinical tool. **Canine Pract** 22:10-15.

Laflamme, D. (2012) Obesity in dogs and cats: What is wrong og being fat? **American Society of Animal Science** 90:1653–1662.

Lauten SD, Cox NR, Brawner Jr WR, Baker HJ (2001) Use of dual energy x-ray absorptiometry for noninvasive body composition measurements in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research** 62:1295-1301.

Laws EJ, Kathrani A, Harcourt-Brown TR, Granger N, Rose JH (2018) 25-Hydroxy vitamin D3 serum concentration in dogs with acute polyradiculoneuritis compared to matched controls. **Journal of Small Animal Practice** 59:222-227.

Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Klausner JS (2006) Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine** 4:177-186.

Mao J, Xia Z, Chen J, Yu J (2013) Prevalence and risk factors for canine obesity surveyed in veterinary practices in Beijing, China. **Preventive veterinary medicine** 112:438-42.

Matos AJF, Faustino A. MR, Lopes C, Rutteman GR, Gärtner F (2006) Detection of lymph node micrometastases in malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. **Veterinary record** 158:626-630.

Mawby DI, Bartges JW, d'Avignon A, Laflamme DP, Moyers TD, Cottrell T (2004) Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association** 40:109-114.

Mawby DI, Bartges JW, d'Avignon A, Laflamme DP, Moyers TD, Cottrell T (2004) Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association** 40:109-14.

Misdorp W, Hart AA (1979) Canine mammary cancer: I. Prognosis. **Journal of Small Animal Practice** 20:385-94.

Mohr SB, Gorham ED, Alcaraz JE, Kane CI, Macera CA, Parsons JK, Wingard DL, Garland CF (2012) Does the evidence for an inverse relationship between serum vitamin D status and breast cancer risk satisfy the Hill criteria?. **Dermato-endocrinology**. 4:152-157.

Monteiro LN, Rodrigues MA, Gomes DA, Salgado BS, Cassali GD (2018) Tumour-associated macrophages: Relation with progression and invasiveness, and assessment of M1/M2 macrophages in canine mammary tumours. **The Veterinary Journal** 234:119-125.

Oliveira, JS, Zimmermann M (2017) Principais aspectos da obesidade em cães. **Revista Científica do curso de Medicina Veterinária-FACIPLAC** 3:36-50.

Oliveira-Filho JCO, Kommers GD, Masuda EK, Marques BMFPP, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL (2010) Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30:177-185.

Osto M, Lutz TA (2015) Translational value of animal models of obesity—Focus on dogs and cats. **European journal of pharmacology** 759:240-252.

Pandolfi F, Franza L, Mandolini C, Conti P (2017) Immune modulation by vitamin D: special emphasis on its role in prevention and treatment of cancer. **Clinical therapeutics**, 39:884-893.

Pereira-Santos M, Costa PRDF, Assis AMO, Santos CADST, Santos DBD (2015) Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis **Obesity reviews** 16:341-349.

Queiroga F, Lopes C (2002) Canine mammary tumours, research on new prognostic factors. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** 97:119-127.

Rogers WA, Donovan EF, Kociba GJ (1975) Lipids and lipoproteins in normal dogs and in dogs with secondary hyperlipoproteinemia. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 166:1092-1100.

Roque BK (2017) Avaliação cardiovascular e determinação de fatores ateroscleróticos em cães obesos. 89f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia e Engenharia de Alimentos) - USP, Pirassununga.

Selting KA, Sharp CR, Ringold R, Thamm DH, Backus R (2014) Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs—correlation with health and cancer risk. **Veterinary and comparative oncology** 14:295-305.

Sharp CR, Selting KA, Ringold R (2015) The effect of diet on serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs. **BMC research notes** 8: 442.

Shin JI, Lim HY, Kim HW, Seung BJ, Ju JH, Sur JH. (2016) Analysis of Obesity-Related Factors and their Association with Aromatase Expression in Canine Malignant Mammary Tumours. **Journal of comparative pathology** 155:15-23.

Silva SF, de Brito AK, Freire BA, de Sousa LM, Pereira IM (2016) Obesidade canina: Revisão. **PUBVET** 11:313-423.

Sonnenschein EG, Glickman LT, Goldschmidt MH, McKee LJ (1991) Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **American journal of epidemiology** 133:694-703.

Speakman JR, Booles D, Butterwick R (2001) Validation of dual energy X-ray absorptiometry (DXA) by comparison with chemical analysis of dogs and cats. **International Journal of Obesity** 25:439.

Tavera-Mendoza LE, Westerling T, Libby E, Marusyk A, Cato L, Cassani R, Cameron LA, Ficarro SB, Marto JA, Klawitter J, Brown M (2017) Vitamin D receptor regulates autophagy in the normal mammary gland and in luminal breast cancer cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 114:2186-2194.

Titmarsh HF, Gow AG, Kilpatrick S, Cartwright JA, Milne EM, Philbey AW, Berry J, Handel I, Mellanby RJ (2015) Low vitamin D status is associated with systemic and gastrointestinal inflammation in dogs with a chronic enteropathy. *PloS one*. Sep 2;10(9):e0137377.

Thengchaisri N, Theerapun W, Kaewmokul S, Sastravaha A (2014) Abdominal obesity is associated with heart disease in dogs. **BMC veterinary research** 10:1-7.

Usui S, Yasuda H, Koketsu Y (2015) Lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations associated with dog body condition score; effect of recommended fasting duration on sample concentrations in Japanese private clinics. **Journal of Veterinary Medical Science** 77:15-32.

Usui S, Yasuda H, Koketsu Y (2016) Características de cães obesos ou com excesso de peso que visitam clínicas veterinárias japonesas privadas. **Jornal do Pacífico Asiático de Biomedicina Tropical** 6:338-343.

Verkest KR, Rand JS, Fleeman LM, Morton JM (2012) Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. **Domestic animal endocrinology** 42:103-112.

Webb TL, Krasuska M, Toth Z, du Plessis HR, Colliard L (2018) Using research on self-regulation to understand and tackle the challenges that owners face helping their (overweight) dogs lose weight. **Preventive veterinary medicine** 159:227-231.

Weidner N, Verbrugghe A (2017) Current knowledge of vitamin D in dogs. **Critical reviews in food science and nutrition** 57:3850-3859.

Weidner N, Woods JP, Conlon P, Meckling KA, Atkinson JL, Bayle J, Makowski AJ, Horst RL, Verbrugghe A (2017) Influence of various factors on circulating 25 (OH) vitamin D concentrations in dogs with cancer and healthy dogs. **Journal of veterinary internal medicine** 31:1796-1803.

Wheatley VR, Sher DW (1961) Studies of the lipids of dog skin. I. The chemical composition of dog skin lipids. **The Journal of investigative dermatology**, 36:169-170.

Wilmanski T, Buhman K, Donkin SS, Burgess JR, Teegarden D (2017) 1 α , 25-dihydroxyvitamin D inhibits de novo fatty acid synthesis and lipid accumulation in metastatic breast cancer cells through down-regulation of pyruvate carboxylase. **The Journal of nutritional biochemistry** 40:194-200.

Yam PS, Butowski CF, Chitty JL, Naughton G, Wiseman-Orr ML, Parkin T, Reid J (2016) Impact of canine overweight and obesity on health-related quality of life. **Preventive veterinary medicine** 127:64-69.

Yam PS, Naughton G, Butowski CF, Root AL, (2017) Inaccurate assessment of canine body condition score, bodyweight, and pet food labels: a potential cause of inaccurate feeding. **Veterinary sciences** 4:30-38.

