

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

**PERFIS HEMOSTÁTICO E HEMATOLÓGICO DE CADELAS  
ACOMETIDAS POR CARCINOMA MAMÁRIO**

**Jéssica Rodrigues de Oliveira**

Médica Veterinária

**2016**

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

**PERFIS HEMOSTÁTICO E HEMATOLÓGICO DE CADELAS  
ACOMETIDAS POR CARCINOMA MAMÁRIO**

**Jéssica Rodrigues de Oliveira**

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Ferreira da Rosa Sobreira**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi**

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, área de Clínica Médica.

**2016**

O48p Oliveira, Jéssica Rodrigues de  
Perfis hemostático e hematológico de cadelas acometidas por  
carcinoma mamário / Jéssica Rodrigues de Oliveira. -- Jaboticabal,  
2016  
xv, 64 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientadora: Márcia Ferreira da Rosa Sobreira  
Banca examinadora: Fábio Nelson Gava, Sabryna Gouveia  
Calazans  
Bibliografia

1. Cão. 2. Hemograma. 3. Hemostasia. 4. Histologia. 5. Neoplasia  
Mamária. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias.

CDU 619:616-006:636.7

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PERFIS HEMOSTÁTICO E HEMATOLÓGICO DE CADELAS ACOMETIDAS  
POR CARCINOMA MAMÁRIO

**AUTORA: JÉSSICA RODRIGUES DE OLIVEIRA**

**ORIENTADORA: MÁRCIA FERREIRA DA ROSA SOBREIRA**

**CO-ORIENTADORA: ANELISE CARLA CAMPRESI DOS SANTOS**

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

Profa. Dra. MÁRCIA FERREIRA DA ROSA SOBREIRA

Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário Moura Lacerda / Unidade II Campus / Ribeirão Preto, SP

Pós-Doutorando FÁBIO NELSON GAVA

Faculdade de Medicina / FMRP - USP / Ribeirão Preto/SP

Profa. Dra. SABRYNA GOUVEIA CALAZANS

UNIFRAN - Franca, SP

Jaboticabal, 17 de junho de 2016.

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**Jéssica Rodrigues de Oliveira** – nascida em 22 de dezembro de 1986, em Uberlândia-MG. Filha de Edson Eduardo Rodrigues de Oliveira e Giani Degane, concluiu o Ensino Fundamental na Escola Estadual Joaquim Saraiva e o Ensino Médio nas escolas Messias Pedreiro, Objetivo e Anglo em Uberlândia, MG. Médica Veterinária formada pela Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, em Agosto de 2010. Concluiu o Programa de Residência Uniprofissional em Saúde na área de Clínica Médica de Pequenos Animais, junto ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, em fevereiro de 2014, sob orientação do Prof. Dr. Fernando Antônio Ferreira. Em março de 2014, iniciou o curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV/UNESP (Área de Clínica Médica Animal), sob orientação da Profa. Dra. Márcia Ferreira da Rosa Sobreira.

*“Três verbos existem que, bem conjugados, serão lâmpadas luminosas em nosso caminho: Aprender, Servir e Cooperar.*

*Três atitudes exigem muita atenção: Analisar, Reprovar e Reclamar.*

*Três normas de conduta que jamais nos arreponderemos: Auxiliar com a intenção do bem, Silenciar e Pronunciar frases de bondade e estímulo.*

*Três diretrizes manter-nos-ão, invariavelmente, em rumo certo: Ajudar sem distinção, Esquecer todo mal e Trabalhar sempre.*

*Três posições que devemos evitar em todas as circunstâncias: Maldizer, Condenar e Destruir.*

*Possuímos três valores que, depois de perdidos, jamais serão recuperados:*

*A hora que passa, A oportunidade e A palavra falada.*

*Três programas sublimes se desdobram à nossa frente, revelando-nos a glória da Vida Superior: Amor, Humildade e Bom ânimo.*

*Que o Senhor nos ajude, pois, em nossas necessidades, a seguir sempre três abençoadas regras de salvação:*

*Corrigir em nós o que nos desagrada em outras pessoas, Amparar-nos mutuamente, Amar-nos uns aos outros.”*

*Chico Xavier*

*Aos meus pais, Edson e Giani, meu irmão Emerson e meu namorado Felipe, pelo apoio constante e incentivo durante essa etapa de minha vida. Dedico também aos animais, objeto de estudo, admiração e respeito.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sem o qual nada seria possível. Por me amparar e guiar meus passos e dar-me forças, paciência e discernimento para realizar mais esta etapa de minha vida;

A minha orientadora, Profa. Dra. Márcia Ferreira da Rosa Sobreira, pela oportunidade, pelo apoio e por acreditar em mim, possibilitando concluir mais esta etapa da minha vida acadêmica;

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi, pela colaboração e apoio sem os quais não seria possível a realização deste trabalho;

Aos Professores Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente e Dr. Gilson Hélio Toniollo, por autorizarem a inclusão de animais atendidos na rotina do setor de Obstetrícia da FCAV/UNESP, aos funcionários Izildinha e Arnaldo e as residentes Priscila, Elaine e Beatriz pela colaboração na realização do experimento;

Aos professores Dr. Andriago Barboza de Nardi e Dra. Mirela Tinucci Costa, por autorizarem acompanhar o Setor de Oncologia veterinária e autorizarem inclusão de cadelas com carcinoma mamário a este trabalho e aos pós-graduandos do setor pelos ensinamentos;

Ao Prof. Dr. Antônio Sérgio Ferraud e ao pós-graduando Jamir Afonso do Prado Júnior pelas explicações e colaboração na análise estatística dos resultados;

As professoras Dra. Sabryna Gouveia Calazans, Dra. Leticia Abrahão Anai e Dra. Geórgia Modé Magalhães pelas correções e contribuições a este trabalho;

Aos Professores Dr. Áureo Evangelista Santana, Dr. Leandro Crivelenti e Dra. Sofia Borin Crivelenti e aos técnicos do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, pela ajuda com equipamentos, execução e colaboração na realização deste projeto.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária e ao Hospital Veterinário Governador Laudo Natel pela oportunidade e apoio na realização deste ensaio;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	x
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS .....	xv
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	1
1.1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.2 – REVISÃO DE LITERATURA .....	3
1.3 REFERÊNCIAS.....	18
CAPÍTULO 2 - Aspectos clínicos, hematológicos e histopatológicos de cadelas .....	27
acometidas de carcinoma mamário.....	27
2.1 INTRODUÇÃO .....	29
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.3 RESULTADOS.....	33
2.4 DISCUSSÃO .....	38
2.5 CONCLUSÕES .....	41
2.6 REFERÊNCIAS.....	41
CAPÍTULO 3 - Investigação da Integridade do Sistema Hemostático em cadelas .....	47
acometidas de carcinoma mamário.....	47
3.1 INTRODUÇÃO .....	49
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.3 RESULTADOS.....	53
3.4 DISCUSSÃO .....	58
3.5 CONCLUSÕES .....	61
3.6 REFERÊNCIAS.....	61



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 009735/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Investigação precoce da integridade do sistema hemostático e das alterações hematológicas em cadelas com carcinoma mamário grau I"**, sob a responsabilidade da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Ferreira da Rosa Sobreira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 06 de junho de 2014.

Jaboticabal, 06 de junho de 2014.

  
**Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes**  
Coordenadora – CEUA

## PERFIS HEMOSTÁTICO E HEMATOLÓGICO DE CADELAS ACOMETIDAS POR CARCINOMA MAMÁRIO

### RESUMO

Tumores mamários são frequentes em cadelas e apresentam comportamento biológico semelhante aos que ocorrem nas mulheres, tornando a cadela um excelente modelo de estudo comparativo. Os distúrbios hemostáticos são achados comuns em pacientes humanos com câncer, e os mecanismos que conduzem a ativação da coagulação no câncer envolvem o fator tissular, o fator procoagulante do câncer e as citocinas inflamatórias. E já está bem estabelecido que os componentes da hemostasia, como as plaquetas, proteínas da coagulação e da fibrinólise apresentam um papel importante no crescimento e na progressão do tumor. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização clínica, hematológica e histopatológica de cadelas acometidas por carcinoma mamário, bem como avaliar a integridade do sistema hemostático, através da mensuração do fibrinogênio plasmático, da contagem total de plaquetas, dos tempos de tromboplastina parcial ativada e de protrombina. Para tanto, foram utilizadas 62 cadelas. Sendo 32 acometidas por carcinoma mamário e 30 cadelas clinicamente e laboratorialmente saudáveis como grupo controle. Foram formados quatro subgrupos de acordo com o tipo e o grau histopatológico, estadiamento clínico e tamanho do tumor. Todas as cadelas acometidas por lesões mamárias foram submetidas ao exame físico das glândulas mamárias, exames de hemograma, testes de coagulação e ao exame de histopatológico. E os proprietários submetidos à anamnese por meio de questionário. A apresentação clínica da doença foi caracterizada por pacientes idosas de raças puras, não castradas, com múltiplas nodulações e a maioria em estadiamento clínico I. O carcinoma em tumor misto grau I e II foram os mais frequentes. Verificou-se que neste estudo não há diferença significativa da contagem total de eritrócitos e leucócitos entre o grupo doente e controle. Contudo, foi observada uma forte associação do grupo doente com os parâmetros hemostáticos avaliados (plaquetas, TTPA, TP e fibrinogênio), bem como diferença significativa entre os grupos estudados ( $p < 0,05$ ). Os resultados obtidos neste estudo sugerem que cadelas portadoras de carcinoma mamário em sua maioria apresentam perda da integridade hemostática e as alterações da hemostasia foram influenciadas pelo grau histopatológico e pelo estadiamento clínico da doença.

**Palavras chaves:** cão, hemograma, hemostasia, histologia, neoplasia mamária.

## HEMOSTATIC AND HEMATOLOGICAL PROFILES IN FEMALE DOGS WITH MAMMARY CARCINOMA

### ABSTRACT

Mammary tumors are frequently found in female dogs. These tumors have shown a biological behavior similar to breast cancer in woman. This makes female dogs an excellent comparative study model. Coagulation disorders are common in human patients with cancer. Hemostasis is activated by inflammatory cytokines, tissue and procoagulant factors. It is well established that coagulation components as platelets and coagulation and fibrinolytic proteins have an important function in the growth and progression of tumors. Thus, the aim of this paper was to characterize clinical, hematological and histopathology female dogs with mammary carcinoma and evaluate the integrity of the hemostatic system by measuring the plasma fibrinogen, the total platelet count, and the activated partial thromboplastin and prothrombin time in female dogs. Sixty-two female dogs were used in this study. Thirty-two had mammary carcinoma and thirty were laboratorial and clinically healthy to be used as the control group. Four groups were formed according to histological type and grade, clinical stage and tumor size. The 32 female dogs with carcinoma were submitted to physical mammary gland, blood count, histopathological examinations and coagulation tests and their owners were submitted to a questionnaire. The clinical characteristics of the diseased dogs were older age, pure breed, not spayed with multiple stage one nodules. Grade I and II mixed carcinomas were the most frequent. In this study, significant differences in the total erythrocyte and leucocyte count were not observed between the patient and control groups. However, a strong relationship between the patient group and the hemostatic parameters (Platelets, APTT, PT and fibrinogen), and significant statistical difference between the two groups were found ( $p < 0,05$ ). The results obtained in this study suggest that female dogs with mammary carcinoma frequently present loss of hemostatic integrity. Hemostasis changes were influenced by the histological grade and the clinical stage of the disease.

**Keywords:** dog, blood count, hemostasis, histology, breast cancer.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADP: Difosfato de Adenosina
- CID: Coagulação intravascular disseminada
- CP: Câncer procoagulante
- ER: Receptores de estrógeno
- FT: Fator tissular
- FvW: Fator de von Willebrand
- Fibri: Fibrinogênio
- Fibrino: Fibrinogênio
- GC: Grupo controle
- GD: Grupo Doente
- IL-1: Interleucina 1
- IL-6: Interleucina 6
- K2EDTA: ácido etilenodiaminotetracetato dipotássico
- M1: Glândula mamária torácica cranial
- M2: Glândula mamária torácica caudal
- M3: Glândula mamária abdominal cranial
- M4: Glândula mamária abdominal caudal
- M5: Glândula mamária inguinal
- OMS: Organização Mundial de Saúde
- PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1
- PAI-2: inibidor do ativador do plasminogênio tipo 2
- PDFs: Produtos de degradação da fibrina
- Plaq: Plaquetas

## LISTA DE ABREVIATURAS

PR: Receptores de progesterona

TNM: Tumor, Linfonodo e Metástase

TVP: Trombose venosa profunda

TP: Tempo de protrombina

TTPA: Tempo de tromboplastina parcial ativada

TT: Tempo de Trombina

TCA: Tempo de coagulação ativada

uPA: ativador do plasminogênio tipo uroquinase

VGEF: Fator de crescimento endotélio vascular

VG: Volume globular

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO 1

Tabela 1: Classificação histopatológica das Neoplasias mamária caninas. Proposta por Cassali et al., 2014.....Pág. 7

Tabela 2: Sistema TNM (Tumor, linfonodo e Metástase) para o estadiamento de neoplasias mamária em cadelas.....Pág. 8

### CAPITULO 2

Tabela 1: Incidência dos tipos e grau histológicos das neoplasias mamárias em cadelas diagnosticadas no Hospital Veterinário da FCAV-UNESP..... Pág.34

Tabela 2: Relação do tamanho do tumor com as margens (livres e comprometidas), após mastectomia, de cadelas com lesões mamárias atendidas no Hospital veterinário da FCAV-UNESP.....Pág. 36

Tabela 3: Médias e respectivos erros-padrão da média da contagem global de eritrócitos, teor de hemoglobina, volume globular, contagem global de leucócitos e valores absolutos de basófilos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes e segmentados, linfócitos e monócitos de cadelas acometidas por carcinoma mamário (GD) comparado aos do grupo controle (GC) atendidas no hospital veterinário da FCAV-UNESP..... Pág. 37

### CAPITULO 3

Tabela 1: Médias (e respectivos desvio padrão) dos parâmetros hemostáticos (contagem de plaquetas, do tempo de protrombina, de tempo de tromboplastina parcial ativada e da concentração de fibrinogênio) do grupo controle e do grupo doente. Jaboticabal, 2015..... Pág. 53

Tabela 2: Médias (de plaquetas, do tempo de protrombina, de tempo de tromboplastina parcial ativada e da concentração de fibrinogênio) entre os diferente grupos avaliados (tipo e grau histopatológico, estadiamento clínico da doença e tamanho do tumor. Jaboticabal, 2015.....Pág. 55

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPITULO 1**

Figura 1: Mecanismo de ativação da coagulação associado ao câncer.....Pág. 11

### **CAPITULO 2**

Figura 1: Localização da neoplasias mamárias quanto a glândula envolvida, em cadelas atendidas no Hospital veterinário da FCAV-UNESP..... Pág. 34

Figura 2: Relação entre o grau histopatológico e o estadiamento clínico do tumor das cadelas atendidas no Hospital veterinário da FCAV-UNESP.....Pág. 35

Figura 3: Avaliação das margens em cadelas submetidas à mastectomia, atendidas no Hospital veterinário da FCAV-UNESP..... Pág. 36

### **CAPITULO 3**

Figura1: Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla, contendo parâmetros hemostáticos obtidos entre os grupos estudados (Controle e Doente). Os parâmetros presentes no mapa são plaquetas (Plaq), tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e fibrinogênio (Fibri). Retângulos representam associações fortes ( $p < 0,05$ )..... Pág. 56

Figura 2: Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla, contendo parâmetros hemostáticos (Plaq, TP, TTPA e Fibri) obtidos entre os subgrupos estudados (Tipo histopatológico, estadiamento clínico I\_II, III, IV, Grau histopatológico G\_1, G\_II, G\_III e tamanho do tumor  $T \leq 3$  e  $T \geq 3$ ). Retângulos representam associações forte ( $p < 0,05$ ) e círculos representam associações fracas ( $p > 0,05$ ) ..... Pág. 57

## **CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais**

### **1.1 – INTRODUÇÃO**

Os distúrbios hemostáticos são achados comuns em pacientes humanos com câncer (ANDREASEN et al., 2012), bem como em pacientes veterinários (KRISTENSEN et al., 2008; CHILDRESS, 2012), e os mecanismos que conduzem a ativação do sistema hemostático em pacientes com câncer incluem o fator tissular, o fator procoagulante do câncer e as citocinas inflamatórias (TABAK; TORRES; NAHOUN, 2011). Entretanto, já está bem estabelecido que os componentes da hemostasia, como as plaquetas, proteínas da coagulação e da fibrinólise apresentam um papel importante no crescimento e na progressão do tumor (BONGENRIEDER; HERLYN, 2003) e os distúrbios vasculares mais frequentes incluem a trombose venosa profunda (TVP), embolia pulmonar e a coagulação intravascular disseminada (CID) (RICKLES; LEVINE, 1992). E há uma forte relação entre o tromboembolismo e metástase em ambas as espécies, assim como a gravidade da coagulopatia pode estar associada com o tipo histológico do tumor (GOLDSMITH, 2001; ANDREASEN et al., 2012).