Yao S, Kwan ML, Ergas IJ, Roh JM, Cheng TY, Hong CC, McCann SE, Tang L, Davis W, Liu S, Quesenberry Jr CP (2017) Higher serum levels of vitamin D at diagnosis are associated with better survival in a prospective cohort of 1,666 women with breast cancer: A case-cohort analysis in the Pathways Study. **JAMA oncology** 3:351-357.

Young LR, Backus RC (2016) Oral vitamin D supplementation at five times the recommended allowance marginally affects serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs. **Journal of nutritional science** 5:1-9.

CAPÍTULO 2 - Associação da vitamina D em cadelas obesas com tumores mamários malignos

Highlights

O status de 25 hidroxivitamina D (25(OH)D) é modulado pela idade e porcentagem de gordura em cadelas com tumor de mama

Há decréscimo na concentração sérica de 25(OH)D em cadelas obesas com carcinomas mamários.

Há menores níveis sanguíneos de 25(OH)D em cadelas com tumores mamários de pior prognóstico.

RESUMO - O sobrepeso e a obesidade são fatores de risco conhecidos no desenvolvimento de tumor de mama e contribuem para a sua agressividade em mulheres. Estudos demonstram que as alterações associadas com a obesidade, como a inflamação local e sistêmica podem piorar o prognóstico do paciente oncológico. Além disso, a literatura relata que a hipovitaminose D aumenta o risco de tumor de mama em mulheres. As concentrações plasmáticas de 25 hidroxivitamina D (25(OH)D) podem estar diminuídas em cadelas com tumor como o linfoma, osteossarcoma e mastocitomas. Entretanto, há carência na literatura sobre as relações da 25(OH)D e obesidade em cadelas com tumor de mama. Considerando a relevância dessa enfermidade, o presente estudo teve o objetivo de associar a composição de gordura corporal, a concentração sérica de 25(OH)D e de colesterol em cadelas com tumor de mama. Inicialmente foram realizados exames sanguíneos, cardiográficos e ultrassonográficos para triagem das cadelas que poderiam realizar o exame de composição corporal. Na ausência de alterações sistêmicas e metástases, foram estabelecidos dois grupos experimentais compostos por 12 cadelas saudáveis (grupo controle) e 11, com tumor de mama maligno. Foi realizada avaliação epidemiológica através de entrevista com o tutor. Em seguida, a análise de concentração de 25(OH)D e o exame de composição corporal no equipamento de absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA). Verificou-se que a idade média foi de 9,5 anos e que 40% apresentavam 7 anos de idade; mais da metade consumiam comida caseira (63,6%), além da ração ou petiscos (54%); e a

caminhada era realizada por 18,2% dos animais com tumor. A maioria das cadelas não era castrada (81,8%), sendo que as demais foram castradas tardiamente. Poucas cadelas tinham histórico de pseudocirose (18,3%) ou uso de anticoncepcional (9,1%). Prevaleram nódulos multicêntricos (63,6%), com até 8,2 cm de diâmetro, o diagnóstico histopatológico do carcinoma tubular representou a maioria (45,5%) e houve metástase em linfonodo axilar (9,1%). A média da concentração de 25(OH)D ($37,6 \text{ ng mL}^{-1}$) em cadelas com tumor de mama foi menor do que a de cadelas do grupo controle ($65,4 \text{ ng mL}^{-1}$). A análise estatística multivariada demonstrou que cadelas idosas com tumor de mama maligno e com alta porcentagem de gordura corporal apresentaram menores concentrações de 25(OH)D, quando comparadas ao grupo controle. Conclui-se que cadelas com maior adiposidade corporal apresentam tumores de mama mais agressivos e, quanto maior a porcentagem de gordura em cadelas com tumor de mama maligno, menor é a concentração de vitamina D.

Palavras-chave: Cão, 25(OH)D, glândula mamária, idade, composição corporal

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é realidade frequente na rotina clínica dos atendimentos dos animais de companhia, em especial os cães (Bjørnvad et al., 2017) sendo a condição clínica mais observada em fêmeas (Mao et al., 2013). É o estado clínico de excesso de tecido adiposo no corpo com aumento de, no mínimo 20 a 25%, do peso ideal (Laflamme, 2012).

O sedentarismo e acesso à dieta desbalanceada devido à antropomorfização intensificam o quadro da obesidade canina (Oliveira e Zimmermann, 2017). O consumo de alimentos gordurosos pelas cadelas com até um ano de idade (Sonnenschein, 1991), bem como a ocorrência de obesidade (Alenza et al., 1998) são fatores predisponentes ao tumor de mama.

A hipercolesterolemia e a hipertrigliceridemia são encontradas em cadelas adultas, obesas e castradas (Brunetto et al., 2011, Garaycochea et al., 2018). No entanto, há carência de estudos que associem cães obesos e o desenvolvimento de doenças relacionadas com a obesidade (Clark e Hoenig, 2016).

Em mulheres há pesquisas que associam os malefícios da obesidade com diversas doenças. Dentre eles, o estado inflamatório do paciente obeso com risco elevado de ocorrência de tumor mamário (Greenlee et al., 2018). Além disso, a obesidade diminui as concentrações de 25(OH)D em mulheres, devido ao seu sequestro no tecido adiposo (Lagunova et al., 2009), pois os adipócitos retêm os metabólitos da vitamina D, e por consequência, há maior utilização dessa vitamina em indivíduos obesos, o que ocasiona menores quantidades sanguíneas (Pereira-Santos et al., 2015). Contudo a 25(OH)D é considerada fator antineoplásico graças as suas ações antimetastáticas e apoptóticas nas células neoplásicas (Davies et al., 2012).

As ações antitumorais da vitamina D, em parte, são devido aos receptores nucleares de vitamina D, os quais dão aporte para que essa vitamina regule a expressão de proteínas que diminuem a energia intracelular, ocasionando na morte por apoptose das células tumorais (Abu el Maaty et al., 2017). A vitamina D, também é conhecida por inibir a angiogênese de tal forma que regula a proliferação exacerbada das células tumorais (Pandolfi et al., 2017).

Em cães obesos, o tumor é a terceira enfermidade mais frequente atrás apenas das enfermidades orais e das dermatopatias (Lund et al., 2006). Dentre os tumores, o de mama tem grande impacto na medicina veterinária, pois a maioria é maligna (Im et al., 2014) e trata-se do tumor mais frequente em cadelas (Cassali et al., 2017; Pastor et al., 2018). O tumor de mama é comumente observado em fêmeas de meia idade ou idosas (Andrade et al., 2017), inteiras ou castradas tardiamente, com pseudociese recorrente ou que fizeram uso de progestágenos (Støovring et al., 1997).

O diagnóstico precoce dos tumores de mama é preconizado em cadelas por meio de campanhas que informam aos tutores a importância da castração de seus animais e também, os instruem a fazer a palpação digital das mamas para que haja o diagnóstico precoce do tumor de mama (Pascoli et al., 2017), mas o enfoque em prevenção, além do incentivo à castração não ocorre.

A forma ativa da vitamina D, igualmente chamada de calcitriol, é um secosteroide essencial na dieta dos cães (How et al., 1994). Os níveis séricos dessa vitamina variam de forma ampla e refletem diretamente na quantidade suplementada

através da dieta (Selting et al., 2016). Isso se deve ao fato de que os cães, ao contrário dos herbívoros e onívoros, quando estão sob a ação dos raios ultravioleta tipo B, não realizam a conversão na pele do derivado do colesterol chamado 7-deidrocolesterol em colecalciferol (vitamina D3) de forma eficaz e suficiente, portanto são dependentes da sua ingestão alimentar (How et al., 1994).

A vitamina D em cães, apesar de ser obtida, principalmente, através da dieta (Weidner e Verbrugghe, 2017), também está diminuída, à semelhança de humanos, em alguns tumores, como linfoma, osteossarcoma e mastocitomas (Weidner et al. 2017). A suplementação de vitamina D em mulheres já é indicada como fator protetor ao tumor de mama (de La Puente- Yague et al., 2018). Entretanto, na literatura consultada, não foram encontrados estudos que relacionam a concentração de vitamina D com os tumores de mama de cadelas obesas, assim como a importância de sua utilização como fator protetor ao tumor de mama. Sabe-se que a suplementação de vitamina D em camundongos levou ao aumento dos níveis basais de autofagia em células da glândula mamária normal, além disso Tavera-Mendoza et al. (2017) destacaram o potencial da vitamina D como fator preventivo do tumor.

Considerando o grande número de casos de cadelas obesas e com tumores de mama na rotina clínica, e a relação inversa entre obesidade e 25(OH)D, descritas em mulheres (Lagunova et al., 2009) o presente trabalho pretende esclarecer a associação dos níveis séricos de 25(OH)D e a obesidade em cadelas com tumores de mama malignos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Seleção dos animais e avaliação epidemiológica

Animais da espécie canina, fêmeas, sem predileção por raça ou idade foram selecionados no Hospital Veterinário Laudo Natel, UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Para isto, os tutores foram informados sobre os procedimentos a serem realizados e, após autorização, os mesmos assinaram o termo de consentimento. Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal (CEUA) sob o protocolo nº. 010092/17, da FCAV / UNESP, Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil.

A avaliação epidemiológica foi realizada através de entrevista com o tutor, o modelo do questionário encontra-se no anexo 1. Foram obtidas informações sobre a idade, raça, porte do animal; dieta (ração, comida caseira ou mistura de ambas), se o arraçoamento seguia os parâmetros do veterinário ou do rótulo da ração, ou se foi realizado de forma arbitrária; se eram oferecidos petiscos industrializados ou carne cozida; se os cães praticavam caminhada e qual a sua frequência. Além de informações sobre o perfil reprodutivo da cadela, como o uso de anticoncepcionais, ocorrência de pseudociese, castração, ganho de peso, após castração e desenvolvimento de comportamento sedentário após a ovariosalpingohisterectomia.

2.2 Grupos experimentais

As cadelas foram divididas em grupo controle (GC) com 12 fêmeas sem tumor de mama e o grupo com tumor de mama maligno (GT), por 11 cadelas. Em ambos os grupos foram realizados exames clínicos, sanguíneos, cardiográficos e a pesquisa de enfermidades que interferissem na composição corporal ou que causassem risco ao procedimento anestésico. No GT, além destes procedimentos, foram realizados exames radiográficos de tórax e ultrassonográficos de abdômen para pesquisa de metástases. Na ausência de alterações, o animal foi incluído no estudo.

2.3 Análises séricas da 25(OH)D e do colesterol

As cadelas passaram por jejum de 12 horas, em seguida, foram colhidas, em condições assépticas, amostras de sangue por meio de punção da veia jugular. As amostras foram mantidas em tubos de coleta a vácuo Vacutainer® de capacidade de 5 mL, sem anticoagulante, centrifugado à 1736,11G por 10 minutos, para obtenção de soro, o qual foi armazenado em microtubos de polipropileno 1,5mL (Eppendorf®) e congelados (- 20°C) para análise dos valores de 25(OH)D, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e colesterol total. As dosagens de 25(OH)D foram realizadas pelo método de quimioluminescência, utilizando-se reagente Access 25(OH) Vitamin D Total no DXi - Beckman Coulter (Selting et al., 2014). As dosagens de colesterol e triglicérides foram realizadas pelos

métodos enzimáticos e HDL, colorimétrico direto (Röschlau et al., 1974), ambos os métodos na Mindray BS-200E. Os reagentes utilizados foram Enzimático AA líquido-Wiener Lab para dosagem de colesterol; Color GPO/PAP AA líquido-Wiener Lab para a dosagem da concentração de triglicérides; Labtest para HDL.

2.4 Avaliação da composição corporal

Após a coleta de amostras de sangue, as cadelas foram submetidas às análises de composição corporal no Laboratório de Estudos de Composição Corporal e Avaliação Óssea de Animais do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

As cadelas foram pesadas em balança eletrônica analítica Filizola, Personal Line® e classificadas quanto ao escore de condição corporal (ECC) de um a 9 (Laflamme, 1997) e mensuradas quanto ao seu comprimento desde o focinho até a cauda.

O aparelho Hologic, Discovery Si, (Hologic Delphi QDR, Hologic Discovery QDR, Bedford, MA, USA) foi calibrado com um *phantom*.

As cadelas foram submetidas à medicação pré-anestésica com clorpromazina na dose de 1mg / kg e a indução anestésica com propofol 5mg/ kg (Claris Injectables Limited, Índia), ambas via intra-venosa. Em seguida, após perda do reflexo postural, o paciente foi posicionado em decúbito esternal, em área do equipamento, Hologic, Discovery Si, compatível com o tamanho do animal. Foram realizadas três varreduras consecutivas, sem reposicionamento, utilizando-se do software *small animal* fornecido pelo próprio fabricante do equipamento, em seguida foi obtida a porcentagem de gordura corporal (%), a quantidade de gordura corporal (g), o conteúdo mineral ósseo (g) (CMO), a densidade mineral óssea (g/cm^2), o somatório da massa magra (MM) e do conteúdo mineral ósseo (g), e a porcentagem de massa magra (%) (Lauten et al., 2001).

Após análise da composição corporal, as cadelas do grupo com tumor de mama foram submetidas à mastectomia radical unilateral na rotina do Hospital Veterinário Laudo Natel e foi coletado material para análise histológica independente do tamanho do nódulo.

2.5 Processamento das amostras e classificação histológica

Após a exérese cirúrgica, a cadeia mamária com o tumor de mama e os linfonodos, axilar e inguinal do mesmo lado, foram colhidos para exame histopatológico. As amostras de tecidos foram fixadas em solução de formalina 10% tamponada com fosfato ácido de sódio monohidratado e fosfato dissódico anidro, clivadas, desidratadas em série crescente de álcool etílico, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Foram realizadas seções semisseriadas de três micrômetros de espessura dispostas em lâminas histológicas para coloração com Hematoxilina e Eosina e avaliadas em microscópio de luz Olympus.

A classificação histológica dos tumores foi de acordo com a Organização Mundial de Saúde (Misdorp et al., 1999) e as diretrizes do segundo consenso para diagnóstico dos tumores mamários caninos (Cassali et al., 2014). Nos casos em que havia mais de um tumor foi considerado o que apresentou características histológicas de maior malignidade para a análise do trabalho.

2.6 Análise estatística

Na análise estatística, os dados foram submetidos às análises multivariadas, tais como, análise de componentes principais (PCA) e análise de fatores (AF).

Para a PCA foram considerados os níveis séricos de vitamina D e LDL, porcentagem de gordura, idade, densidade mineral óssea (DMO), peso, LDL, escore, prática de atividade física e tipo de alimento fornecido.

3. RESULTADOS

No GC prevaleceram cadelas com idade média de 4 anos; 9 não tinham raça definida, 1 era Basset , 1 Labrador e 1 Golden Retriever. Em relação ao status reprodutivo (Tabela 1) 1 (8,3%) não era castrada. Entre as cadelas castradas, 9 (75%) foram castradas entre 2 e 14 meses de idade; uma foi castrada aos 6 anos de idade e em um caso não foi informado. A prática de caminhada estava presente em 50% das cadelas: 2 (16,7%) praticam 3 vezes por semana, 1 (8,3%)

esporadicamente, 1 (8,3%) 1 vez por semana, 1 (8,3%) 2 vezes por semana e 1 (8,3%) diariamente.