Em cadelas acometidas com neoplasia mamária, as anormalidades laboratoriais relacionadas à integridade do sistema hemostático já foram identificadas, porém ainda são pouco exploradas, em relação ao tamanho do tumor, tipo e grau histopatológico e a importância para o prognóstico da doença. Apesar do conhecimento da importância do diagnóstico dos distúrbios hemostáticos, os testes de coagulação raramente são solicitados pelo médico veterinário na rotina clínica (KRISTENSEN et al., 2008). E os marcadores hemostáticos laboratoriais podem refletir diretamente a patogenia das neoplasias e seria uma importante ferramenta para controlar a progressão do tumor (PINHO; COUTINHO, 2005).

As neoplasias de glândula mamária são os mais prevalentes tanto nas cadelas (PHILIBERT et al., 2003; KLOPFLEISCH; GRUBER, 2009; CASSALI et al., 2011; HENRY, 2013) quanto nas mulheres (INCA, 2013), e o tipo histopatológico

mais comum são os carcinomas (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; ALL-DISSI et al., 2010). É importante ressaltar que os tumores mamários em cães servem como modelos apropriados e válidos para o estudo da biologia do câncer, assim como para testes de agentes terapêuticos, já que animais de estimação têm tumores com apresentação histopatológica e comportamento biológico similares àqueles que acometem os seres humanos (ANDRADE et al., 2010; CASSALI, et al., 2011; KLOPFLEISCH et al., 2011).

Nos pacientes oncológicos humanos, atualmente já é reconhecido o benefício da terapia anticoagulante, pois estas podem minimizar os efeitos oncológicos, não só por inibir a trombina e a fibrina, mas também por dificultar a penetração nos tecidos e a angiogênese (MARINHO; TAKAGAKI, 2008). Outras pesquisas revelam o possível potencial da aspirina na prevenção do câncer, na redução do índice de morte por câncer e na redução do risco em desenvolver metástase (ROTHWELL et al., 2012), bem como, o potencial da heparina que pode prolongar o tempo de sobrevivência em pessoas com diferentes tipos de neoplasias (DOLOVICH et al., 2000). Contudo, para que os pacientes possam ser favorecidos pelas terapias anticoagulantes, é extremamente importante a realização dos testes de coagulação.

O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização clínica hematológica e histopatológica de cadelas com carcinoma mamário bem como, investigar possíveis alterações da coagulação sanguínea, associando - as com o tamanho do tumor o estadiamento clínico da doença e com o tipo e grau histopatológico, com intuito de promover melhor entendimento tanto da fisiopatogenia (crescimento, disseminação) das neoplasias quanto auxiliar futuramente em medidas terapêuticas paliativas visando controlar o risco de trombose e CID, oferecendo aos pacientes uma melhor qualidade de vida, bem como acompanhar e controlar a progressão do tumor e garantir um melhor prognóstico destes pacientes.

## 1.2 – REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 Neoplasia mamária em cadelas

Os tumores de glândula mamária estão entre as neoplasias mais comuns em cadelas, constituindo um problema importante na medicina veterinária (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; DE NARDI et al., 2009; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013; CASSALI et al., 2014). Os tumores mamários representam aproximadamente 50% das neoplasias diagnosticadas em cadelas (FONSECA; DALECK, 2000). E o risco desta neoplasia ser maligna é em torno de 41% a 53% e, dentre esses, os mais comuns são os carcinomas (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; ALL-DISSI et al., 2010).

No entanto, a taxa de incidência varia de acordo com as características da população e a origem do estudo. Nos Estados Unidos a incidência de tumores mamários é inferior em relação a outros países, devido a prática comum de ovariectomia em cadelas jovens (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013). No Brasil estudos demonstraram que os tumores malignos compreendem de 60% a 82% dos diagnósticos histopatológicos das neoplasias mamárias (VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012). E em um estudo brasileiro mais recente, o exame histopatológico evidenciou cerca de 90% de neoplasias malignas e somente 9% de neoplasias benignas (VARALLO, 2014).

Existem vários fatores de risco que podem coexistir e influenciar no desenvolvimento de neoplasias mamárias. A influência hormonal é o principal fator associado ao câncer de mama em cadelas (NOVOSAD, 2003; LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007). O tecido mamário normal possui receptores de estrogênio (ER) e de progesterona (PR), semelhante ao que ocorre nos tumores benignos. Acredita-se que hormônios como o estrogênio, a progesterona e o hormônio do crescimento influenciem a carcinogênese (DE NARDI et al., 2009). De modo geral, os genes que codificam os receptores desses hormônios podem estar diminuídos nos tumores malignos e, em particular, nas neoplasias de maior grau de malignidade ou nas

fases mais avançadas da doença (FONSECA; DALECK, 2000). Assim, animais com tumores de mama que apresentam uma diminuição da expressão de RE e RP correlacionam-se a um pior prognóstico (De NARDI et al., 2009). O risco de tumores mamários malignos varia entre cadelas castradas e não castradas e depende ainda da fase em que a intervenção cirúrgica é realizada. A castração efetuada antes do primeiro cio reduz o risco de desenvolvimento da neoplasia para 0,5%; após o primeiro cio é de 8% e sobe para 26% se a cadela é castrada após o segundo cio (SCHNEIDER; DORN; TAYLOR, 1969). Conforme Sorenmo, Worley e Goldschmidt (2013), muitos tumores mamários em cães podem ser evitados com a castração antes do primeiro estro. Sabe-se que o uso de progestágenos injetáveis para evitar o estro em cães também aumenta a incidência de tumores benignos e malignos (MISDORP, 2002; SORENMO, 2003; LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; De NARDI et al., 2009).

Segundo Sorenmo et al. (2011) a idade é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento de tumores de mama. Os tumores mamários acometem com maior frequência fêmeas idosas e de meia idade, sendo extremamente raros em cães menores que 5 anos (DALECK et al., 1998; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013; CASSALI et al., 2014). E a idade média de aparecimento está entre os 7 e os 12 anos de idade (DE NARDI et al., 2009). Chang et al., (2005) observaram que a incidência de formas malignas aumenta com a idade, a partir de 8 anos o risco começa a ser significativo e após essa idade aumenta de forma linear. Assim, cães com tumores malignos são significativamente mais velhos do que cães com tumores benignos (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013).

Além da influência hormonal e da idade sobre o risco de desenvolver tumores de glândula mamária, existem também outros fatores, como raça, predisposição genética, dieta e obesidade. As raças nas quais se observa um alto risco de desenvolvimento de tumores mamários incluem os Poodles, os Pastores Alemães, os Cockers Spaniel, os Dachshunds, os Labradores Retrievers, os Setters Irlândes, e os Pointers, além dos animais sem raça definida (ZUCCARI, 1999; NOVOSAD, 2003; TAVASOLY et al., 2013). Segundo Sorenmo (2003,) o fato de certas raças terem um risco maior de desenvolverem tumores mamários sugere um componente genético. Porém conforme Daleck et al. (1998) e Oliveira et al. (2003), no Brasil

parece não existir uma predisposição racial para tumores de glândula mamária em cadelas.

Dietas inadequadas induzem o depósito de gordura no tecido subcutâneo; a dieta rica em proteína oriunda de carne vermelha e a obesidade no primeiro ano de vida e um ano antes do diagnóstico do tumor aumentam as chances para o aparecimento da enfermidade (PERES ALENZA et al., 1998). Em um estudo realizado por LIM et al. (2015) verificou-se que o estado nutricional dos cães influencia na idade de aparecimento de câncer de mama, cadelas com excesso de peso ou obesas desenvolveram tumores mamários mais cedo, quando comparadas com cadelas magras ou com peso corporal ideal e que a invasão linfática de células de carcinoma ocorreu mais frequentemente em cadelas com sobrepeso e obesas.

O exame clínico das glândulas mamárias de cadelas com tumores mamários é de fundamental importância para se determinar a fase de evolução da doença, para melhor compreender sobre o comportamento biológico da neoplasia e proporcionar informações de significado diagnóstico, prognóstico e terapêutico (ALLRED et al., 1998). Os tumores mamários apresentam-se como nódulos circunscritos, com tamanhos variados. Em relação à mobilidade, podem ser móveis ou aderidos, com envolvimento cutâneo ou muscular. Os tumores também podem estar associados com ulceração cutânea e reação inflamatória local. Múltiplos tumores são frequentemente observados em uma única glândula mamária ou podem envolver múltiplas glândulas simultaneamente e podem ter diferentes tipos histopatológicos. Normalmente, as glândulas mamárias abdominais e inguinais são aquelas em que mais frequentemente se detectam tumores em cadelas (De NARDI et al., 2009; CASSALI et al., 2014). Tumores maiores do que cinco centímetros, de crescimento rápido, com grandes áreas de ulceração e com metástase para linfonodo estão associados a pior prognóstico (FERREIRA et al., 2009; ESTRELA-LIMA et al., 2010). As metástases das neoplasias mamárias geralmente são evidenciadas nos linfonodos regionais (inguinais superficiais e axilares), pulmão, e com menor frequência, rim, fígado, baço, pele, glândulas adrenais, encéfalo, olhos e esqueleto (PEREZ ALENZA et al., 2000, DE NARDI et al., 2009). Portanto, é extremamente importante à realização dos exames de imagens, tais como, as radiografias torácicas em três projeções e a ultrassonografia abdominal, pois ajudam

no rastreamento e na detecção de possíveis metástases (CASSALI et al., 2014), bem como, a realização dos exames laboratoriais de hemograma, bioquímica, e das provas de coagulação, principalmente nos casos de inflamação intensa, pois há possibilidade de coagulação intravascular disseminada nesses pacientes (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013). É importante ressaltar que a maioria dos pacientes oncológicos desenvolvem CID crônica assintomática (THOMASON et al., 2005; MANGIERI, 2009; CHILDRESS, 2012), a qual pode ocorrer evidências laboratoriais de CID, mas sem sangramentos ou trombozes significativas, sendo uma situação em geral transitória, frequentemente encontrada em pacientes com tumores sólidos (AZEVEDO; TABAK; MARADEI, 2011). Em um estudo verificou-se que 67% (40/60) das fêmeas com neoplasias mamárias avaliadas possuíam algum tipo de anormalidade nos testes de coagulação e tais alterações foram correlacionadas com a progressão tumoral e foram evidentes nos estágios clínicos mais avançados da doença (STOCKHAUS et al., 1999).

O diagnóstico fundamenta-se no histórico do paciente (ciclo estral, uso de progestágeno, pseudocieses, número de crias, castração), na caracterização do paciente (raça, idade, status reprodutivo), no exame físico (condição geral do paciente, palpação das glândulas mamárias para a identificação e mapeamento, palpação e avaliação dos linfonodos) e nos exames citopatológico e histopatológico (SORENMO, 2003; CASSALI et al., 2014; VARALLO, 2014). O exame citopatológico pode ajudar na identificação de tumores não mamários de pele e subcutâneo (mastocitomas e lipomas). Adicionalmente estudos tem demonstrado correlação entre o exame citopatológico e o histopatológico entre 67,5% e 93% e, a citopatologia possui uma sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de tumores mamários malignos de 88% e 96% respectivamente (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013). A citopatologia também é o melhor método para a inspeção dos linfonodos com uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 96% na identificação de metástase (CASSALI et al., 2014). Entretanto a histopatologia é o método de eleição no diagnóstico de neoplasias mamárias em cadelas (LIMA; MARTINS, 1992; MOTA; OLIVEIRA, 1999).

Existe uma grande controvérsia quanto a classificação dos tumores mamários em cadelas devido sua complexidade histogenética (DE NARDI et al., 2009), porém

o mais amplamente adotado é o de Misdorp et al. (1999), o qual foi caracterizado na Tabela 1 (CASSALI et al., 2014). Além disso, os tumores epiteliais também são classificados de acordo com critérios histopatológicos específicos, a maioria baseada no sistema de classificação de Elston e Ellis (1998), que incorpora informações sobre a (1) formação de túbulos, (2) pleomorfismo nuclear, e (3) número de mitoses por campo. Com base na pontuação total obtida, o grau do tumor é determinado: Grau I (Baixo Grau) tumor bem diferenciado, Grau II (Intermediário) moderadamente diferenciado e Grau III (Alto Grau) pouco diferenciado (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013).

Tabela 1: Classificação Histopatológica das Neoplasias mamárias caninas. Modificada de Misdorp et al. (1999), proposta por Cassali et al., 2014.

<b>Lesões epiteliais não neoplásicas</b>	<b>Tumores Malignos</b>
<u>Hiperplasia epitelial</u>	<u>Carcinomas de tipo especial</u>
Hiperplasia ductal	Carcinoma micropapilar
Hiperplasia lobular	Carcinoma Lobular invasivo
Adenosis	Carcinoma Lobular pleomórfico
<u>Lesões de células colunares</u>	Carcinoma secretório
Alteração celular colunar	Carcinoma mucinoso
Hiperplasia celular colunar	Carcinoma rico em lipídeo
Lesão celular colunar atípica	Carcinoma de célula escamosa
<b>Tumores Benignos</b>	Carcinoma de célula fusiforme
Adenoma	Carcinoma Anaplásico
Adenomioepitelioma	Neoplasia mamária com diferenciação sebácea
Fibroadenoma	Neoplasias Mioepiteliais
Tumor misto benigno	Adenomioepitelioma maligno
Papiloma ductal	<b>Sarcomas</b>
<b>Tumores Malignos</b>	Fibrossarcoma
<u>Carcinomas</u>	Osteossarcoma
Carcinomas <i>in situ</i>	Carcinosarcoma
Carcinoma ductal <i>in situ</i>	Sarcoma em tumor misto
Carcinoma Lobular <i>in situ</i>	<b>Outros Sarcomas</b>
Carcinoma em tumor misto	Condrossarcoma
Carcinoma papilar	Lipossarcoma
Carcinoma tubular	Hemangiossarcoma
Carcinoma Sólido	

Além da determinação do diagnóstico, é extremamente importante a avaliação da extensão da doença. O estadiamento clínico é determinado de acordo com o sistema TNM (Tumor/Linfonodo/Metástase) estabelecido pela Organização

Mundial de Saúde (OMS) para tumores mamários caninos, o qual foi caracterizado na tabela 2 (SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013). O estadiamento clínico permite a obtenção de informações sobre o comportamento biológico do tumor, tratamento apropriado, possíveis complicações, informações do prognóstico, avaliação do tratamento e a investigação oncológica, o que viabiliza e possibilita as pesquisas clínicas, publicações de resultados e de troca de informações (BETZ et al., 2012).