No grupo com tumor (GT), a idade média das cadelas foi de 9,5 anos e 40% apresentavam 7 anos de idade; 8 cadelas não tinha raça definida, 1 era Rottweiler, 1 Poodle e 1 Pitbull. Apenas 18,2% das cadelas eram castradas (Tabela 1), sendo uma delas castrada entre 2-3 anos de idade e a outra aos 6 anos. A pseudociese foi observada em 18,2% das cadelas. A caminhada era realizada somente por duas cadelas. Uma delas praticava três vezes por semana e a outra, diariamente.

A concentração de 25(OH)D no GC variou de 21,4 ng mL⁻¹ a 104,8 ng mL⁻¹; com média de 65,4 ng mL⁻¹, enquanto no GT, de 6,3 ng mL⁻¹ a 56,4 ng mL⁻¹, com média de 37,6 ng mL⁻¹, no GT. Desta forma, observa-se valor médio de 25(OH)D superior do GC em relação ao GT. Os valores encontram-se na tabela 2 em ordem decrescente do percentual de gordura.

O peso corporal das cadelas do grupo controle apresentou média de 21kg, enquanto o grupo tumor de mama, 14 kg. Embora o peso corporal seja maior no grupo controle, observa-se que a porcentagem de gordura corporal foi maior no grupo de cadelas com tumor, o que poderia indicar que a avaliação de peso, isoladamente, não é parâmetro confiável. Ainda que haja a limitação do presente estudo, que baseou-se na rotina hospitalar e na necessidade de triagem de vários espécimes para segurança na avaliação pela DXA, essa pesquisa sugere que os clínicos devem levar em consideração a adiposidade das cadelas e sua relação com o comportamento dos tumores.

A DMO média do GC foi de 0,7688 g/cm² e do GT, de 0,6725 g/cm².

O resultado do percentual de gordura corporal avaliado através da DXA demonstrou que a obesidade mórbida foi observada em 54,5% das cadelas, este grupo apresentou animais com 37,9% a 57,9% de seu corpo composto por gordura. A obesidade grave foi verificada em 18,2% e o mesmo percentual no grupo classificado como obesidade. Apenas 9,1% apresentou porcentagem de gordura corporal cujo ECC corresponde a 7, o qual indica sobrepeso.

Tabela 1. Perfil das cadelas do grupo controle (GC) e do grupo com tumor de mama (GT) após entrevista com tutores.

Avaliações	Frequência (%) das cadelas GC			Frequência (%) das cadelas GT		
ITENS DA DIETA						
	Sim	Não	-	Sim	Não	-
Consome petiscos	50,0	50,0	-	46,0	54,0	-
Consome carne	41,6	58,3	-	46,0	54,0	-
	Ração	Ração e comida Caseira	-	Ração	Ração e comida Caseira	-
Tipo de alimento	58,33	41,66	-	36,4	63,6	-
	Rótulo da ração	Veterinário	Tutor	Rótulo da ração	Veterinário	Tutor
Quantidade de ração de acordo com o rótulo	25,0	25,0	50,0	27,3	0,0	72,7
ATIVIDADE FÍSICA						
Caminhada	50,0	50,0	-	18,2	81,8	-
INFORMAÇÕES REPRODUTIVAS						
	Sim	Não	-	Sim	Não	-
Castração	91,6	8,3	-	18,2	81,8	-
	Sim	Não	Não castrada	Sim	Não	Não castrada
Ganho peso pós castração	8,3	75,0	1,7	9,1	90,9	81,8
Sedentarismo pós-castração	0,0	91,6	8,3	9,1	90,9	81,8
Anticoncepcional	0,0	100,0	0,0	9,1	90,9	81,8
Pseudociese	0,0	100,0	0,0	18,3	71,7	-

Entre as 11 cadelas que tiveram no total 16 nódulos, houve sete animais (63,6%) que apresentaram tumores multicêntricos, já as nodulações únicas estiveram presentes em quatro cadelas (36,3%). Observaram-se nódulos com até 3 cm em 45,4% das cadelas, de 3-5 cm em 36,4% e maiores do que 5 cm em 18,2%, sendo que o maior apresentou 8,2 cm de diâmetro. A cadela que apresentou o nódulo de maior tamanho, também apresentou a maior porcentagem de gordura (57,9%) dentre os animais do estudo.

As mamas torácicas caudais e abdominais cranial foram as mais afetadas, pois os tumores malignos foram observados em 27,27% em cada uma, na torácica caudal em 18,2% dos casos, entre abdominal cranial e caudal, 9,1%, nas mamas inguinais 9,1% e um caso (9,1%) em que a mama inguinal apresentou tumor na visualização microscópica, porém não havia nodulação perceptível.

Os tumores de mama mais frequentemente diagnosticados foram o carcinoma tubular (45,5%), carcinoma em tumor misto (27,8%), carcinoma papilar (9,1%), carcinoma de células escamosas (9,1%) e osteossarcoma (9,1%), estes resultados são apresentados na Tabela 2. Foram diagnosticados mais de um tipo histológico de tumor em 63,3% das cadelas, 9,1% dos animais tiveram tumores benigno e maligno na mesma cadeia mamária.

Entre as 11 cadelas, 7 (63,6%) tinham apenas tumor na mama, 4 (36,4%) apresentaram outros tumores: leiomioma uterino, lipoma, carcinoma de células escamosas pouco queratinizado, e uma cadela apresentou nódulos em pele diagnosticados com carcinoma de células escamosas e hemangiossarcoma, além de hemangiossarcoma esplênico.

A cadela com osteossarcoma mamário foi a óbito. A cadela diagnosticada com carcinoma papilar grau III apresentou metástase ao exame histopatológico do linfonodo axilar, porém o linfonodo inguinal estava livre de micrometástases.

Tabela 2. Gordura corporal (%), idade (anos), peso corporal (kg), concentração de 25(OH)D (ng mL⁻¹) e densidade mineral óssea (DMO) (g/cm²) das cadelas do grupo controle (GC) (n=12) e com tumor de mama (n=11) (GT), e o diagnóstico histopatológico dos tumores

Gordura corporal		Idade		Peso corporal		25(OH)D		DMO		Diagnóstico histopatológico
GC	GT	GC	GT	GC	GT	GC	GT	GC	GT	GT
47,7	57,9	9,0	9,0	4,3	16,6	50,8	28,2	0,576	0,59	Osteossarcoma mamário
40,4	45,1	3,0	14,0	37,2	7,5	70,4	33,5	0,9673	1,059	Carcinoma em tumor misto grau I
39,7	41,1	7,0	7,0	6,2	40,0	56,3	6,3	0,5876	0,971	Carcinoma de células escamosas mamário
38,8	39,4	5,0	10,0	5,8	8,3	21,4	33,9	0,567	0,676	Carcinoma tubular grau II
38,5	38,2	2,5	12,0	33,4	4,3	52,2	36,8	1,041	0,457	Carcinoma tubular I
36,4	37,9	2,92	9,0	28,0	6,4	51,5	68,1	0,937	0,286	Carcinoma tubular II
34,7	37,0	7,0	11,0	13,1	28,8	104,8	65,3	0,7906	0,889	Carcinoma em tumor misto I
33,3	34,2	5,0	7,0	13,9	13,0	56,2	31,8	0,7226	0,742	Carcinoma papilar grau III
26,0	30,7	5,0	7,0	14,5	4,5	90,9	56,4	0,8195	0,600	Carcinoma em tumor misto grau I
24,8	28,7	0,92	11,0	23,9	7,6	39,9	26,1	0,8946	0,522	Carcinoma papilar grau II
24,7	22,6	1,17	7,4	13,9	16,6	95,3	27,7	0,7243	0,603	Carcinoma tubular grau I
22,8	-	1,3	-	5,3	-	94,5	-	0,5983	-	-
34,0	37,5	4,0	9,5	21,0	14,0	65,4	37,6	0,7688	0,672	Médias

ANÁLISE MULTIVARIADA

Na Análise de Componentes (PCA), as variáveis peso, idade, prática de atividade física e DMO foram responsáveis por explicar 33,109% da variabilidade dos dados e o componente principal 1 colaborou no agrupamento de animais com e sem tumor de mama. Semelhante distribuição ocorreu no componente 2, em que as variáveis porcentagem de gordura, escore da condição corporal, níveis séricos de vitamina D e LDL foram responsáveis por explicar 26,166% da variabilidade. Estes resultados estão expostos na Figura 1.

As três cadelas do grupo controle localizadas nos níveis superiores do 4º quadrante da Figura 1 apresentaram os maiores níveis de vitamina D, 104,8, 95,3 e 94,5 ng mL⁻¹.

Em seguida foi realizada a análise de fatores para verificar quais variáveis eram mais preponderantes para explicar a maior parte da variabilidade dos dados. O fator 1 explicou 33.109% da variabilidade dos dados. Na Tabela 3 observa-se que o peso e DMO expressaram valores negativos e acima de 0,5, portanto são fatores que variam de forma inversa às variáveis idade e prática de atividade, as quais apresentaram resultados positivos. Ou seja, animais mais idosos e que praticam pouca atividade física apresentaram menores valores de DMO e menor peso corporal.

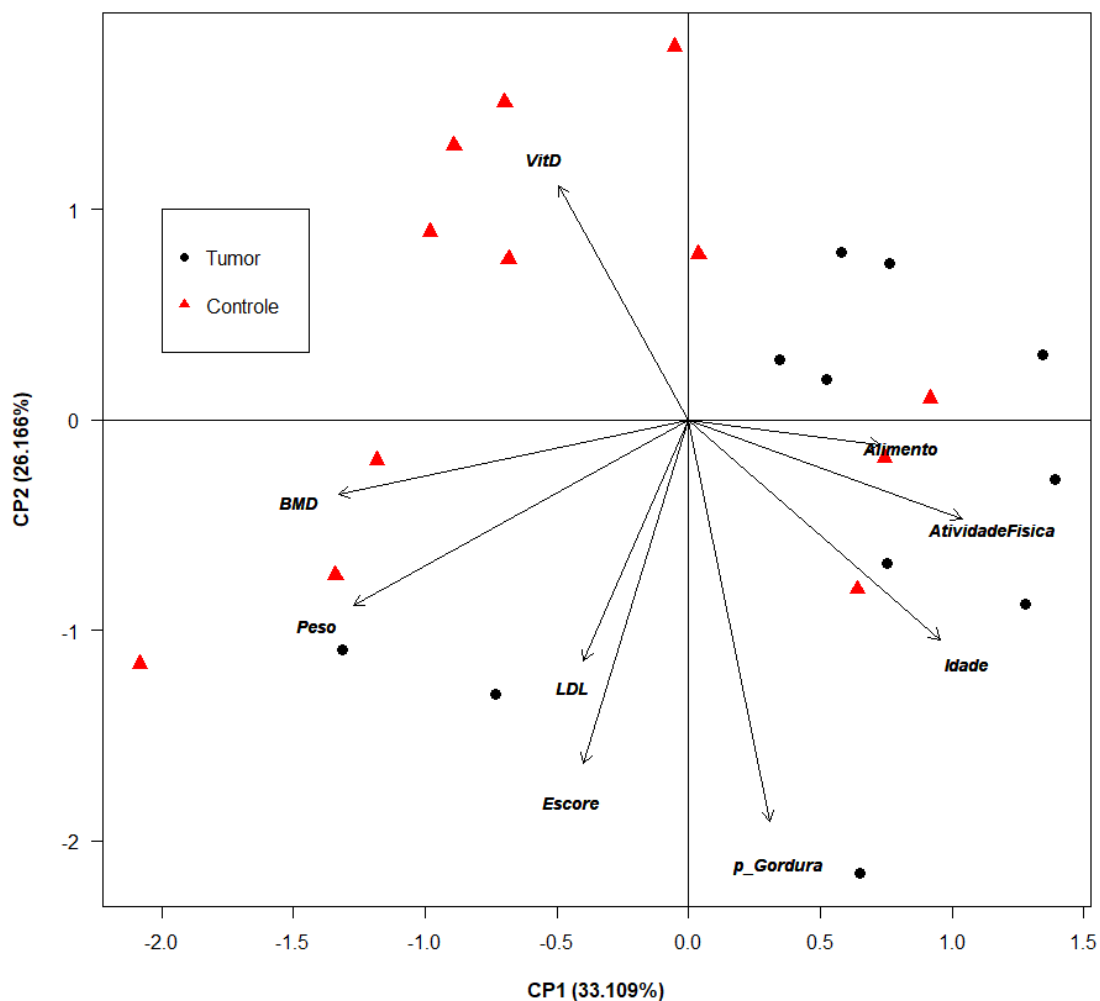


Figura 1. Análise dos componentes principais das variáveis referentes ao grupo controle e ao grupo com tumor de mama. Variáveis consideradas: níveis séricos de vitamina D e LDL, porcentagem de gordura, idade, densidade mineral óssea (DMO), peso, escore, prática de atividade física e tipo de alimento fornecido.

Cadelas com altas porcentagens de gordura, escore corporal alto e com altos níveis séricos de LDL tendem a apresentar menores níveis séricos de vitamina D. Estes dados são resultados da análise de fatores 2 que explicou 26.166% da variabilidade das informações, cujos valores estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados gerados a partir da análise das variáveis das cadelas do estudo

Variável	Fator 1	Fator 2
Escore	-0,270	-0,753*
Vit. D	-0,333	0,513*
LDL	-0,268	-0,528*
Peso	-0,858*	-0,407
Porcentagem de gordura corporal	0,208	-0,879*
Idade	0,642*	-0,481
Tipo de alimento	0,489	-0,055
Atividade física	0,699*	-0,216
Densidade mineral óssea (DMO)	-0,897*	-0,164
Proporção da variância explicada	33.109%	26.166%

* $R > |0,5|$ - VALORES LEVADOS EM CONSIDERAÇÃO NA INTERPRETAÇÃO DOS FATORES.

4. DISCUSSÃO

Animais idosos realizam menos atividade física (German et al., 2017) e apresentam menor taxa metabólica basal, o que predispõe ao ganho de peso (Lund et al., 2006). No levantamento realizado por Mao et al. (2013) 68,6% dos animais com 11 anos de idade estavam obesos. Assim como observado no presente estudo, em que as cadelas obesas foram as mais idosas.

A cada ano de vida há aumento de 23% do risco de tumor de mama (Dias et al., 2016) o que influencia na constatação de que cadelas adultas e idosas são as mais propensas a ter esses tumores, assim como analisado por Jubb (2007) e Andrade et al. (2017).

Os tumores mamários foram observados com maior frequência em cadelas adultas e idosas, principalmente, nas não castradas. De acordo com Cassali et al. (2014) isso pode ter ocorrido devido à mudanças na concentração de hormônios circulantes, como o estrógeno. Assim como observado no presente estudo, em que prevaleceram no grupo tumor de mama, cadelas com idade média de 9,5 anos e não castradas. Isso se deve a maior exposição hormonal o que aumenta a propensão ao tumor de mama quando não há castração antes do primeiro cio (Kamiguchi et al., 2016).

Os cães sem raça definida representaram 28% da população obesa, seguidos por animais da raça Cocker (10,3%), Poodle (10,3%), Dachshund (6,5%) e Labrador (5,6%) (Jericó; Scheffer, 2002). Houve prevalência das cadelas SRD e com tumor

mamário (63,3%) no presente estudo (Tabela 2), o que também foi observado por Andrade et al. (2017), enquanto Malatesta (2015) e Dias et al. (2016) relataram maior frequência em Poodles. As cadelas com porte gigante foram 2,6 vezes mais propensas ao tumor de mama do que cadelas de porte pequeno (Dias et al., 2016).