Tabela 2: Sistema TNM para o estadiamento de neoplasias mamárias em cadelas.

<b>Estágio</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
Estágio I	T1	N0	M0
Estágio II	T2	N0	M0
Estágio III	T3	N0	M0
Estágio IV	qqT	N1	M0
Estágio V	qqT	qqN	M1

**T: tumor primário** (T1: < 3 cm de diâmetro, T2: 3-5 cm de diâmetro, T3: > 5 cm de diâmetro); **N:** condição do linfonodo regional (N0: sem metástase, N1: com metástase); **M:** metástase à distância (M0: ausente, M1: presente); qqT (qualquer tamanho); qqN (qualquer condição do linfonodo regional). Fonte: CASSALI et al. (2014).

### 1.2.2 Hemostasia e câncer

O sangue constitui o principal sistema de transporte do corpo, circulando no interior de artérias, veias e capilares. Quando um vaso sanguíneo é lesado, inicia-se o processo de hemostasia (CARLOS; FREITAS, 2007), um mecanismo complexo e vital para a restauração da integridade endotelial após a lesão vascular (BROOKS; STOKOL; CATALFAMO, 2011), que tem como função principal manter o sangue em estado fluído dentro dos vasos sanguíneos, sem que haja hemorragia ou trombose

(REZENDE, 2010), por meio do equilíbrio de forças pró e anticoagulantes. Contudo, em pacientes com câncer, este delicado balanço pode ser interrompido (EICHINGER et al., 2003).

De modo geral, o processo hemostático efetivo envolve a parede vascular, as estruturas e os agentes vasoativos envolvidos na vasoconstrição e vasodilatação, os fatores que levam à adesão e agregação das plaquetas, formando o tampão hemostático, e à ativação dos fatores da cascata de coagulação, que levam a formação de coágulos de fibrina e conseqüentemente a regeneração total do tecido danificado e a degradação dos coágulos pelo sistema fibrinolítico. Porém, situações em que qualquer componente desse mecanismo seja alterado, a hemostasia é comprometida e o resultado pode ser tanto hemorragia como trombose (DAHLBÄCK, 2000; BERGER et al., 2014). Mesmo sabendo da interligação entre esses componentes o mecanismo hemostático pode ser dividido didaticamente em três fases: primária, secundária (coagulação) e terciária (fibrinólise) (COELHO; MOREIRA, 2001; CARLOS; FREITAS, 2007; MOROZ, 2008).

A hemostasia primária tem início após a injúria vascular, promovendo vasoconstrição, adesão e agregação plaquetária, com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. No entanto, para que ocorra adesão e agregação é necessário que esteja presente o fator de Von Willebrand (FvW). E a agregação entre as plaquetas é mantida pelo fibrinogênio, uma proteína solúvel do plasma (BAKER, 2007; LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

A hemostasia secundária é desencadeada pela exposição do fator tissular após a injúria vascular (BROOKS; STOKOL; CATALFAMO, 2011) e compreende uma série de reações enzimáticas em cascata, cujo objetivo principal é a formação de trombina, uma enzima que converte o fibrinogênio em fibrina, e forma uma rede de fibras elásticas, constituindo o tampão hemostático (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007). A ativação da coagulação pode ocorrer por dois mecanismos relacionados intimamente, a via extrínseca e a via intrínseca. Ambas levam à formação de fibrina por uma via final comum. Esta via comum ativa o fator X, que converte protrombina em trombina, favorecendo a formação de fibrina, estabilizada pelo fator XIII (BAKER, 2007; LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007; CARLOS; FREITAS, 2007).

A hemostasia terciária ou fibrinólise é estágio final do processo, ativada na mesma ocasião da coagulação, para impedir a formação de fibrina, onde a plasmina é responsável pela degradação da fibrina desfazendo o coágulo e conseqüentemente formando os produtos de degradação da fibrina (PDFs) (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

As células malignas são capazes de alterar o mecanismo hemostático e induzir a ativação da coagulação sanguínea através de moléculas com propriedades procoagulantes, como o fator tissular (FT), fator procoagulante do câncer (CP) e diversas citocinas inflamatórias (Figura 1) (TABAK; TORRES; NAHOUN, 2011). A exacerbação da expressão do fator tissular em células tumorais e endoteliais é resultante da ativação do oncogene *K-ras* e perda do gene supressor de tumor *p53*, bem como por citocinas inflamatórias como interleucina-1 $\beta$  e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (GRIGNANI; MAIOLO, 2000). Estas citocinas também podem influenciar a função dos leucócitos, plaquetas e células endoteliais, resultando em diminuição da expressão de trombomodulina sobre as células endoteliais, comprometendo o mecanismo de ativação da proteína C e aumentando a expressão de moléculas de adesão (RICKLES; FALANGA, 2001). No entanto, em condições fisiológicas normais, o FT é expresso apenas em tecidos perivasculares e não pelo endotélio. Porém, após a lesão vascular, observa-se a ativação da cascata da coagulação pelo FT, tanto pela via intrínseca como pela via extrínseca (TABAK; TORRES; NAHOUN, 2011).

Os tumores também expressam o fator de crescimento do endotélio vascular (VGEF) que induz a expressão de fator tecidual pelos macrófagos em resposta a antígenos neoplásicos aumentando a permeabilidade vascular e promovendo a angiogênese tumoral (MANGIERI, 2009). Por tanto, o fator tissular constitui o principal ativador do sistema hemostático, favorecendo o crescimento e a progressão do câncer (BULLER et al., 2007).

Segundo Bongenrieder e Herlyn (2003) os mecanismos que conduzem ao desenvolvimento de distúrbios hemostáticos em pacientes com câncer envolvem as plaquetas, proteínas da coagulação e da fibrinólise, que apresentam um papel importante no crescimento e na progressão do tumor. As plaquetas podem proteger as células neoplásicas do sistema imune dentro do vaso sanguíneo, detendo-as em

seu interior e assim permitir que elas sobrevivam até alcançarem o sítio secundário, ou seja, origem metástase (GAY; FELDING-HABERMANN, 2011). Algumas substâncias também foram obtidas de vários tumores humanos as quais podem agregar plaquetas diretamente. É postulado que proagregantes plaquetários podem induzir a formação de coágulos no endotélio vascular e estimular a ativação hemostática em pacientes com câncer. Outro mecanismo proposto para o aumento da ativação plaquetária nas malignidades inclui a produção de trombina tumor-induzida, produção de ADP (Difosfato de Adenosina) pelas células tumorais e elevação nos níveis de fator de von Willebrand (FvW) (LASSER et al., 2005) .

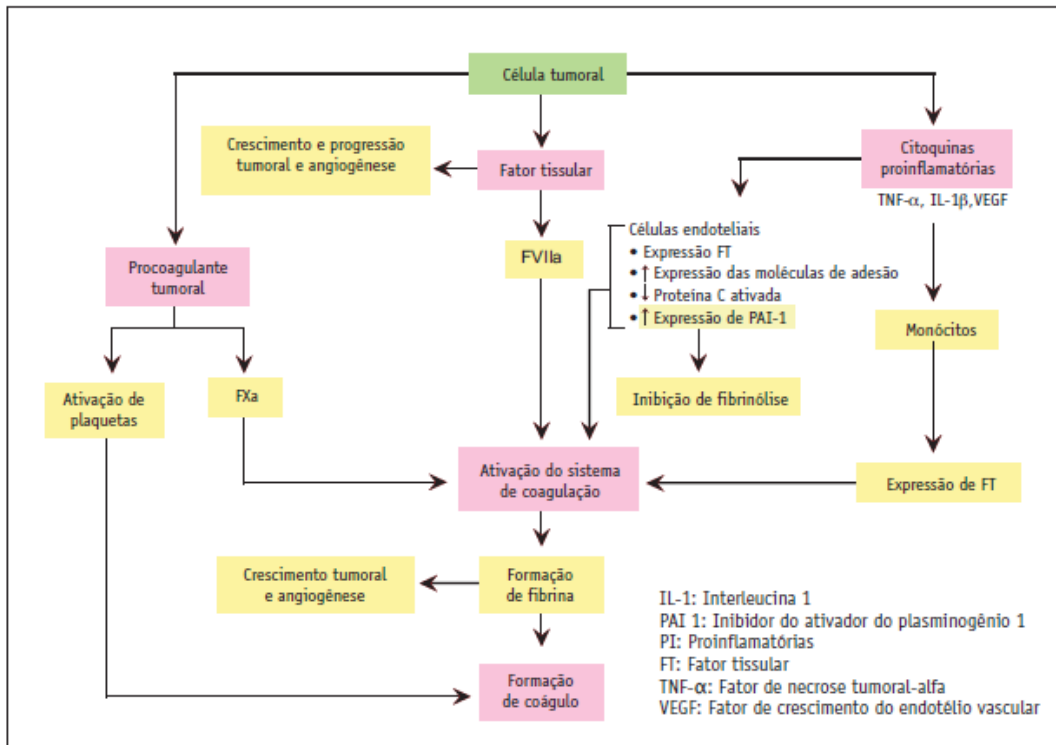


Figura 1: Mecanismo de ativação da coagulação associado ao câncer. Fonte: TABAKI; TORRES; NAHOUM, (2011).

Em pacientes com câncer, a trombina e a fibrina estão aumentadas em consequência do tumor e estimulam seu crescimento (PRANDONI; FALANGA; PICCIOLI, 2005; MARINHO; TAKAGAKI, 2008). A trombina é responsável pela formação de fibrina, que é um potente mitógeno para células cancerosas

(MARUYAMA et al., 2005; WOJTUKIEWICZ et al., 1993, 2007) além de constituir um fator essencial para angiogênese, estimulando proliferação, migração e metástase (BOGENRIEDER; HERLYN, 2003). A trombina exerce um efeito proangiogênico, aumentando a permeabilidade dos vasos e induz a síntese do fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF) (WOJTUKIEWICZ et al., 2004). Por outro lado, o excesso de trombina gerado em decorrência da ativação do mecanismo hemostático, além de gerar maior quantidade de fibrina, ativa também plaquetas. A ativação de plaquetas conduz a liberação de fatores de crescimento tais como, VEGF, fator de crescimento derivado das plaquetas, e fator de crescimento de fibroblastos. Estes fatores em conjunto contribuem para a angiogênese e inibem a apoptose (DETMAR, 2000).

Células tumorais podem expressar também muitas proteínas fibrinolíticas, como ativador do plasminogênio tipo uroquinase (uPA), ativador do plasminogênio tissular (tPA), inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1) e tipo 2 (PAI-2), prevalecendo o efeito antifibrinolítico destas proteínas, resultando em acúmulo de fibrina, favorecendo a invasão tumoral, proliferação celular e metástases (KWAAN, 1992). A fibrina induz a expressão citocinas com propriedades angiogênicas e serve de matriz para a migração das células neoplásicas e para a formação de novos vasos sanguíneos. A fibrina também forma uma camada protetora nas células tumorais, dificultando seu reconhecimento pelo do sistema imune e auxiliando o ancoramento na parede vascular (PRANDONI; FALANGA; PICCIOLI, 2005; MARINHO ; TAKAGAKI, 2008).

O câncer procoagulante (CP) é uma cisteína proteinase, expressa sobre a superfície de muitas células tumorais em humanos, que ativa o fator X diretamente, mesmo na ausência do fator VII ativado que usualmente ativam o mecanismo hemostático, resultando na produção de trombina com conseqüente formação de fibrina (BULLER, et al., 2007; TABAK; TORRES; NAHOUN, 2011).

### 1.2.2.1 Testes laboratoriais para avaliação da hemostasia

Os testes laboratoriais utilizados para avaliar a hemostasia são plaquetometria, tempo de sangramento, tempo de coagulação ativado, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de trombina (TT), concentração de fibrinogênio plasmático, verificação de PDFs (BAKER, 2007), além do Dímero-D plasmático (MACHIDA et al., 2010). Entretanto, devido ao alto custo de aquisição de equipamentos e reagentes, raramente é realizado a maioria desses testes em animais na rotina (THRALL et al., 2006).

Contudo, alguns testes laboratoriais simples e mais acessíveis como contagem de plaquetas, tempo de sangramento, TCA, concentração de fibrinogênio plasmático e avaliação TP e TTPA são capazes de avaliar os distúrbios hemostáticos (THRALL et al., 2006). Segundo Azevedo, Tabak e Maradei (2011) o primeiro passo para avaliar a hemostasia é obter um hemograma com contagem de plaquetas, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada e fibrinogênio.

O tempo de protrombina (TP) é uma análise in vitro das vias extrínseca e comum. Este é o melhor teste para identificar a deficiência do fator VII e também é utilizado para orientar a dosagem de antagonistas da vitamina K em direção à meta de anticoagulação. O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) é um teste in vitro das vias intrínseca e comum. Os fatores da via intrínseca incluem XII, XI, IX, VIII, enquanto os fatores da via comum incluem II, V, X, e o fibrinogênio (ORFANAKIS; DELOUGHERY, 2013). Em ambos os casos, para que ocorra prolongamento do tempo de formação do coágulo in vitro é necessária à redução de aproximadamente 70% da atividade de algum fator. Os exames laboratoriais dos componentes do sistema hemostático servem para detectar, explicar, monitorar ou prognosticar estados patológicos (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Em cães, valores entre 6,4 e 7,4 segundos para o TP e de 6 a 16 segundos para o TTPA são considerados normais, no entanto os valores de referência variam na literatura e o mais correto é a realização destes testes em duplicata com pacientes controles para que se possam estabelecer valores de referências locais, e

se diferença for mais de 5 segundos tem-se um problema de coagulação (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

### **1.2.3 Principais alterações hemostáticas em pacientes com câncer**

#### **1.2.3.1 Desordens plaquetárias**

A trombocitopenia é frequentemente observada em pacientes veterinários com câncer (CHILDRESS, 2012). Contudo, a incidência da trombocitopenia em cães com neoplasia é bastante variável. Em um estudo realizado por Madewall (1980), de 100 cães com neoplasia foi detectado trombocitopenia em 36% dos animais. Já em outro estudo envolvendo 2.059 cães com neoplasias, somente 10% dos animais apresentaram trombocitopenia, observada com maior frequência nos casos de neoplasias linfoides, carcinomas e sarcomas (GRINDEM et al., 1994). Os principais mecanismos que podem causar trombocitopenia em animais com neoplasias são: produção diminuída devido à mieloptose, consumo e destruição (trombocitopenia autoimune), sequestro e distribuição anormal (por hepatomegalia e/ou esplenomegalia) ou perda excessiva de plaquetas (CHISHOM-CHAIT, 2000; SANTOS, 2005; CHILDRESS, 2012).

A trombocitose é uma condição rara em pacientes oncológicos na veterinária, porém é observada frequentemente em pacientes humanos com câncer (DeSANCHO; RADN, 2010; BERGMAN, 2013). Entretanto, a verdadeira incidência de trombocitose nos animais com neoplasia pode estar sendo subnotificada. Esta desordem parece acontecer em decorrência da produção de trombopoietina, mediada por interleucina-6, uma citocina inflamatória (CHILDRESS, 2012). Trombocitose é definida como uma contagem de plaquetas maior do que a extremidade superior do intervalo de referência ( $> 500-600 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) e contagens de plaquetas  $> 1000 \times 10^3/\mu\text{l}$  são consideradas extrema trombocitose (NEEL; SNYDER; GRINDEM, 2012). É importante ressaltar que a trombocitose intensa

(>1.000.000/ $\mu$ l) também pode causar sangramento em pacientes humanos com câncer, principalmente por consumo de FvW e pelo número aumentado de plaquetas (AZEVEDO; TABAK; MARADEI, 2011). Em um estudo retrospectivo realizado por Neel, Snyder e Grindem (2012) com 165 cães com trombocitose, cerca de 40% dos animais eram portadores de neoplasia, principalmente carcinomas, linfomas e mastocitomas.