De acordo com Malatesta (2015), 35% das cadelas foram castradas antes do diagnóstico do tumor, 9% utilizaram anticoncepcionais, 31,1% apresentaram pseudociese, 50% consumiam exclusivamente ração, e 34,4% consumiam ração e alimentação caseira. Esses resultados corroboram com a porcentagem de cadelas com pseudociese no nosso estudo, entretanto, observamos que, apenas 18,2% eram castradas, 18,2% tiveram pseudociese e 36% consumiam exclusivamente ração e as demais consumiam ração e comida caseira. Sugere-se que o perfil dessas cadelas influenciou na diferenciação do grupo tumor em comparação ao grupo controle.

A alta concentração sérica de LDL e a expressão elevada de LDLR em células tumorais são importantes para o crescimento do câncer de mama (Gallagher et al., 2017).

O peso corporal das cadelas saudáveis variou entre 5 kg a 74 kg (Witzel et al., 2014), Ribas et al. (2012) observaram maior incidência de tumor mamário em cadelas obesas. No presente trabalho, o GC variou de 4,3 kg a 37,2 kg e o GT, 4,3 a 40 kg. Infere-se que o peso corporal foi similar entre os grupos e a diversidade de raças e portes do presente estudo justifica, tal variação de peso. Forster et al. (2018) observaram que o grupo de cães obesos foram mais pesados do que o grupo normal, os quais apresentaram respectivamente, 37,7kg e 22,5kg.

Sabe-se que a porcentagem de gordura pode ser estimada pelo escore de condição corporal (ECC) (Mawby et al., 2004), no presente estudo, observou-se associação do tumor de mama, porcentagem de gordura corporal e ECC. Foi encontrado aumento de 30% a 50% na ocorrência de carcinoma mamário em mulheres obesas (German et al., 2006). No presente trabalho foi observada associação da porcentagem de gordura corporal com tumor de mama em cadelas, similar à Ribas et al. (2012) no qual 89% das cadelas com tumores de mama apresentavam-se obesas. Witzel et al. (2014) relataram que cadelas saudáveis apresentaram porcentagem de gordura entre 20,4% a 65,2%, no presente trabalho, esteve entre 22,8% a 47,7% para o GC e 22,6% a 57,9% para o GT.

Sugere-se que a maior porcentagem de gordura corporal encontrada no GT possa estar associada ao aumento da quantidade de proteínas inflamatórias circulantes associadas ao tumor mamário e à obesidade (Iyengar et al., 2018). Desta forma, após analisar os resultados do presente estudo, sugere-se que o quadro inflamatório do tumor de mama, agravado em cadelas obesas, poderia interferir no status da vitamina D, algo que deve ser investigado.

É sabido que em cães com enteropatia crônica os níveis séricos de vitamina D estão inversamente relacionados com marcadores sistêmicos da inflamação, como os níveis séricos de neutrófilos e monócitos, contagem de citocinas pró-inflamatórias e com o infiltrado inflamatório quantificado em avaliações histopatológicas de duodeno (Titmarsh et al., 2015). Sugere-se que a maior porcentagem de gordura corporal encontrada no GT possa estar associada ao aumento da quantidade de proteínas inflamatórias circulantes associadas ao tumor mamário e à obesidade (Iyengar et al., 2018). Desta forma, após analisar os resultados do presente estudo, sugere-se que o quadro inflamatório do tumor de mama, agravado em cadelas obesas, poderia interferir no status da vitamina D, algo que deve ser investigado.

O tamanho do tumor está relacionado à malignidade (Oliveira-Filho et al., 2010; Cassali et al., 2014), esta informação também foi observada neste estudo em que os tumores com piores prognósticos estiveram presentes em 54,6% das cadelas com nódulos acima de 3 cm de diâmetro. Destaca-se para que seja protocolo a avaliação microscópica de todas as mamas, inclusive as mamas sem nodulação aparente, pois foi diagnosticado um caso (9,1%) de carcinoma tubular grau I em uma mama inguinal sem alterações macroscópicas.

Os tumores de mama em cadelas são na maioria malignos (Dias et al., 2016, Im et al., 2014), sendo os carcinomas os mais comuns (Andrade et al., 2017, Ariyathna et al., 2018). Os subtipos mais prevalentes variam nos estudos, por exemplo, carcinoma sólido (32,2%) (Dias et al., 2016) e carcinoma papilar (50,5%) (Costa et al., 2016). No presente estudo o carcinoma tubular prevaleceu (45,5%) seguido do carcinoma em tumor misto (27,8%). Em nosso estudo apenas uma (9,1%) cadela apresentou metástase em linfonodo. Esta baixa incidência pode ser explicada pelo fato de que os casos sugestivos de metástase à distância, diagnosticados por

exames de imagem, foram descartados do estudo, pois as cadelas não foram submetidas à anestesia para avaliação da composição corporal e da densidade mineral óssea.

Pode-se observar que as quatro cadelas com maior percentual de gordura corporal apresentaram um dos menores valores séricos de vitamina D cujos resultados não ultrapassaram 34 ng mL^{-1} .

No presente estudo a cadela com maior porcentagem de gordura foi diagnosticada com osteossarcoma mamário. Romano et al. (2016) observaram que o osteossarcoma apendicular em cães não estava relacionado com a progressão ou a sobrevida de cães obesos. Por outro lado, sabe-se que o osteossarcoma de mama, apesar de incomum, é frequentemente associado a maior taxa de metástase e menor sobrevida de mulheres com carcinomas mamários (Wensman et al., 2008).

Os tumores com piores prognósticos (66,7%) foram observados em cadelas com os menores níveis de vitamina D. Destaca-se a cadela que apresentou o menor nível sérico de vitamina D, a qual foi diagnosticada com carcinoma de células escamosas, um dos tumores com pior prognóstico, e, além de possuir 41,1% de gordura corporal. Nossos resultados assemelham-se aos observados no estudo de Lim et al. (2015) ao relatarem maior proporção de tumores pouco diferenciados nas cadelas com sobrepeso e obesas.

Níveis mais altos de 25(OH)D estão associados ao risco reduzido de tumor de mama em mulheres (Yao et al., 2011) demonstrando efeito protetor da vitamina D sobre esse tipo de tumor. Embora no presente estudo não haja mensuração da concentração de 25(OH)D antes do diagnóstico da enfermidade, as concentrações séricas encontradas no GT foram inferiores ao do GC. Neste contexto, Weidner et al. (2017) confirmaram relação entre o tumor e o metabolismo alterado da vitamina D em cães com osteossarcoma, linfoma e mastocitoma, corroborando com os nossos resultados para tumor de mama.

5. CONCLUSÕES

Há relação entre adiposidade corporal e o status de vitamina D em cadelas com tumor de mama.

A concentração sérica de 25(OH)D deve ser investigada na rotina veterinária em cadelas obesas com tumor de mama com o objetivo de avaliar a necessidade da sua suplementação dietética. Além disso, essa pesquisa sugere que os níveis da vitamina D devem ser frequentemente investigados nas cadelas obesas e idosas e inseridos na rotina hospitalar para prevenção de tumores mamários de pior prognóstico.

Nosso trabalho demonstra a necessidade de manter o escore de condição corporal ideal para prevenir a ocorrência de tumores de mamas com pior prognóstico e, por consequência, prevenir a morte precoce de cadelas com estes tumores de mama.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradecimento ao Sr. Antônio Roveri Neto pela assistência histotécnica.

6. REFERÊNCIAS

- Abu el Maaty MA, Almouhanna F, Wöfl S (2017) Vitamin D as a novel regulator of tumor metabolism: insights on potential mechanisms and implications for anti-cancer therapy. **International journal of molecular sciences** 19:2184.
- Alenza DP, Rutteman GR, Peña L, Beynen AC, Cuesta P (1998) Relation between Habitual Diet and Canine Mammary Tumors in a Case-Control Study. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 12:132-139.
- Andrade MB, Guimarães EC, Coletto AF, Soares NP, Medeiros-Ronchi AA (2017) Estudo retrospectivo de lesões mamárias em cadelas-Uberlândia, MG, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae** 45:1-8.
- Ariyaratna H, de Silva N, Aberdein D, Kodikara D, Jayasinghe M, Adikari R, Munday J (2018) Clinicopathological Diversity of Canine Mammary Gland Tumors in Sri Lanka: A One-Year Survey on Cases Presented to Two Veterinary Practices. **Veterinary sciences** 5:46.
- Brunetto MA, Nogueira S, Sá FC, Peixoto M, Vasconcellos RS, Ferraudo AJ, Carciofi AC (2011) Correspondência entre obesidade e hiperlipidemia em cães. *Ciência Rural*, 41(2), 266-271.
- Bjørnvad CR, Nielsen ME, Hansen SE, Nielsen DH (2017) The effect of position on the precision of dual-energy X-ray absorptiometry and correlation with body condition score in dogs and cats. **Journal of nutritional science** 6:1-4.
- Cassali GD, Damasceno KA, Bertagnolli AC, Estrela-Lima A, Lavallo GE, Di Santis GW, De Nardi AB, Fernandes CG, Cogliati B, Sobral R, da Costa FV (2017) Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors: benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology** 10:87-99.
- Cassali GD, Lavallo GE, Ferreira E, Estrela-Lima A, De Nardi AB, Ghever C, Sobral RA, Amorim RL, Oliveira LO, Sueiro FA, Beserra HE (2014) Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors-2013. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology** 7:38-69.
- Clark M, Hoenig M (2016) Metabolic effects of obesity and its interaction with endocrine diseases. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice** 46:797-815.
- Costa Jr JS, Goiozo P, Silva E (2016) Estudo epidemiológico de tumores de mama em cadela na região do oeste paulista. **Colloquium Agrariae** 12:27-31.
- Davies J, Heeb H, Garimella R, Templeton K, Pinson D, Tawfik O (2012) Vitamin D receptor, retinoid X receptor, Ki-67, survivin, and ezrin expression in canine osteosarcoma. **Veterinary medicine international** 2012.

de La Puente-Yagüe M, Cuadrado-Cenzual MA, Ciudad-Cabañas MJ, Hernández-Cabria M, Collado-Yurrita L. (2018) Vitamin D: And its role in breast cancer. **The Kaohsiung Journal of Medical Sciences**. 34:423-427.

Dias ML, Andrade JM, Castro MB, Galera PD (2016) Survival analysis of female dogs with mammary tumors after mastectomy: epidemiological, clinical and morphological aspects. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 36:181-186.

Gallagher EJ, Zelenko Z, Neel BA, Antoniou IM, Rajan L, Kase N, LeRoith D (2017) Elevated tumor LDLR expression accelerates LDL cholesterol-mediated breast cancer growth in mouse models of hyperlipidemia. **Oncogene** 36:6462-6471.

Garaycochea S, Dávila R, Lira B, Suárez F (2018) Estudio comparativo de perfil lipídico y presión arterial en caninos delgados y con sobrepeso. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú** 29:1178-1183.

German AJ, Blackwell E, Evans M, Westgarth C (2017) Overweight dogs exercise less frequently and for shorter periods: results of a large online survey of dog owners from the UK. **Journal of Nutritional Science** 6:1-4.

German AJ, Holden SL, Moxham GL, Holmes KL, Hackett RM, Rawlings JM (2006) A simple, reliable tool for owners to assess the body condition of their dog or cat. **The Journal of nutrition** 136:2031-2033.

Greenlee H, Shi Z, Hibshoosh H, Giri DD, Ahmed A, Williams S, Falcone DJ, Winston LA, Zhou XK, Hudis CA, Hershman DL (2019) Obesity-associated breast inflammation among Hispanic/Latina breast cancer patients. **Cancer Prevention Research** 12:21-30.

Im K, Kim NH, Lim HY, Kim HW, Shin JI, Sur JH (2014) Analysis of a new histological and molecular-based classification of canine mammary neoplasia. **Veterinary Pathology** 51:549-559.

Iyengar NM, Arthur R, Manson JE, Chlebowski RT, Kroenke CH, Peterson L, Cheng TY, Feliciano EC, Lane D, Luo J, Nassir R (2019) Association of body fat and risk of breast cancer in postmenopausal women with normal body mass index: a secondary analysis of a randomized clinical trial and observational study. **JAMA oncology** 5:155-163.

Jubb KV (2007) **Pathology of Domestic Animals**. Academic Press, p.777-779.

Jericó MM, Scheffer KC (2002) Aspectos epidemiológicos dos cães obesos na cidade de São Paulo. **Clínica Veterinária**, São Paulo, 7:25-29.

Kamiguchi IE, Moreira IM, Da Silva TF, Zahn FS, Hataka A (2016) Mammary Neoplasms in Female Dogs: Identification of Cytopathological Criteria for Malignancy. **Journal of Cytology and Histology** 7: 392.

Laflamme, D (2012) Obesity in dogs and cats: What is wrong og being fat? **American Society of Animal Science**, 90:1653–1662.

Lagunova Z, Porojnicu AC, Lindberg F, Hexeberg S, Moan J (2009) The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. **Anticancer research** 29:3713-3720.

Lauten SD, Cox NR, Brawner Jr WR, Baker HJ (2001) Use of dual energy x-ray absorptiometry for noninvasive body composition measurements in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research** 62:1295-1301.

Lim HY, Im KS, Kim NH, Kim HW, Shin JI, Yhee JY, Sur JH (2015) Effects of obesity and obesity-related molecules on canine mammary gland tumors. **Veterinary pathology**. Nov;52(6):1045-51.

Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Klausner JS (2006) Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine** 4:177-186.

Malatesta FD (2015) **Perfil da neoplasia mamária canina e sua relação com a poluição atmosférica**. 105 F. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade de São Paulo.

Mao J, Xia Z, Chen J, Yu J (2013) Prevalence and risk factors for canine obesity surveyed in veterinary practices in Beijing, China. *Preventive veterinary medicine* 112:438-42.

Mawby DI, Bartges JW, d'Avignon A, Laflamme DP, Moyers TD, Cottrell T (2004) Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association** 40:109-14.

Misdorp W (1999) Histological classification of the mammary tumors of the dog and the cat. **World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals second series** 7:1-59.

Oliveira-Filho JCO, Kommers GD, Masuda EK, Marques BMFPP, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL (2010) Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30:177-185.

Oliveira, JS, Zimmermann M (2017) Principais aspectos da obesidade em cães. **Revista Científica do curso de Medicina Veterinária-FACIPLAC** 3:36-50.

Pandolfi F, Franza L, Mandolini C, Conti P (2017) Immune modulation by vitamin D: special emphasis on its role in prevention and treatment of cancer. **Clinical therapeutics**, 39:884-893.

Pascoli AL, Negrão SL, Oliveira LE, Ferreira MGPA, de Paula Reis Filho N, De Nardi AB (2017) Campanha de orientação, prevenção e diagnóstico precoce de tumores mamários em cadelas e prevalência desses tumores diagnosticados durante a campanha realizada no município de Blumenau-SC. **Archives of Veterinary Science** 22:66-74.