Segundo Gay e Felding-Habermann (2011), o número de plaquetas pode oscilar durante a progressão do câncer e costuma predizer o comportamento clínico da doença.

### **1.2.3.2 Desordens da Coagulação**

Os distúrbios da coagulação são comuns em pacientes humanos e veterinários com câncer e podem ocorrer em estados de hipercoagulabilidade e hipocoagulabilidade (CHILDRESS, 2012). Segundo Marinho e Takagaki (2008), a hipercoagulabilidade pode ser a primeira manifestação do câncer e parece favorecer a progressão tumoral, principalmente no desenvolvimento de metástases. O estado de hipercoagulabilidade pode ser documentado em diversos testes laboratoriais em 50 a 70% dos pacientes humanos portadores de câncer (TABAK; TORRES; NAHOUM, 2011). Em pacientes veterinários com câncer a evidência de hipercoagulabilidade é escassa (CHILDRESS, 2012). Contudo, em um estudo realizado por Stockhous et al. (1999) em cadelas com carcinoma mamário 43% apresentaram TP e TTPA alterados, que pode implicar um estado de hipercoagulabilidade.

Em seres humanos, a doença tromboembólica associada com hipercoagulabilidade é muito mais comum do que hemorragias associadas com hipocoagulabilidade, porém existem poucos dados referentes a cães e gatos, mas que sugerem um padrão semelhante aos humanos (DeSANCHO; RAND, 2010). Em um estudo de coagulação pela técnica de tromboelastografia realizado por

Kristensen et al. (2008) foi detectado 18 (50%) de casos de hipercoagulabilidade contra 6 (17%) de hipocoagulabilidade em 36 cães avaliados.

Atualmente, a relação entre tromboembolismo e câncer está bem estabelecida (MARINHO; TAKAGAKI, 2008; GAY; FELDING-HABERMANN, 2011; CHILDRESS, 2012). A trombose venosa profunda pode ser a primeira manifestação subjacente a doença maligna, e em geral, pacientes com episódios tromboembólicos apresentam uma sobrevida menor (SORENSEN et al., 2000). Em cães, o tromboembolismo pulmonar tem sido associado a pacientes com câncer, porém esta condição raramente é diagnosticada ante-mortem (LA RUE; MURTAUGH, 1990; JOHNSON; LAPPIN; BAKER, 1999). Na medicina veterinária não se sabe a real incidência de tromboembolismo em pacientes com câncer, mas parece ser uma das principais causas de tromboembolismo em pequenos animais e pode contribuir significativamente para a morbidade e mortalidade em pacientes oncológicos (CHILDRESS, 2012). Em um estudo recente realizado por Laurensom et al. (2010) evidenciou que dos 80 cães com trombose da veia esplênica, 43 (54%) apresentavam neoplasia.

Apesar do conhecimento sobre as alterações hemostáticas, na medicina veterinária, o estado de hipercoagulabilidade raramente é diagnosticado em vida, pois os exames laboratoriais para avaliação da hemostasia não são realizados de rotina em pacientes com câncer (KRISTENSEN et al., 2008). Entretanto, sabe-se que em medicina humana aproximadamente 50% dos pacientes humanos com câncer e 90% de pacientes com metástase apresentam alterações nos testes de coagulação (SUN et al., 1979; EDWARDS et al., 1987; GOLDSMITH, 2001). E este fato sugere um papel terapêutico para a anticoagulação, não apenas para a prevenção de trombose, mas também como um meio de controlar a progressão do tumor. Assim, esta é uma área de investigação ativa em ambos os modelos animais e humanos com câncer (CHILDRESS, 2012).

### 1.2.3.3 Coagulação intravascular disseminada

A coagulação intravascular disseminada (CID) é uma síndrome associada com a ativação excessiva da cascata de coagulação, levando a formação de micro trombos e falência múltipla de órgãos (THOMASON et al., 2005). Segundo Azevedo, Tabak e Maradei (2011) a CID é a manifestação clínica da ativação descontrolada da trombina, que leva a conversão do fibrinogênio em fibrina, ativação e consumo de plaquetas, ativação do FV e do FVIII, ativação da proteína C, ativação do endotélio vascular e fibrinólise.

Conforme Childress (2012), a CID é diagnosticada com relativa frequência em pacientes oncológicos na medicina veterinária, e de fato a neoplasia é a causa mais comum de coagulação intravascular disseminada em cães. Entre as mais comuns, destacam-se o hemangiossarcoma, o carcinoma mamário, principalmente o inflamatório e o carcinoma pulmonar (MARUYAMA et al., 2004).

A CID crônica é uma manifestação frequente de hipercoagulabilidade presente em pacientes com neoplasia avançada ou com presença de metástase (THOMASON et al., 2005), mas tanto o estado de hipercoagulabilidade e hipocoagulabilidade podem estar associados à CID, dependendo da evolução da doença (CHILDRESS, 2012).

Para o diagnóstico de CID são consideradas pelo menos três alterações: trombocitopenia, prolongamento do TP, TTPA, TT, hipofibrinogenia e elevação dos valores de PDF e dímero D (STOCKHAUS et al., 1999, STOKOL et al., 1999; BROOKS; LAFORCADE, 2010). Contudo, na oncologia veterinária não há investigação dessa síndrome e a maior parte dos pacientes demora apresentar um quadro de hemorragia espontânea e por esse fato, torna-se importante a investigação rotineira (MANGIERI, 2009).

### 1.3 REFERÊNCIAS

AL-DISSI, A. N.; HAINES, D. M.; SINGH, B.; KIDNEY, B. A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 in canine simple mammary gland adenocarcinomas. **The Canadian Veterinary Journal**, v.5, n.10, 2010.

ALLRED, D. C.; HARVEY, J. M; BERARDO M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. **Modern Pathology**, v.11, 1998.

ANDREASEN, E.B.; TRANHOLM, M.; WIINBERG, B.; MARKUSSEN, B.; KRISTENSEN, A.T. Hemostatic alterations in a group of canine cancer patients are associated with cancer type and disease progression. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.54, n.3, 2012.

AZEVEDO, A. M.; TABAK, D.; MARADEI, S. Manuseio de complicações hemorrágicas adquiridas no tratamento do paciente oncológico. **Onco&**, p. 18-25, 2011.

BAKER, D. C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 170-187.

BERGER, M.; SILVA, W .O. B.; SANTI, L.; GUIMARÃES, J. A. Hemostasia: uma breve revisão. **Caderno pedagógico**, v. 11, n. 1, p. 140-148, 2014.

BERGMAN, P.J. Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW, S. J, VAIL, D. M, PAGE, R. L. Withrow & MacEwen's **Small animal clinical oncology**. 5. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013. p. 83-97.

BETZ, D.; SCHOENROCK, D.; MISCHKEL, R.; BAUMGÄRTNER, W.; NOLTE, I. Postoperative treatment outcome in canine mammary tumors Multivariate analysis of the prognostic value of pre- and postoperatively available information. **Tierärztliche Praxis Kleintiere**, v.40, p. 235–242, 2012.

BOGENRIEDER, T.; HERLYN, M. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. **Oncogene**, v. 22, n. 42, p. 6524-6536, 2003.

BROOKS, M. B.; LAFORCADE, A. Acquired coagulopathies. In.: WEISS, D.J. WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6<sup>th</sup> ed. Iowa: Blackwell Publishing. 2010, p. 654-660.

BROOKS, M. B.; STOKOL, T.; CATALFAMO, J. L. Comparative Hemostasis: Animal Models and New Hemostasis Tests. **Clinics in Laboratory Medicine**, v.31, n.1, p.139-159, 2011.

BULLER, H. R.; VAN DOORMAAL, F. F.; VAN SLUIS, G. L.; KAMPHUISEN, P.W. Cancer and thrombosis: from molecular mechanisms to clinical presentations. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 1, p. 246-254, 2007.

CARLOS, M. M. L.; FREITAS, P. D. F. S. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.1, n.2, p.49-55, 2007.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E.; ESTRELA-LIMA A.; DE NARDI, A. B.; GHEVER, C.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; OLIVEIRA, L. O.; SUEIRO, F. A. R.; BESERRA, H. E. O.; BERTAGNOLLI, A. C.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; CAMPOS, C. B.; ARAUJO, M. R.; CAMPOS, L. C.; MONTEIRO, L. N.; NUNES, F. C.; HORTA, R. S.; REIS, D. C.; LUVIZOTTO, M. C. R.; MAGALHÃES, G. M.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; TANAKA, N. M.; GRANDI, F.; UBUKATA, R.; BATSCHINSKI, K.; TERRA, E. M.; SALVADOR, R. C. L.; JARK P. C.; DELECRODI, J. E. R.; NASCIMENTO, N. A.; SILVA, D. N.; SILVA, L. P.; FERREIRA, K. C. R. S.; FREHSE, M. S.; DI SANTIS, G. W.; SILVA, E. O.; GUIM, T. N.; KERR, B.; CINTRA, P. P.; SILVA, F. B. F.; LEITE, J. S.; MELLO, M. F. V.; FERREIRA, M. L. G.; FUKUMASU, H.; SALGADO, B. S.; TORRES, R. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.7, n.2, p.38-69, 2014.

CHANG, C. C.; TSAI, M. H.; LIAO, J. W.; CHAN, J. P. WONG, M. L.; CHANG, S. C. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235, n. 4, p. 391–396, 2009.

CHANG, S. C.; CHANG, C.C.; CHANG, T. J.; WONG, M. L. Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 10, p.1625–1629, 2005.

CHILDRESS, O. M. Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, n.1, p. 123-55, 2012.

CHISHOLM-CHAIT, A. Mechanisms of thrombocytopenia in dogs with cancer. **Compendium: Continuing Education for Veterinarians**, v. 22, p.1006–1018, 2000.

CIRILLO, J. V.; Tratamento quimioterápico das neoplasias mamárias em cadelas e gatas. **Revista do Instituto de Ciência e Saúde**, v.26, n.3, p. 325-327, 2008.

COELHO, T. H.; MOREIRA, A. L. **Função hemostática e sua avaliação: texto de apoio**. Serviço de Fisiologia. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Porto: Universidade do Porto, 2001. 33p. Disponível em: <<http://www.unirio.br/farmacologia/aulas%20fisiologia/9.%20SANGUE/Hemostase%20UNIV%20PORTO.pdf>>. Acesso: 15 julho. 2015.

DAHLBÄCK, B. Blood coagulation. **The Lancet**, v.355, n.9215, p.1627-1632, 2000.

DALECK, C.R.; FRANCESCHINI, P. H.; ALESSI, A. C.; SANTANA, A. E.; MARTINS, M. I. M. Aspectos clínico e cirúrgicos do tumor mamário canino. **Ciência Rural**, v.28, n.1, p. 95-100, 1998.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap 25, p. 372-383.

DeSANCHO, M. T.; RAND, J. H. Coagulopathic complications of cancer patients. In: HONG, W. K.; BAST, R. C.; HAIT, W. N. **Cancer medicine**. 8. ed. Selton(CT): PMPH-USA, 2010. p. 1813-1822.

DETMAR, M. Tumor angiogenesis. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 5, n. 1, p.20-23, 2000.

EDWARDS, R. L.; RICKLES, F. R.; MORITZ, T. E.; HENDERSON, W. G.; ZACHARSKI, L. R.; FORMAN, W. B: Abnormalities of blood coagulation tests in patients with cancer. **American Journal of Clinical Pathology**, v.88, p.596-602, 1987.

EICHINGER, S.; MINAR, E.; BIALONCZYK, C.; HIRSCHL, M.; QUEHENBERGER, P.; SCHNEIDER, B.; WELTERMANN, A.; WAGNER, O.; KYRLE, P.A.; D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. **The journal of the American Medical Association**, v. 290, n. 8, p. 1071-1074, 2003.

ELSTON, C. W; ELLIS, I. O. Assessment of histological grade. In: Elston CW, Ellis IO. (eds.), **Systemic pathology – The breast**. 3 ed. London, UK: Churchill & Livingstone, 1998. p. 365-384.

ESTRELA-LIMA, A.; ARAÚJO, M. S. S., COSTA-NETO, J. M.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; BARROUIN-MELO, S. M.; CARDOSO, S. V.; MARTINS-FILHO, A. O.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Immunophenotypic features of tumor infiltrating lymphocytes from mammary carcinomas in female dogs associated with prognostic factors and survival rates. **BMC Cancer**, v. 10, p. 256-270, 2010.

FELICIANO, M. A. R.; SILVA, A. S.; PEIXOTO, R. V. R.; GALERA, P. D.; VICENTE, W. R. R. Estudo clínico, histopatológico e imunoistoquímico de neoplasias mamárias em cadelas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p. 1094-1100, 2012.

FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; CAVALCANTI, M.F.; SCHMITT, F. C.; CASSALI G. D.; The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n.4, p. 230-235, 2009.

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

GAY, L.J.; FELDING-HABERMANN, B. Contribution of platelets to tumour metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v.11, p.123-134, 2011.

GOLDSMITH, G.H. Hemostatic changes in patients with malignancy. **International Journal of Hematology**, v.73, p.151-156, 2001.

GRIGNANI, G.; MAIOLO, A. Cytokines and hemostasis. **Haematologica**, v.85, n.9, p.967-972, 2000.

GRINDEM, C. B.; BREITSCHWERDT, E. B.; CORBETT, W. T., PAGE, R. L.; JANS, H.E. Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.8, p.400–405, 1994.

JOHNSON, L. R.; LAPPIN, M. R.; BAKER, D. C. Pulmonary thromboembolism in 29 dogs: 1985-1995. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n.4, p. 338-345, 1999.

KLOPFLEISCH, R.; VON EULER, H.; SARLI, G.; PINHO, S. S.; GÄRTNER, F.; GRUBER, A. D. Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: news from an old disease. **Veterinary Pathology**, v.48, n.1, p. 98-116, 2011.

KRISTENSEN, A. T.; WIINBERG, B.; JESSEN, L. R.; ANDREASEN, E.; JENSEN, A. L. Evaluation of human recombinant tissue factor activated thromboelastography in 49 dogs with neoplasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, p.140-147, 2008.

KWAAN, H. C. The plasminogen-plasmin system in malignancy. **Cancer and metastasis review**, v. 11, n. 4, p. 291-311, 1992.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Missouri: WB Saunders, 2007. p. 619–633.

LARUE, M.J.; MURTAUGH, R. J. Pulmonary thromboembolism in dogs: 47 cases (1986-1987). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, n. 10, p. 1368-1372, 1990.

LASSER, G.; GUCHHAIT, P.; ELLSWORTH, J. L.; SHEPPARD, P.; LEWIS, K.; BISHOP, P.; CRUZ, M. A.; LOPEZ, J. A.; FRUEBIS, J. C1qTNF-related protein-1 (CTRP-1): a vascular wall protein that inhibits collagen-induced platelet aggregation by blocking VWF binding to collagen. **Blood**, v. 107, n. 2, p. 423-430, 2005.

LAURENSEN, M. P.; HOPPER, K.; HERRERA, M. A.; JOHNSON, E. G. Concurrent diseases and conditions in dogs with splenic vein thrombosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p.1298–1304, 2010.

LAVALLE G. E.; BERTAGNOLLI, A. C.; TAVARES, W. L.; CASSALI, G. D. Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis and overall survival. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 6, p. 1275–1280, 2009.

LIM, H. Y.; IM, K. S.; KIM, N. H.; KIM, H. W.; SHIN, J. I.; SUR, J.H. Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. **The Veterinary Journal**, v. 203, n.3, p. 326-331, 2015.

LIMA, G. R.; MARTINS, N. V. **Onco Ginecologia**. São Paulo: Atheneu, 1992. p. 17-23.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. p.77-99.

MACEWEN, E. G.; HARVEY, H. J.; PATNAIK, A. K.; MOONEY, S.; HAYES, A.; KURZMAN, I.; HARDY, W. D. JR. Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. **Journal of Biological Response Modifiers**, v.4, n.4, p. 418-426, 1985.

MACHIDA, T.; KOKUBU, H.; MATSUDA, K.; MIYOSHI, K.; UCHIDA, E. Clinical use of D-dimer measurement for the diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.72, n.10, p.1301-1306, 2010.

MADEWELL, B. R.; FELDMAN, B. F.; O'NEILL, S. Coagulation abnormalities in dogs with neoplastic disease. **Thrombosis and Haemostasis**, v.44, p.35–8, 1980.

MANGIERI, J. Síndromes Paraneoplásicas. In DALECK, C.R, DE NARDI, R.B, RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 237-252.

MARINHO F. C DE A.; TAKAGAKI, T. Y. Hypercoagulability and lung cancer. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.34, n.5, p.312- 322, 2008.

MARUYAMA, H.; MIURA, T.; SAKAI, M.; KOIE, H.; YAMAYA, Y.; SHIBUYA, H.; SATO, T.; WATARI, T.; TAKEUCHI, A.; TOKURIKI, M.; HASEGAWA, A. The incidence of disseminated intravascular coagulation in dogs with malignant tumor. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.66, n.5, p.573-5, 2004.

MARUYAMA, H.; WATARI, T.; MIURA, T.; SAKAI, M.; TAKAHASHI, T.; KOIE, H.; YAMAYA, Y.; ASANO, K.; EDAMURA, K.; SATO, T.; TANAKA, S.; HASEGAWA, A.; TOKURIKI, M. Plasma thrombin–antithrombin complex concentrations in dogs with malignant tumours. **Veterinary Record**, v. 156, n. 26, p. 839–840, 2005.

MISDORP W., ELSE RW., HELLMÉN E., LIPSCOMB E. **Definitions and explanatory notes**. WHO histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1999. p. 18-27.

MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4 ed. Ames: Iowa State Press, 2002. p. 575-606.

MOROZ, L. D. **Avaliação de parâmetros hemostáticos em cães de diferentes categorias de risco anestésico no período peri-operatório**. 2008. 80f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MOTA, E. F. F.; OLIVEIRA, S. R. Diagnóstico citológico em medicina veterinária. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 30, n. 1, p. 29-47,1999.

NEEL, J. A.; SNYDER, L; GRINDEM, C. B. Thrombocytosis: a retrospective study of 165 dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.2, p.216–222, 2012.

NOVOSAD, C.A. Principles of treatment for mammary gland tumors. **Clinical Technical Small Animals Practice**, v.18, n.2, p.107-109, 2003.

OLIVEIRA, L. O.; OLIVEIRA, T.; LORETTI, A. P.; RODRIGUES, R.; DRIEMEIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.2, p. 105-110, 2003.

ORFANAKIS, A.; THOMAS DELOUGHERY, T. Patients with Disorders of Thrombosis and Hemostasis. **Medical Clinics of North America**, v.97, n.6, p.1161-1180, 2013.

PEREZ ALENZA, D.; RUTTEMAN, G. R.; PENA, L.; BEYNEN, A. C.; CUESTA, P. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. **Journal of the Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 3, p.132–139, 1998.

PEREZ ALENZA, M. D.; PENA, L.; DEL CASTILLO, N.; NIETO, A. I. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumors. **Journal of Small Animal Practice**, v.41, n.7, p. 287-291, 2000.

PRANDONI, P.; FALANGA, A.; PICCIOLI, A. Cancer and venous thromboembolism. **The Lancet Oncology**, v.6, n.6, p.401-410, 2005.

REZENDE, S. M. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.20, n.4, p.534-553, 2010.

RICKLES, F. R.; FALANGA, A. Molecular basis for the relationship between thrombosis and cancer. **Thrombosis Research**, v.102, n. 6, p. v215-224, 2001.

SANTOS, A. P. Avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SANTOS, A. P. (eds.): **Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.46-61, 2005.

SCHNEIDER, R.; DORN, C. R.; TAYLOR, D. O. N. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **Journal of the National Cancer Institute**, v.43, n.6, p. 1249-1261, 1969.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. **The Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v.33, n.3, p. 573- 596, 2003.

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

SORENMO, K. U.; WORLEY, D R.; GOLDSCHMIDT, M. H. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 5 ed. Missouri: WB Saunders, 2013. Cap. 27. p. 538–556.

SORENSEN, H. T.; MELLEMKJAER, L.; OLSEN, J. H.; BARON, J. A. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. **The New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 25, p. 1846-1850, 2000.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Hemostasia. In.: **Fundamentos de Patologia clínica veterinária**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koongan. p. 213-262.

STOCKHAUS, C.; KOHN, B.; RUDOLPH, R.; BRUNNBERG, L.; GIGER, U. Correlation of haemostatic abnormalities with tumor stage and characteristics in dogs with mammary carcinoma. **The Journal of Small Animal Practice**, v.40, p.326–31, 1999.

STOKOL, T.; BROOKS, M.; ERB, H.; MAULDIN, G.E. Evaluation of kits for the detection of fibrin(ogen) degradation products in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.13, n.5, p. 478-484, 1999.

STRATMANN, N.; FAILING, K.; RICHTER, A.; WEHREND, A. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. **Veterinary Surgery**, v. 37, n. 1, p. 82-86, 2008.

SUN N. C. J.; MCAFEE, W. M.; HUM, G. J.; WEINER, J. M. Hemostatic abnormalities in malignancy, a prospective study of one hundred eight patients. Part I. Coagulation studies. **American Journal of Clinical Pathology**, v.71, p.10-6, 1979.

TABAK, D.; TORRES, L. G.; NAHOUM, B. Câncer e trombose. **Onco&**, p. 26-32, 2011.

TAVASOLY, A.; GOLSHAHI, H.; REZAIIE, A.; FARHADI, M. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. **Veterinary Research Forum**, v.4, n.1, p. 25-30, 2013.

THOMASON, J. D.; CALVERT, C. A.; GREENE, C. E. DIC: Diagnosing and treating a complex disorder. **Veterinary Medicine**, v.100, p. 670-678, 2005.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DE NICOLA, D.; FELTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Seção 2, p. 63-198.

TORÍBIO, J. M. M. L.; ESTRELA LIMA, A.; MARTINS FILHO, E. F.; RIBEIRO, L. G. R.; D'ASSIS, M. J. M. H.; TEIXEIRA, R. G.; DAMASCENO, K. A.; CASSALI, G. D.; Costa Neto, J. M. Caracterização clínica, diagnóstico histopatológico e distribuição geográfica das neoplasias mamárias em cadelas de Salvador, Bahia. **Revista Ceres**, v.59, n.4, p. 427-433, 2012.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. **Neoplasias mamárias: idade ao diagnóstico, raça e cadeia mamária mais acometida em cadelas atendidas no HV da UNESP, Jaboticabal, SP**. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. Anais do VII Oncovet, 2012. p. 20-22.

VARALLO, G.R.; Diagnóstico comparativo entre a histopatologia e citologia por capilaridade com agulha de insulina nas neoplasias mamárias caninas. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

WOJTUKIEWICZ, M. Z.; SIERKO, E.; KISIEL, W. The role of hemostatic system inhibitors in malignancy. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 33, n. 7, p. 621–642, 2007.

WOJTUKIEWICZ, M. Z.; SIERKO, E.; RAK, J. Contribution of the hemostatic system to angiogenesis in cancer. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v.30, n. 1, p. 5–20, 2004.

WOJTUKIEWICZ, M. Z.; TANG, D. G.; CIARELLI, J. J.; NELSON, K. K.; WALZ, D. A.; DIGLIO, C. A.; MAMMEN, E. F.; HONN, K. V. Thrombin increases the metastatic potential of tumor cells. **International Journal of Cancer**, v.54, n.5, p. 793–806, 1993.

ZUCCARI, D. A. P. C. **Contribuição ao estudo imunoistoquímico dos tumores mamários em cadelas**. 1999. 121 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1999.

## **CAPÍTULO 2 - Aspectos clínicos, hematológicos e histopatológicos de cadelas acometidas de carcinoma mamário**

**RESUMO** - Tumores mamários são frequentes em cadelas e apresentam comportamento biológico semelhante aos que ocorrem nas mulheres. A apresentação clássica da doença é caracterizada por pacientes idosas não castradas ou castradas tardiamente e com múltiplas nodulações. O diagnóstico definitivo das lesões é dado pelo exame de histopatológico. O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização clínica, hematológica e histopatológica de cadelas acometidas por carcinoma mamário, atendidas no Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV - UNESP - Câmpus Jaboticabal. Para tanto foram utilizadas 32 cadelas acometidas por carcinoma mamário e 30 cadelas clinicamente e laboratorialmente saudáveis como grupo controle. Todas as cadelas acometidas por lesões mamárias foram submetidas ao exame físico das glândulas mamárias, exames de hemograma, testes de coagulação e ao exame de histopatológico. E os proprietários submetidos à anamnese por meio de questionário. A apresentação clínica da doença foi caracterizada por pacientes idosas de raças puras não castradas e a maioria em estadimento clínico I. O carcinoma em tumor misto grau I e II foram os mais frequentes. Verificou-se que neste estudo não há diferença significativa da contagem total de eritrócitos e leucócitos entre o grupo doente e grupo controle, mas foi observado anemia, leucopenia e linfopenia em algumas cadelas. Tais achados fornecem dados para melhor compreender a doença, bem como são úteis para avaliar o prognóstico de cadelas com carcinoma mamário.

**Palavras-chaves:** cães, hemograma, histologia, neoplasia mamária

## **Clinical, hematological and histopathological aspects in female dogs with mammary carcinoma**

**ABSTRACT** - Mammary tumors are frequently found in female dogs. These tumors have shown a biological behavior similar to breast cancer in woman. The classic presentation of the disease in female dogs is characterized by older age not spayed or later neutered with multiple nodules. Definitive diagnosis of lesions is given by histopathological examination. Thus, the aim of this paper was to characterize clinical, hematological and histopathology female dogs with mammary carcinoma, treated at the Veterinary Hospital Governador Laudo Natel - Unesp Jaboticabal. Thirty-two had mammary carcinoma and thirty were laboratorial and clinically healthy to be used as the control group. The 32 female dogs with carcinoma were submitted to physical mammary gland, blood count, histopathological examinations and coagulation tests and their owners were submitted to a questionnaire. The clinical characteristics of the diseased dogs were older age, pure breed, not spayed with multiple stage one nodules. Grade I and II mixed carcinomas were the most frequent. In this study, a significant difference in the total erythrocyte and leucocyte count were not observed between the patient and control groups, but was observed anemia, leukopenia and lymphopenia in some female dogs. These findings provide data to better understand the disease and are useful to evaluate the prognosis of dogs with mammary carcinoma.

**Keywords:** dogs, blood count, histology, breast cancer

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os tumores de glândula mamária estão entre as neoplasias mais comuns em cadelas, constituindo um problema importante na medicina veterinária (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; DE NARDI et al., 2009; SORENMO; WORLEY; GOLDSCHMIDT, 2013; CASSALI et al., 2014). Os tumores mamários representam aproximadamente 50% das neoplasias diagnosticadas em cadelas (FONSECA; DALECK, 2000).

Existem vários fatores de risco que podem coexistir e influenciar no desenvolvimento de neoplasias mamárias. A idade é um dos mais importantes fatores para o desenvolvimento de tumores de mama (SORENMO et al., 2011). Além da idade, existem também outros fatores, como influência hormonal, raça, predisposição genética, dieta e obesidade, diretamente envolvidas no processo carcinogênico (SLEECKX et al., 2011). As cadelas idosas não castradas, ou ovariectomizadas tardiamente são as mais acometidas (VARALLO et al., 202). A maior incidência ocorre nos Poodle, Cocker Spaniel, Pastor Alemão e nos animais sem raça definida (DE NARDI et al., 2009).

A realização dos exames laboratoriais de hemograma, bioquímica, bem como as provas de coagulação são extremamente importantes (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007). As manifestações laboratoriais mais comumente observadas em cadelas com neoplasia mamária são anemia, leucocitose, trombocitopenia e CID (coagulação intravascular disseminada) (STOCKHAUS et al., 1999; BERGMAN, 2013).

O exame clínico das glândulas mamárias de cadelas com tumores mamários é de fundamental importância para se determinar a fase de evolução da doença, para melhor compreender sobre o comportamento biológico da neoplasia e proporcionar informações de significado diagnóstico, prognóstico e terapêutico (ALLRED et al., 1998).

Todavia, independentemente do tamanho tumoral, o exame de histopatológico é o método de eleição para o diagnóstico de neoplasias mamárias em cadelas (LIMA; MARTINS, 1992; MOTA; OLIVEIRA, 1999). No entanto, existe

uma grande controvérsia quanto à classificação dos tumores mamários em cadelas devido sua complexidade histogenética (DE NARDI et al., 2009). Diante das dificuldades para realizar a classificação histopatológica, sua associação aos métodos de graduação histológica pode fornecer informações suficientes para prever o comportamento biológico da neoplasia mamária (KARAYANNOPOULOU et al., 2005). Em humanos, a combinação do tipo e o grau histopatológico podem resultar em uma avaliação mais precisa do prognóstico do câncer de mama (TAVASOLY et al., 2013).

Este trabalho teve por objetivo realizar a caracterização clínica, hematológica e histopatológica de cadelas acometidas por carcinoma mamário, atendidas no Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV - UNESP - Câmpus Jaboticabal.

## **2.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.2.1 Animais**

Foram selecionadas 62 cadelas aleatoriamente sem distinção de idade e raça, sendo 30 cadelas ausentes de neoplasias mamárias, clinicamente saudáveis como grupo controle, e 32 cadelas acometidas por neoplasias mamárias, provenientes do atendimento do Setor de Obstetrícia do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV - UNESP - Câmpus Jaboticabal. Inicialmente, todas as cadelas com neoplasia mamária foram submetidas ao exame clínico, que constituiu na avaliação da condição clínica geral do animal, coleta de informações sobre o histórico clínico e ciclo reprodutivo (cio regular, número de partos, castração, utilização de tratamento hormonal, período de desenvolvimento das lesões, histórico de pseudociese e lesões prévias). Essas informações foram armazenadas, em ficha oncológica (Ver anexo). Todas as cadelas foram submetidas aos exames de hemograma, e as cadelas com neoplasias mamárias foram submetidas ao estadiamento clínico do tumor pelo método TNM e ao exame de histopatológico.

### 2.2.2 Estadiamento clínico

Foi realizado o estadiamento clínico, com base no tamanho do tumor (T), no envolvimento neoplásico de linfonodos regionais (N) e na presença de metástases à distância (M), de acordo com o sistema TNM (modificado de Owen, 1980). Os tumores foram mensurados em pelo menos duas dimensões. Quando o animal apresentou mais de um nódulo, cada um deles foi medido separadamente, sendo considerada para a realização do estadiamento clínico a maior medida do tumor invasivo conforme critérios adotados pelo sistema TNM. A avaliação macroscópica dos linfonodos inguinais e axilares foi realizada por palpação e, durante a mastectomia, os linfonodos inguinais foram removidos juntamente com a mama inguinal, diferentemente dos linfonodos axilares. A presença ou não de envolvimento neoplásico foi determinada pelo exame histopatológico, após a exérese cirúrgica da mama envolvida, sendo a pesquisa de metástase a distância realizada por métodos convencionais de exame radiográfico de tórax em três projeções e ultrassonografia abdominal.