Pastor N, Caballé NC, Santella M, Ezquerro LJ, Tarazona R, Duran E (2018) Epidemiological study of canine mammary tumors: age, breed, size and malignancy. **Austral journal of veterinary sciences** 50:143-147.

Pereira-Santos M, Costa PRDF, Assis AMO, Santos CADST, Santos DBD (2015) Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis **Obesity reviews** 16:341-349.

Ribas CR, Dornbusch PT, de Faria MR, de Figueiredo Wouk AF, Cirio SM (2012) Alterações clínicas relevantes em cadelas com neoplasias mamárias estadiadas. **Archives of Veterinary Science** 17:60-68.

Röschlau PV, Bernt E, Gruber W (1974) Enzymatische bestimmung des gesamtcholesterins im serum. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 12:403-407.

Romano FR, Heinze CR, Barber LG, Mason JB, Freeman LM (2016) Association between body condition score and cancer prognosis in dogs with lymphoma and osteosarcoma 30:1179-1186.

Selting KA, Sharp CR, Ringold R, Thamm DH, Backus R (2014) Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs—correlation with health and cancer risk. **Veterinary and comparative oncology** 14:295-305.

Sonnenschein EG, Glickman LT, Goldschmidt MH, McKee LJ (1991) Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **American journal of epidemiology** 133:694-703.

Støovring M, Moe L, Glattre E (1997) A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. **Apmis** 105:590-596.

Tavera-Mendoza LE, Westerling T, Libby E, Marusyk A, Cato L, Cassani R, Cameron LA, Ficarro SB, Marto JA, Klawitter J, Brown M (2017) Vitamin D receptor regulates autophagy in the normal mammary gland and in luminal breast cancer cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 114:2186-2194.

Titmarsh HF, Gow AG, Kilpatrick S, Cartwright JA, Milne EM, Philbey AW, Berry J, Handel I, Mellanby RJ. (2015) Low vitamin D status is associated with systemic and gastrointestinal inflammation in dogs with a chronic enteropathy. **PloS one** 10:0137377.

Weidner N, Verbrugge A (2017) Current knowledge of vitamin D in dogs. **Critical reviews in food science and nutrition** 57:3850-9.

Weidner N, Woods JP, Conlon P, Meckling KA, Atkinson JL, Bayle J, Makowski AJ, Horst RL, Verbrugghe A (2017) Influence of various factors on circulating 25 (OH) vitamin D concentrations in dogs with cancer and healthy dogs. **Journal of veterinary internal medicine** 31:1796-1803.

Wensman H, Göransson H, Leuchowius KJ, Strömberg S, Pontén F, Isaksson A, Rutteman GR, Heldin NE, Pejler G, Hellmén E (2009) Extensive expression of craniofacial related homeobox genes in canine mammary sarcomas. **Breast cancer research and treatment** 118:333-343.

Witzel AL, Kirk CA, Henry GA, Toll PW, Brejda JJ, Paetau-Robinson I (2014) Use of a novel morphometric method and body fat index system for estimation of body composition in overweight and obese dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 244:1279-1284.

Yao S, Sucheston LE, Millen, AE, Johnson CS, Trump DL, Nesline MK, Kulkarni S (2011) Pretreatment serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer prognostic characteristics: a case-control and a case-series study. **PloS one** 6:17251.

CAPÍTULO 3 - Considerações finais

Desafios e perspectivas

Alguns fatores foram limitantes para a condução da pesquisa durante o prazo de dois anos, como: a rotina dos atendimentos clínicos e cirúrgicos; a seleção de grupos homogêneos de cadelas híginas que pudessem ser submetidas à anestesia sem que houvesse complicações; a adesão de tutores de outras cidades que descontinuavam as análises e a dependência da aceitação do tutor para a realização de procedimentos anestésicos. Além disso, na proposta inicial, o nosso grupo de pesquisa pretendia incluir um grupo controle de escore corporal normal, o que não foi possível, demonstrando que a maioria dos cães de Jaboticabal e região encontram-se ao menos com sobrepeso.

Após destaque dos fatores acima, acredita-se que o presente trabalho colabore com a mudança de perspectiva em relação aos níveis de vitamina D em cães, considerando que a literatura geralmente aborda suplementação excessiva desse elemento, demonstrando que a hipervitaminose é mais frequente. Entretanto, o excesso de gordura corporal associado ao tumor de mama prejudica a manutenção de níveis adequados de vitamina D em cadelas. Os mecanismos ou processos relacionados à formação ou metabolização em cadelas obesas com tumores mamários poderiam ser investigados em estudos posteriores.

ANEXO 1


 UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
 "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"


Ficha de identificação (data: __/__/__)

Nome Animal: _____ RG-HV: _____ Ficha: _____ Peso: _____
 Escore: __ (1/5) / __ (1/9) Mastectomia () 1ª cadeia () 2ª cadeia () Castração
 Outro _____ Raça: _____ Pelagem: _____ Idade: _____
 Proprietário: _____ Email: _____
 Fone: () _____ - _____ Fone: () _____ - _____
 Cidade: _____

Distância articulação atlanto-occipital até cauda _____ até _____ solo
 _____ Circunferência torácica _____ Pélvica _____ Distância da tuberosidade
 do calcâneo ao ligamento patelar médio _____

Ficha geral:

Há fumantes na casa? Sim () Não () Alimentação? Restos de comida () Ração ()
 Qual? _____ Caseiro () Qual? _____ Alimentação;
 segue as instruções do rótulo? Sim () Não (). Fornece e retira o resto? Sim () Não ()
 Suplemento nutricional: Não () Sim () Qual? _____ Fornece: Ad libitum ()
 Quantidade controlada () 1x ao dia () 2x ao dia () 3x ou mais () Petiscos
 (biscoitos; bifeinho...) quais?: _____ Fornece carne de: frango () porco ()
 bovina () peixe () Faz: caminhada () ; corrida () ; natação ()
 outra? _____ não pratica () Freq: esporadicamente () diariamente ()
 semanal () 3x por semana () outro _____ Intolerância ao exercício? Sim ()
 Não () Outros animais casa? Quais e qtos? - _____
 Uso de medicamentos nos últimos 3 meses: sim () não () Qual: AINEs ()
 AIEs () Glicocorticoides () _____ Alteração renal; hepática; cardíaca?
 _____ Foi obeso/magro? Qdo? _____

Ficha reprodutiva:

Início da puberdade: _____ Castrada: sim () não () Qual idade _____
 Motivo: _____ Houve ganho de peso: sim () não () Sedentarismo pós
 castração: sim () não () Ciclo estral: 6 meses () menos de 6 meses () mais de 6
 meses () freq.: _____ não sabe informar () Duração do estro (dias): _____
 não sabe informar () Uso de anticoncepcional: sim () não () Quantas vezes: uma ()
 duas () três () mais de três: _____ Reprodução: 0 () uma () duas () três () mais de
 três: _____ Nº médio de filhotes: _____ Tipo de parto: cesariana () natural ()
 induzido () Alterações patológicas do feto: sim () não ()
 Qual _____ Pseudociese: sim () não () frequência: _____
 Mastite clínica: não diagnosticada () 1x () 2x () 3x () mais de três: _____

Ficha oncológica: Neoplasia mamária: Quanto tempo: _____ Crescimento:

estável () lento () progressivo () Tratamento prévio: sim () não () Qual: _____
 Houve perda de peso: sim () não () Sinais Clínicos (dor local): não () sim ()
 Qual: _____ Tumor mamário em ascendentes ou descendentes do animal: sim () não ()
 não sabe informar () Histórico de outros processos neoplásicos: sim () não ()
 Qual: _____ Quanto tempo: _____ Tratamento: _____ Recidiva () novos
 nódulos do mesmo tumor () novo processo tumoral ()