### 2.2.3 Coleta e processamento das amostras

Todas as cadelas com neoplasia mamária foram submetidas à mastectomia total unilateral e ao exame histopatológico. As amostras de sangue foram coletadas antes do procedimento cirúrgico. Os animais foram submetidos à coleta de sangue por meio de venopunção da veia jugular com auxílio de agulha e seringa de 5 ml. Foram coletados um ml de sangue em tubos contendo 7,2 mg de anticoagulante ácido etilenodiaminotetracetato dipotássico ( $K_2EDTA$ ) para obtenção do hemograma. O sangue coletado em tubos contendo  $K_2EDTA$  foi homogeneizado e as contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas com auxílio de um hemocítômetro<sup>1</sup>. A contagem diferencial de leucócitos, objetivando determinar o

---

<sup>1</sup> ABC Vet, Animal Blood Counter, Horiba ABX, Montpellier, França.

percentual de basófilos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos, foi obtida a partir do exame, em microscópio óptico (aumento de 1.000 vezes), de esfregaços sanguíneos corados com uma mistura de Giemsa, May-Grunwald, Wright e Metanol<sup>2</sup>.

Após a mastectomia unilateral total, a cadeia mamária juntamente com o linfonodo inguinal foi imediatamente encaminhada ao Laboratório de Patologia da FCAV - UNESP - Câmpus Jaboticabal, para avaliação anátomo-histopatológica e para avaliação das margens. Foram coletados fragmentos das mamas afetadas, incluindo pele e tecido subcutâneo. Os fragmentos coletados foram fixados em formol neutro a 10%, tamponado com fosfato e processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina. As secções histológicas, de 4µm, foram coradas pelas técnicas da Hematoxilina-Eosina (Luna, 1968). A classificação histopatológica das neoplasias mamárias foram realizadas de acordo com o proposto por Cassali et al. (2014).

Os tumores epiteliais também foram classificados de acordo com critérios histopatológicos específicos, a maioria baseada no sistema de classificação de Elston e Ellis (1998), que incorpora informações sobre a (1) formação de túbulos, (2) pleomorfismo nuclear, e (3) número de mitoses por campo. Com base na pontuação total obtida, o grau do tumor foi determinado: Grau I (Baixo Grau) tumor bem diferenciado, Grau II (Intermediário) moderadamente diferenciado e Grau III (Alto Grau) pouco diferenciado.

#### **2.2.4 Análise estatística**

Para comparação entre as médias das variáveis hematológicas entre o grupo controle e o grupo doente, foi aplicado o teste t de Student. Estas análises foram avaliadas utilizando-se o nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%, processadas no software SPSS Statistics.

---

<sup>2</sup> Composição do corante: 1,5g de azul de metileno segundo Giemsa, 1,0g de azul de metileno segundo May-Grunwald, 0,5g de azul de metileno segundo Wright e 1,0L de metanol.

## 2.3 RESULTADOS

Em relação aos dados clínicos, das 32 cadelas avaliadas, evidenciou-se que 26 (81,25%) animais do grupo experimental possuía raça definida, sendo as raças Poodles, Pinscher e Boxer as mais acometidas por carcinoma mamário. A faixa etária compreendeu idades entre 6 a 16 anos (média de 10 anos). As pacientes idosas (acima de sete anos) foram as mais acometidas, totalizando 31 (96,87%) casos.

Quanto ao estado reprodutivo, 26 (81,25%) não eram castradas. Destas, 5 (15,62%) foram submetidas a castração devido a infecção no útero e somente 1 cadela (3,12%) foi submetida a castração eletiva. A administração de anticoncepcionais não foi realizada em 29 (90,62%) cadelas, sendo somente 3 (9,37%) animais submetidas a aplicação de anticoncepcionais. Além disso, a pseudogestação foi observada em 21 (65,62%) cadelas. Em relação ao estro, 14 (43,75%) cadelas apresentaram estro regular, 2 (6,25%) irregular e 16 (50%) apresentaram cio não detectável pelos proprietários.

A maioria das cadelas apresentou lesões neoplásicas bilaterais (53,12%), e a cadeia mamária esquerda foi a mais acometida (56,25%), sendo as mamas abdominais craniais, caudais e inguinais as de maiores ocorrências de tumores. O gráfico 1 documenta a localização dos neoplasmas em relação a glândula envolvida.

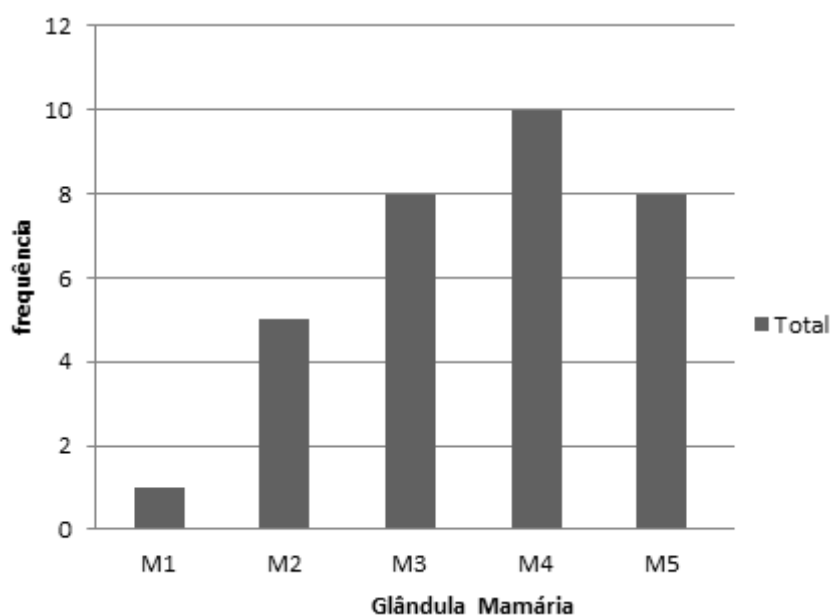


Figura 1: Localização das neoplasias mamárias quanto à glândula envolvida, em cadelas atendidas no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

A avaliação histopatológica das 32 cadelas com carcinoma mamário permitiu classificá-las em grupos de acordo com o tipo e o grau histopatológico. A incidência de cada subtipo histológico e sua graduação está demonstrada na tabela 1.

Tabela 1: Incidência dos tipos e grau histológicos das neoplasias mamárias em cadelas diagnosticadas no Hospital Veterinário FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Tipo histopatológico	Grau Histológico			
	(n)	Grau I	Grau II	Grau III
Carcinoma em tumor misto	14(43,75%)	7(21,87%)	6(18,75%)	1(3,12%)
Carcinoma Tubular	8(25%)	3(9,37%)	2(6,25%)	3(9,37%)
Carcinoma Papilífero	5(15,62%)	-(0%)	4(12,5%)	1(3,12%)
Carcinoma Sólido	3(9,37%)	1(3,12%)	-(0%)	2(6,25%)
Carcinoma Complexo	2(6,25%)	2(6,25%)	-(0%)	-(0%)
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>13</b>	<b>12</b>	<b>7</b>

E a partir da avaliação clínica do tumor e do exame de histopatológico, realizou-se o estadiamento tumoral conforme o sistema TNM adaptado para tumores mamários caninos, distribuindo-se os animais do estudo em quatro estágios: estágio I (n=14 43,75%), estágio II (n=4 12,5%), estágio III (n=7 21,8%), estágio IV (n= 7 21,8%). O gráfico 2 demonstra a relação dos estágios com o grau histopatológico do tumor.

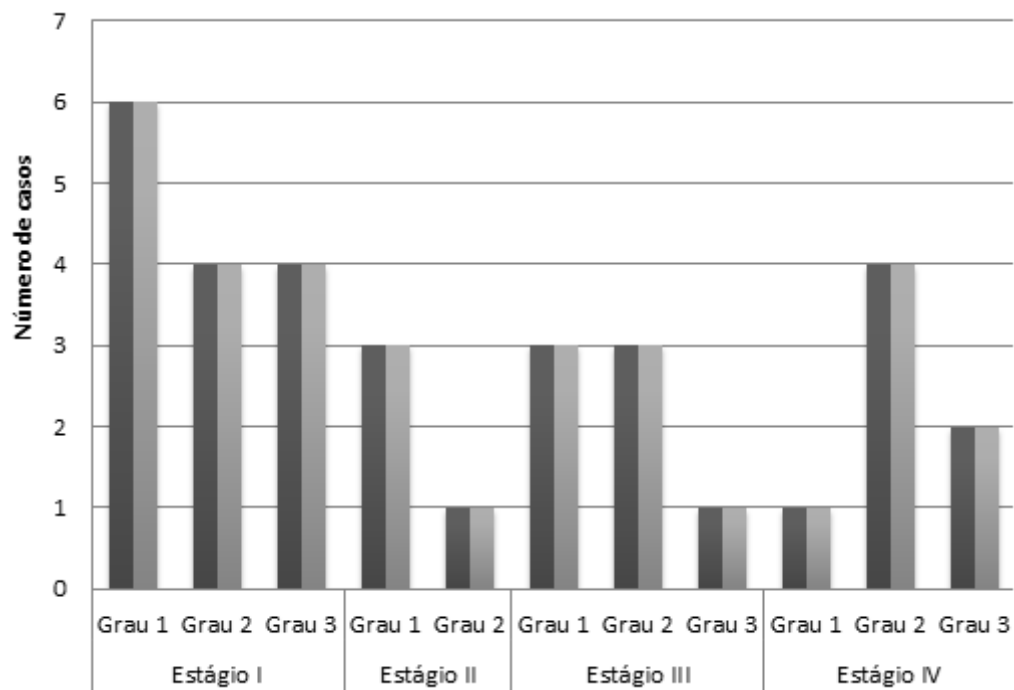


Figura 2: Relação entre o grau histopatológico e o estadiamento clínico do tumor das cadelas atendidas no Hospital veterinário da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

O exame de histopatológico também permitiu a avaliação das margens após a mastectomia, demonstrado no gráfico 3. A tabela 2 demonstra a relação do tamanho do tumor com as margens (livres e comprometidas).

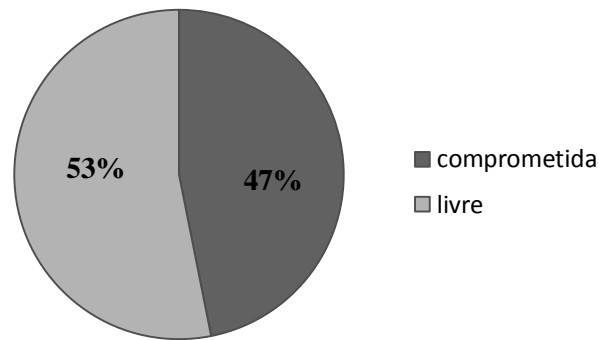


Figura 3: Avaliação das margens em cadelas submetidas a mastectomia, atendidas no Hospital veterinário da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Tabela 2: Relação do tamanho do tumor com as margens (livres e comprometidas), após mastectomia, de cadelas com lesões mamárias atendidas no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Tamanho do Tumor	Margens	
	Comprometidas	Livres
T1	6	10
T2	2	2
T3	7	5
Total	15	17

T1: Tumores menores que 3 cm; T2: Tumores de 3 a 5 cm;

T3: Tumores maiores que 5cm.

Em relação às variáveis hematológicas, no eritrograma, somente 6 (18,75%) cadelas apresentaram valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito abaixo dos valores de referência para a espécie, caracterizando anemia. No leucograma, 5 (15,62%) cadelas apresentaram leucopenia, 2 (6,25%) neutropenia, 5 (15,62%) eosinopenia e 7 (21,87%) apresentaram linfopenia. Das variáveis hematológicas, somente os neutrófilos bastonetes, eosinófilos, monócitos e linfócitos apresentaram diferença significativa quando comparado com o grupo controle (tabela 3).

Tabela 3: Médias e respectivos erros-padrão da média da contagem global de eritrócitos, teor de hemoglobina, volume globular (VG), contagem global de leucócitos e dos valores absolutos de basófilos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes e segmentados, linfócitos e monócitos de cadelas acometidas por carcinoma mamário (GD) comparado aos do grupo controle (GC) atendidas no Hospital veterinário da FCAV/UNESP. Jaboticabal, 2015.

Parâmetros	Grupos		Valores de Referência
	Controle	Doente	
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	$8.0 \pm 7.7^a$	$6.3 \pm 1.1^a$	5.5 - 8.5
Hemoglobina (g/dL)	$15.0 \pm 2.0^a$	$15.0 \pm 2.6^a$	12.0-18.0
VG (%)	$44.7 \pm 5.2^a$	$42.1 \pm 7.3^a$	37.0 - 55.0
Leucócitos Totais ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	$10.9 \pm 3.2^a$	$9.2 \pm 3.1^a$	6.0 - 18.0
Basófilos ( $\mu\text{L}$ )	$31.8 \pm 56.7^a$	$13.8 \pm 63.7^a$	0 - 0
Eosinófilos ( $\mu\text{L}$ )	$220.3 \pm 162^b$	$466.5 \pm 404.3^a$	120 - 1800
Neutrófilos Bastonetes ( $\mu\text{L}$ )	$85.9 \pm 126.9^a$	$3.3 \pm 18.6^b$	0 - 500
Neutrófilos Segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	$7214.1 \pm 1982.0^a$	$7439.8 \pm 3020.0^a$	3600 - 13800
Linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	$2764.1 \pm 982.9^a$	$995.3 \pm 401.1^b$	720 - 5400
Monócitos ( $\mu\text{L}$ )	$609.8 \pm 371.2^a$	$320.3 \pm 233.0^b$	180 - 1800

<sup>a,b</sup>Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estaticamente ( $p < 0,05$ ).

## 2.4 DISCUSSÃO

Dos 24 animais de raça pura deste estudo, a maioria referia-se a raças como poodle, pinscher e boxer. Para Sorenmo (2003), o fato de certas raças terem um risco maior de desenvolverem tumores mamários sugere um componente genético. Contudo, conforme Daleck et al. (1998) e Oliveira et al. (2003) não existe uma predisposição racial para tumores de glândula mamária em cadelas, podendo acometer animais sem raça definida. Entretanto, neste estudo ocorreu uma baixa incidência de neoplasias mamárias em cadelas sem raça definida, este fato pode ser explicado, pois a ligação entre raças e tumores mamários pode variar de acordo com o local de estudo, podendo, refletir em parte, a população canina da região.

Pacientes acima de sete anos (96,87%), não castradas (81,25%) caracterizaram o perfil do grupo experimental no estudo. Os levantamentos epidemiológicos brasileiros constata tais achados ao caracterizarem que as fêmeas geriátricas, não castradas, ou castradas tardiamente, são as mais suscetíveis para o desenvolvimento da doença (VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012; OLIVEIRA FILHO et al., 2010). Para Sorenmo et al. (2011) a idade é um dos mais importantes fatores para o desenvolvimento de tumores de mama.

Os tumores localizavam-se predominantemente nas mamas abdominais caudais (31,25%), craniais (25%) e inguinais (25%). Os dois últimos pares de glândulas são descritos como os locais mais comuns para ocorrência do primeiro tumor, sendo raro nas glândulas torácicas craniais. A explicação mais aceita é que há maior quantidade de parênquima e de receptores hormonais nessas glândulas predispondo a ocorrência de neoplasias (DONNAY et al., 1995).

Diversos autores consideram o tamanho tumoral e o estadiamento clínico os parâmetros prognósticos mais importantes (ESTRELA-LIMA et al., 2010; CASSALI et al., 2014). Tumores menores que três centímetros sem invasão linfática apresentam melhor prognóstico, quando comparados com aqueles maiores ou que já apresentam metástase para linfonodos (FERREIRA et al., 2009).

Neste estudo, 14 (43,75%) animais apresentaram processo neoplásico em fase inicial (nódulos de até três centímetros). No entanto, a maioria desses animais

apresentaram tumores moderadamente diferenciados (Grau II) e pouco diferenciados (Grau III), totalizando 8 (25%) animais (gráfico 2). Este resultado pode significar que tumores menores que três centímetros, podem ter um comportamento biológico agressivo, ressaltando a importância da excisão cirúrgica precoce, bem como o exame de histopatológico para determinar o melhor prognóstico desses pacientes.

A classificação histológica dos tumores mamários tem valor estabelecido pela sua importância em prever o comportamento biológico do tumor (BOSTOCK, 1986). Neste estudo, o carcinoma em tumor misto foi o tipo histológico predominante (43,75%) sendo este o subtipo de carcinoma mais comumente descrito por outros autores (CASSALI, 2000; CAVALCANTI & CASSALI, 2006; RIBEIRO et al., 2009). Este tipo de neoplasia origina-se da transformação maligna de componentes epiteliais do tumor misto benigno (MOULTON & ROSENBLAT, 1970). Os outros carcinomas corresponderam a tubular, papilífero, sólido e complexo.

Em humanos, a combinação do tipo e o grau histopatológico pode resultar em uma avaliação mais precisa do prognóstico do câncer de mama. O grau histológico também pode fornecer informações úteis para prever a resposta à quimioterapia e, portanto, ser um fator preditivo (TAVASOLY et al., 2013). Neste estudo, a maioria dos carcinomas foram classificados como grau I e II, com apenas 21,87% das lesões sendo classificadas como grau III.

O exame de histopatológico permitiu a avaliação das margens após a mastectomia, e 53% das cadelas acometidas por carcinoma mamário apresentaram margens livres após a exérese cirúrgica. Segundo Rutteman et al. (2001), em cães o melhor plano cirúrgico envolve a remoção de todo tecido afetado com amplas margens cirúrgicas. Não existe nenhum benefício de remover mais tecido do que o necessário para obter margens cirúrgicas adequadas. Contudo, é importante ressaltar que neste estudo 47% das cadelas apresentaram margens comprometidas após a mastectomia, sendo 18,75% de tumores menores que 3 cm. Destes, 12,5 % eram de cadelas de pequeno porte (peso < 10 kg). Este resultado pode ser explicado pelo fato de cadelas de porte pequeno possuírem uma relação entre o tamanho tumoral e a área de superfície corporal diferente de um cão de grande porte, o que pode ter favorecido o comprometimento das margens cirúrgicas.

Em relação aos dados hematológicos, não foi observado diferença significativa entre as quantidades de eritrócitos nas amostras de cadelas acometidas por carcinoma mamário em relação ao grupo controle, não corroborando com os autores Estrela-Lima et al. (2012). No entanto, verificou-se anemia discreta a moderada em 6 cadelas (18,75%). A prevalência e relevância clínica da presença de anemia em cães com neoplasia mamária é desconhecida (MILLER et al., 2009; CHILDRESS, 2012). Entretanto, em mulheres com câncer de mama existe uma alta incidência de anemia no diagnóstico da doença e correlação com pior resposta ao tratamento, prognóstico e sobrevida (KIRSHNER et al., 2004; LEONARD et al., 2005). O mecanismo dessa alteração está associada à secreção tumoral de citocinas como a IL-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) responsáveis por promover sequestro de ferro, ocasionar a redução da meia vida das hemácias (IL-1) e da secreção de eritropoietina (TNF e IL-6). Em cadelas com carcinoma mamário as anemias hemolíticas, como a microangiopática e a imunomediada por formação de imunocomplexo já foram descritas (MANGIERI, 2009).

Neste estudo, verificou-se leucopenia em 15,62% das cadelas, sendo 6,25% acompanhado de neutropenia, este resultado não está de acordo com a literatura. Em cadelas acometidas com neoplasia mamária a alteração mais frequentemente observada nos estudos foi leucocitose por neutrofilia (DA SILVA et al., 2014). Este resultado pode ser explicado devido à liberação de fatores supressores da medula, pelas células neoplásicas, bem como a uma diminuição da meia-vida dos leucócitos circulantes (BERGMAN, 2013), que podem ter levado a diminuição nas quantidades totais de leucócitos. No entanto, neste estudo não houve diferença significativa entre o número total de leucócito entre o grupo doente e controle, mas foi observado um aumento no número de eosinófilos e uma diminuição dos neutrófilos bastonetes, monócitos e linfócitos de cadelas portadoras de carcinoma mamário quando comparadas ao grupo controle (Tabela 3). Entretanto, a quantidade total de eosinófilos, neutrófilos bastonetes, monócitos e linfócitos estão dentro dos valores de referência para espécie, portanto não possuem significado clínico. Contudo, é importante ressaltar que sete (21,87%) cadelas apresentaram linfopenia, a redução dos linfócitos em pacientes com câncer, pode ser devido a uma diminuição na sua produção, ou pela destruição e utilização dos linfócitos (BONE E LAUDER 1974).

Em pacientes humanos com câncer de mama a contagem de linfócitos no sangue periférico tem valor prognóstico para a recorrência do tumor sendo pior em pacientes com linfopenia, seja basal ou induzida pela quimioterapia (CONESA et al. 2012).

## 2.5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o carcinoma em tumor misto foi o tipo histopatológico mais frequente. A maioria das cadelas portadoras de carcinoma mamário eram idosas, não castradas ou castradas tardiamente, com tumores em estágios iniciais e em sua maioria apresentando-se em Grau II e III. A anemia, leucopenia e a linfopenia foram as alterações hematológicas mais encontradas em cadelas com carcinoma mamário.

## 2.6 REFERÊNCIAS

ALLRED, D. C.; HARVEY, J. M.; BERARDO, M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. **Modern Pathology**, v.11, n. 2, p.155-168, 1998.

BERGMAN, P.J. Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW, S. J, VAIL, D. M, PAGE, R. L. Withrow & MacEwen's **Small animal clinical oncology**. 5. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013. p. 83-97.

BONE, G.; LAUDER, I. Cellular immunity, peripheral blood lymphocyte count and pathological staging of tumours in the gastrointestinal tract. **British Journal of Cancer**, v.30, n.3. p.215-221, 1974.

BOSTOCK, D.E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **The British Veterinary Journal**, v.142, n.1, p.01-19, 1986.

CASSALI, G. D. **Estudo morfológico, imunohistoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – aspectos comparativos com neoplasias da mama humana.** 2000. 80 f. Doutorado (Doutorado em Patologia Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E.; ESTRELA-LIMA A.; DE NARDI, A. B.; GHEVER, C.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; OLIVEIRA, L. O.; SUEIRO, F. A. R.; BESERRA, H. E. O.; BERTAGNOLLI, A. C.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; CAMPOS, C. B.; ARAUJO, M. R.; CAMPOS, L. C.; MONTEIRO, L. N.; NUNES, F. C.; HORTA, R. S.; REIS, D. C.; LUVIZOTTO, M. C. R.; MAGALHÃES, G. M.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; TANAKA, N. M.; GRANDI, F.; UBUKATA, R.; BATSCHINSKI, K.; TERRA, E. M.; SALVADOR, R. C. L.; JARK P. C.; DELECRODI, J. E. R.; NASCIMENTO, N. A.; SILVA, D. N.; SILVA, L. P.; FERREIRA, K. C. R. S.; FREHSE, M. S.; DI SANTIS, G. W.; SILVA, E. O.; GUIM, T. N.; KERR, B.; CINTRA, P. P.; SILVA, F. B. F.; LEITE, J. S.; MELLO, M. F. V.; FERREIRA, M. L. G.; FUKUMASU, H.; SALGADO, B. S.; TORRES, R. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v.7, n.2, p.38-69, 2014.

CAVALCANTI, M. F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas – revisão. *Revista Clínica Veterinária*, v. 11, n.61, p.54-64, 2006.

CHILDRESS, O. M. Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 42, n.1, p. 123-55, 2012.

CONESA, M. A. V.; GARCIA-MARTINEZ, E.; BILLALABEITIA, E. G.; BENITO, A. C.; GARCIA, T.G.; GARCIA, V. V.; DE LA PENÃ, F. A. Predictive value of peripheral blood lymphocyte count in breast cancer patients treated with primary chemotherapy. *The Breast*, v. 21, n.4, p.468-74, 2012.

DALECK, C.R.; FRANCESCHINI, P. H.; ALESSI, A. C.; SANTANA, A. E.; MARTINS, M. I. M. Aspectos clínico e cirúrgicos do tumor mamário canino. **Ciência Rural**, v.28, n.1, p. 95-100, 1998.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap 25, p. 372-383.

DONNAY, I.; RAUIS, J.; DEVLEESHIUWER, N.; WOUTERS-BALLMAN, P.; LECLERCQ, G.; VERSTEGEN, J. Comparison of estrogen and progesterone receptor expression. In normal and tumor mammary tissues from dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.56, n.9, p.1188-1194, 1995.

ESTRELA-LIMA, A.; ARAÚJO, M. S. S.; COSTA-NETO, J. M.; RIBEIRO, L. G. R.; DAMASCENO, K. A.; D'ASSIS, M. J. M. H.; MARTINS-FILHO, O. A., TEIXEIRA-CARVALHO, A.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Understanding the immunological heterogeneity of canine mammary carcinomas to provide immunophenotypic features of circulating leukocytes as clinically relevant prognostic biomarkers. **Breast Cancer Research Treatment**, v.131, n.3, p.751-63, 2012.

ELSTON, C. W; ELLIS, I. O. Assessment of histological grade. In: Elston CW, Ellis IO. (eds.), **Systemic pathology – The breast**. 3 ed. London, UK: Churchill & Livingstone, 1998. p. 365-384.

ESTRELA-LIMA, A.; ARAÚJO, M. S. S.; COSTA-NETO, J. M.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; BARROUIN-MELO, S. M.; CARDOSO, S. V.; MARTINS-FILHO, A. O.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Immunophenotypic features of tumor infiltrating lymphocytes from mammary carcinomas in female dogs associated with prognostic factors and survival rates. **BMC Cancer**, v.10, p.256-270, 2010.

FELICIANO, M. A. R.; SILVA, A. S.; PEIXOTO, R. V. R.; GALERA, P. D.; VICENTE, W. R. R. Estudo clínico, histopatológico e imunoistoquímico de neoplasias mamárias em cadelas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p. 1094-1100, 2012.

FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; CAVALCANTI, M. F.; SCHMITT, F. C.; CASSALI, G. D. The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.7, n.4, p.230-235, 2009.

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

KARAYANNOPOULOU, M.; KALDRYMIDOU, E.; CONSTANTINIDIS, T. C.; DESSIRIS, A. Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. **Journal Comparative pathology**, v. 133, n.4, p.246-252, 2005.

KIRSHNER, J.; HATCH, M.; HENNESSY, D. D.; FRIDMAN, M.; TANNOUS, R. E. Anemia in stage II and III breast cancer patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy. **Oncologist**, v. 9, n. 1 p. 25-32, 2004.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Missouri: WB Saunders, 2007. p. 619–633

LEONARD, R. C.; UNTCH, M.; VON KOCH, F. Management of anaemia in patients with breast cancer: role of epoetin. **Annals of Oncology**. v. 16, n. 5, p.817-824, 2005.

LIMA, G. R.; MARTINS, N. V. **Onco Ginecologia**. São Paulo: Atheneu, 1992. p. 17-23.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. New York: McGraw Hill. 1968. 258p.

MANGIERI, J. Síndromes Paraneoplásicas. In DALECK, C.R, DE NARDI, R.B, RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 237-252.

MILLER, A. G.; MORLEY, P. S.; RAO, S.; AVERY, A.C.; LANA, S.E.; OLVER, C. S. Anemia is associated with decreased survival time in dogs with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.23, p.116-12, 2009.

MOTA, E. F. F.; OLIVEIRA, S. R. Diagnóstico citológico em medicina veterinária. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 30, n. 1, p. 29-47,1999.

MOULTON, J. E.; ROSENBLAT, L. S. Canine mammary tumors. **Veterinary Pathology**, v.7, p.289-320, 1970.

OLIVEIRA FILHO, J. C.; KOMMERS, G. D.; MASUDA, E. K.; MARQUES, M. F. P. P.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

OLIVEIRA, L. O.; OLIVEIRA, T.; LORETTI, A. P.; RODRIGUES, R.; DRIEMEIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.2, p. 105-110, 2003.

OWEN, L. N. TNM Classification of tumors in Domestic Animals. Geneva: World Health Organization, 1980. 53p.

RIBEIRO, L. G. R.; DAMASCENO, K.; COSTA NETO, J. M.; D'ASSIS, M. J. M. H.; SILVA, N. S.; AGUIAR, P. H. P.; CASSALI, G. D.; ESTRELA-LIMA, A. Expressão da Cox-2 nos carcinomas mamários de cadela. **Veterinária em Foco**, v. 6, p.134-139, 2009.

RUTTERMAN, G. R.; WITHROW, S. J.; MACEWAN, E. G.; Tumors of mammary gland, in Withrow SJ, MacEwan EG (eds): **Small Animal Clinical Oncology**, (ed 3). Philadelphia, PA, WB Saunders Co, 2001, p.455-473

SLEECKX, N.; DE ROOSTER, H.; VELDHUIS KROEZE, E. J. B.; VAN GINNEKEN, C.; VAN BRANTEGEM, L. Canine mammary tumours, an overview. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 1112-1131, 2011.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. **The Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v.33, n.3, p. 573- 596, 2003.

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

SORENMO, K. U.; WORLEY, D R.; GOLDSCHMIDT, M. H. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 5 ed. Missouri: WB Saunders, 2013. Cap. 27. p. 538–556.

STOCKHAUS, C.; KOHN, B.; RUDOLPH, R.; BRUNNBERG, L.; GIGER, U. Correlation of haemostatic abnormalities with tumor stage and characteristics in dogs with mammary carcinoma. **The Journal of Small Animal Practice**, v.40, p.326–31, 1999.

TAVASOLY, A.; GOLSHAHI, H.; REZAIE, A.; FARHADI, M. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. **Veterinary Research Forum**, v.4, n.1, p. 25-30, 2013.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. **Neoplasias mamárias: idade ao diagnóstico, raça e cadeia mamária mais acometida em cadelas atendidas no HV da UNESP, Jaboticabal, SP**. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. Anais do VII Oncovet, 2012. p. 20-22

### **CAPÍTULO 3 - Investigação da Integridade do Sistema Hemostático em cadelas acometidas de carcinoma mamário**

**RESUMO** - O objetivo deste estudo foi avaliar as variáveis hemostáticas da coagulação em cadelas com carcinoma mamário, associando-as com o tipo e grau histopatológico bem como com o estadiamento clínico da doença e o tamanho do tumor. Foram selecionadas 62 cadelas aleatoriamente sem distinção de idade e raça, sendo 30 cadelas saudáveis e ausentes de neoplasias mamárias como grupo controle, e 32 cadelas com diagnóstico histopatológico de carcinoma mamário ausentes de metástase à distância, bem como de doenças que pudessem interferir na integridade do sistema hemostático. Todas as cadelas com neoplasias mamárias foram submetidas ao exame físico da glândula mamária, hemograma, creatinina e ALT, exames de imagens e testes de coagulação. Verificou-se neste estudo que existe uma forte associação do grupo doente com os parâmetros hemostáticos avaliados ( $p \leq 0,05$ ) bem como diferença significativa entre os grupos estudados ( $p \leq 0,05$ ). E foi observada uma forte associação do Grau histopatológico I com os parâmetros hemostáticos TTPA, TP e fibrinogênio ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados obtidos neste estudo sugerem que cadelas portadoras de carcinoma mamário em sua maioria apresentam perda da integridade hemostática e as alterações da hemostasia foram influenciadas pelo grau histopatológico e pelo estadiamento clínico da doença.

**Palavras-chave:** Hemostasia, coagulação, plaquetas, fibrinogênio, câncer.

## **Research of Integrity of the hemostatic system in female dogs with mammary carcinoma**

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the hemostatic coagulation variables in dogs with mammary carcinoma, associating them to the type and histological degree, the clinical staging of the disease, and the tumor size. We randomly selected 62 female dogs regardless of their age or breed, of which 30 female dogs healthy and showed no mammary neoplasia and were considered the control group, and 32 dogs with histopathological diagnosis of mammary carcinoma and absent distant metastasis and disease that could interfere with the integrity of the hemostatic system. The 32 female dogs with carcinoma were submitted to physical mammary gland, blood count, creatinine, ALT, imaging examinations and coagulation tests. We found that there is a strong relationship between the patient group and the evaluated hemostatic parameters ( $p \leq 0,05$ ), and significant differences among the patient subgroups ( $p \leq 0,05$ ). Moreover, a strong relationship of the histopathological degree I with hemostatic parameters APTT, PT and fibrinogen was observed ( $p \leq 0,05$ ). The results of this study suggest that dogs suffering from mammary carcinoma frequently present loss of hemostatic integrity and changes of hemostasis, that were associated with the histological degree and the clinical staging of the disease.

**Keywords:** hemostasis, coagulation, platelets, fibrinogen, cancer.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios hemostáticos são achados comuns em pacientes humanos com câncer (ANDREASEN et al., 2012), bem como em pequenos animais (KRISTENSEN et al., 2008; CHILDRESS, 2012). As células malignas são capazes de alterar o mecanismo hemostático e induzir a ativação da coagulação sanguínea (TABAK et al., 2011). Entretanto, a patogênese da ativação da coagulação sanguínea em pacientes com câncer é complexa e multifatorial (FALANGA et al., 2013).

Alterações da hemostasia são síndromes paraneoplásicas comuns em cães (BERGAM, 2007). Em um estudo da coagulação sanguínea de cães com neoplasias foram detectados parâmetros hemostáticos anormais, como a trombocitopenia, aumento e diminuição do fibrinogênio e o prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (MADEWELL et al., 1980). Contudo, em uma pesquisa recente de cães com diferentes tipos de carcinoma a trombocitose e o aumento do fibrinogênio foi o achado mais frequente em uma população de 32 cães doentes (SAAVEDRA et al., 2011).

Cadelas acometidas por carcinoma mamário apresentaram anormalidades hemostáticas, como o aumento do fibrinogênio e alterações dos tempos de tromboplastina parcial ativada e de protrombina, principalmente nos animais em estágio III e IV, o que pode sugerir um estado de hipercoagulabilidade (STOCKHAUS et al., 1999).

A coagulação intravascular disseminada (CID) é uma manifestação do estado de hipercoagulabilidade que comumente acompanha o câncer, principalmente em estágios avançados ou metastáticos (CHILDRESS, 2012). Em cadelas com carcinoma mamário a coagulação intravascular disseminada já foi identificada (MISCHKE, 1998).

Apesar do conhecimento da importância do diagnóstico dos distúrbios hemostáticos, os testes de coagulação raramente são solicitados pelo médico veterinário na rotina clínica (KRISTENSEN et al., 2008). Os marcadores

hemostáticos laboratoriais podem refletir diretamente a patogenia das neoplasias e consiste em uma ferramenta importante para detectar e controlar a progressão do tumor e o risco de trombose (PINHO E COUTINHO, 2005).

Tendo em vista a escassez de informações sobre a integridade do sistema hemostático em cadelas com carcinoma mamário, o objetivo deste estudo foi investigar possíveis alterações da coagulação sanguínea, associando - as com o tamanho do tumor, estadiamento clínico da doença e com o tipo e grau histopatológico do tumor.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Animais**

Foram selecionadas 62 cadelas aleatoriamente sem distinção de idade e raça, sendo 30 cadelas ausentes de neoplasias mamárias, clinicamente e laboratorialmente saudáveis como grupo controle, e 32 cadelas com diagnóstico histopatológico de carcinoma mamário com ausência de metástase a distância confirmada por métodos convencionais de exame radiográfico de tórax em três projeções e ultrassonografia abdominal. Os linfonodos inguinais das 32 cadelas com neoplasias mamárias foram submetidos ao exame de histopatológico, para pesquisa de metástase.

Nesse estudo foram excluídas cadelas que possuíam outras doenças ou utilizassem medicamentos que pudessem interferir na integridade do sistema hemostático. Os animais participantes foram provenientes do atendimento dos Setores de Obstetrícia e de Oncologia do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV - UNESP - Câmpus Jaboticabal. Todos os cães foram submetidos a exames laboratoriais (hemograma, creatinina e alanina aminotransferase), para descartar possíveis doenças concomitantes. Cadelas com neoplasia mamária foram submetidas ao estadiamento clínico do tumor pelo método TNM proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotado pelo Conselho Nacional de controle de Experimentação Animal (CONCEA), sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV/UNESP, protocolo nº 009735/14.

A avaliação histopatológica das 32 cadelas com carcinoma mamário permitiu classificá-las em grupos de acordo com o tipo histopatológico: Carcinoma em tumor misto 43,75% (14/32), Carcinoma Tubular 25% (8/32), Carcinoma Papilífero 15,62% (5/32), Carcinoma Sólido 9,37% (3/32) e Carcinoma complexo 6,25% (2/32). O exame de histopatológico também permitiu classificar os carcinomas mamários em grupos de acordo com o grau histopatológico: Grau I 40,6% (13/32), Grau II 37,5 % (12/32) e Grau III 21,8% (7/32). E a partir da avaliação clínica do tumor e do exame histopatológico dos linfonodos, realizou-se o estadiamento tumoral conforme o sistema TNM adaptado para tumores mamários caninos, distribuindo-se os animais do estudo em quatro estádios: estágio I 43,75% (14/32), estágio II 12,5% (4/32), estágio III 21,8% (7/32), estágio IV 21,8% (7/32).

### **3.2.2 Coletas de amostras biológicas**

Todas as cadelas com neoplasia mamária foram submetidas à mastectomia unilateral total e ao exame de histopatológico. As amostras de sangue foram coletadas antes do procedimento cirúrgico, apenas em cadelas sem doenças concomitantes e laboratorialmente saudáveis. Os animais foram submetidos à coleta de sangue por meio de venopunção da veia jugular com auxílio de agulha e seringa de 5 ml. Inicialmente, foram coletados 4 ml de sangue em tubo contendo anticoagulante citrato de sódio a 3,2%, para realização dos testes hemostáticos, e 1 ml de sangue em tubos contendo 7,2 mg de anticoagulante ácido etilenodiaminotetracetato dipotássico ( $K_2EDTA$ ) para obtenção do plaquetograma.

Os tubos contendo amostras sanguíneas com  $K_2EDTA$  foram imediatamente processados e analisados, enquanto os tubos contendo amostras sanguíneas com citrato de sódio foram centrifugados a 2.500 rpm (FCR: 1.260 g) durante 30 minutos à temperatura de 4°C. Posteriormente, o plasma citratado foi separado em frações e

acondicionado em eppendorfs devidamente identificados e armazenados a temperatura de -30°C até o momento das análises.

### **3.2.3 Processamento das amostras**

Os parâmetros hemostáticos foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária “Prof. Dr. Joaquim Martins Ferreira Neto” do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV/UNESP. O sangue coletado em tubos contendo K<sub>2</sub>EDTA foi homogeneizado e as contagens globais das plaquetas foram realizadas em contador automático de células (ABC VetCounter, Doriva ABX – Montpellier, França)

Para as determinações de fibrinogênio, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), as amostras de plasma citratado foram descongeladas em temperatura ambiente e as análises conduzidas conforme instruções do fabricante, em coagulômetro (Quick Timer II, Drake – São Jose do Rio Preto, SP). O modelo determina o tempo de coagulação de uma amostra de plasma sanguíneo (150µL) utilizando um sistema óptico que detecta a variação brusca da densidade óptica da amostra no instante da coagulação. Para a determinação de tais variáveis, foram utilizados conjuntos de reagentes comerciais (Labtest - Sistema de Diagnósticos Ltda. - Lagoa Santa, Brasil).

Todas as amostras foram analisadas em duplicata. Os limites de referência para TP, TTPA, plaquetas e fibrinogênio foram determinados a partir dos valores de referência local (Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da FCAV/UNESP-Jaboticabal).

### **3.2.4 Análise estatística**

A normalidade dos dados foi avaliada a partir do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação entre as médias dos parâmetros hemostáticos entre o grupo controle e o grupo doente, foi aplicado o teste *t* de Student. . Para comparação das médias dos parâmetros hemostáticos (plaquetas, TP, TTPA e

fibrinogênio) entre os diferentes subgrupos avaliados (tipo e grau histopatológico, estadiamento clínico da doença e tamanho do tumor) foram utilizadas análises de variância (ANOVA) simples. A diferença entre essas médias foi determinada através do teste de comparações múltiplas de Tukey. Estas análises foram avaliadas utilizando-se o nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%, processadas no software SPSS Statistics.

Para avaliar as possíveis associações entre as alterações hemostáticas e os diferentes grupos e subgrupos de cadelas portadoras de carcinoma mamário, foi utilizado a Análise de Correspondência Múltipla (ACM), processadas no software Statistic 7.

Os parâmetros hemostáticos considerados neste estudo foram o número de plaquetas, o tempo de protrombina, o tempo de tromboplastina parcial ativada e o fibrinogênio.

### 3.3 RESULTADOS

As análises univariadas, os valores das médias e seus respectivos desvios padrão dos parâmetros hemostáticos avaliados estão descritos nas Tab. 1 e 2.

Tabela 1. Médias (e respectivos desvio padrão) dos parâmetros hemostáticos (contagem de plaquetas, do tempo de protrombina, de tempo de tromboplastina parcial ativada e da concentração de fibrinogênio) do grupo controle do grupo doente. Jaboticabal, 2015.

Parâmetros	Grupos	
	Controle	Doente
Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	299.5 $\pm$ 99.1 <sup>b</sup>	417.7 $\pm$ 166.2 <sup>a</sup>
TP (seg)	6.5 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	15.2 $\pm$ 7.1 <sup>a</sup>
TTPA (seg)	9.2 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	20.2 $\pm$ 10.3 <sup>a</sup>
Fibrinogênio (mg/dL)	251.4 $\pm$ 32.8 <sup>b</sup>	385.0 $\pm$ 136.0 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste *t* de student. TP = tempo de protrombina, TTPA = tempo de tromboplastina parcial ativada.

As anormalidades hemostáticas nos tempos de protrombina (TP) e de tromboplastina parcial ativada (TTPA) foram identificadas em 20 animais doentes (62,5%). Verificou-se que existe diferença significativa dos parâmetros hemostáticos (plaquetas, TP, TTPA e fibrinogênio) entre o grupo doente e controle ( $p < 0,05$ ) (Tab.1).

A média do número de plaquetas no sangue foi significativamente maior em cadelas portadoras de carcinoma mamário quando comparadas ao grupo controle (Tab.1). O aumento na contagem do número de plaquetas ( $> 400.000 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) foi observado em 15 cadelas doentes (46%). Contudo, não houve diferença significativa no número de plaquetas entre os subgrupos estudados (Tab.2).

A hiperfibrinogenemia ( $> 300 \text{ mg/dl}$ ) foi observada em 21 (65,6%) indivíduos doentes, cujos os valores aumentaram conforme, o grau histopatológico, o estadiamento clínico e o tamanho do tumor. Neste estudo, verificou-se que existe diferença significativa nos níveis de fibrinogênio entre os estádios IV, II e I ( $p < 0,05$ ) (Tab.2)

Entre os animais doentes não houve diferença significativa dos parâmetros hemostáticos e o tipo histopatológico do tumor, mas foi observada diferença significativa dos tempos de TP, TTPA e fibrinogênio entre o grau histopatológico I e os graus histopatológicos II e III ( $p < 0,05$ ). Neste estudo não houve diferença dos tempos de TP e TTPA entre os estádios clínicos I, III e IV (Tab.2).

Tabela 2. Médias e respectivos desvio padrão (de plaquetas, do tempo de protrombina, de tempo de tromboplastina parcial ativada e da concentração de fibrinogênio) entre os diferentes grupos avaliados (tipo e grau histopatológico, estadiamento clínico da doença e tamanho do tumor). Jaboticabal, 2015.

<b>Subgrupos (doentes)</b>	<b>Plaquetas (x10<sup>3</sup>)/µl</b>	<b>TP (seg.)</b>	<b>TTPA (seg.)</b>	<b>Fibrino(mg/dl)</b>
<b>Tipo histopatológico</b>				
Carcinoma complexo	375.5± 38.9 <sup>a</sup>	11.6 ±10.7 <sup>a</sup>	16.6 ±15.3 <sup>a</sup>	396 ±148.5 <sup>a</sup>
Carcinoma em tumor misto	421.6 ± 130.8 <sup>a</sup>	14.5 ±6.6 <sup>a</sup>	19.2 ±8.4 <sup>a</sup>	353.4 ±125.3 <sup>a</sup>
Carcinoma papilífero	458.2 ±226.6 <sup>a</sup>	19.4 ±7.5 <sup>a</sup>	25.9 ±9.7 <sup>a</sup>	481.2 ±124.7 <sup>a</sup>
Carcinoma Sólido	339.7 ± 170.2 <sup>a</sup>	20.3 ±10.8 <sup>a</sup>	29.2 ±15.9 <sup>a</sup>	523.3 ±196.1 <sup>a</sup>
Carcinoma tubular	425.1 ±219.8 <sup>a</sup>	12.7 ±5.3 <sup>a</sup>	16.1 ±9.6 <sup>a</sup>	325.6 ±94.5 <sup>a</sup>
<b>Grau Histopatológico</b>				
Grau 1	424.8 ±164.6 <sup>a</sup>	9.2 ±4.4 <sup>b</sup>	12.2 ±6.2 <sup>b</sup>	292.0 ±86.1 <sup>b</sup>
Grau 2	444.6 ±132.7 <sup>a</sup>	18.9 ±5.9 <sup>a</sup>	23.4 ±7.8 <sup>a</sup>	427.6 ±129.2 <sup>a</sup>
Grau 3	358.3 ±224.9 <sup>a</sup>	19.9 ±5.4 <sup>a</sup>	29.7 ±9.4 <sup>a</sup>	484.7 ±127.4 <sup>a</sup>
<b>Estadiamento Clínico</b>				
Estadiamento I	382.9 ±158.8 <sup>a</sup>	14.3 ±5 <sup>a, b</sup>	18.4 ±6.8 <sup>a, b</sup>	338.1 ±88.1 <sup>b</sup>
Estadiamento II	502.8 ±246.4 <sup>a</sup>	8.1 ±5.4 <sup>b</sup>	8.5 ±4.4 <sup>b</sup>	301.3 ±58.4 <sup>b</sup>
Estadiamento III	449.9 ±170.1 <sup>a</sup>	15.2 ±8.6 <sup>a, b</sup>	20.6 ±10.9 <sup>a, b</sup>	372.4 ±165 <sup>a, b</sup>
Estadiamento IV	406.4 ±140.7 <sup>a</sup>	21.1 ±6.6 <sup>a</sup>	30.3 ±10 <sup>a</sup>	539.3 ±110 <sup>a</sup>
<b>Tamanho do tumor</b>				
Tamanho < 3 cm	382 ±158.1 <sup>a</sup>	15.3±5.8 <sup>a</sup>	21.1 ±9.8 <sup>a</sup>	367.8 ±117.9 <sup>a</sup>
Tamanho 3-5 cm	502.8 ±246.4 <sup>a</sup>	8.1 ±5.4 <sup>a</sup>	8.5 ±4.4 <sup>b</sup>	301.3 ±58.4 <sup>a</sup>
Tamanho > 5 cm	436.8 ±149.3 <sup>a</sup>	17.3 ±8.2 <sup>a</sup>	23 ±10 <sup>a</sup>	435.8 ±162.7 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos avaliados, a partir da análise de variância (ANOVA) simples e teste de comparações múltiplas de Tukey. TP = tempo de trombina, TTPA = tempo de tromboplastina parcial ativada, Fibrino = Fibrinogênio.

Os resultados das Análises de Correspondência Múltipla constam nos mapas perceptuais das Fig. 1 e 2.

Na Fig. 1 vê-se dois grupos contendo categorias que se inter-relacionam e que se contrastam. No lado esquerdo estão aquelas categorias que se associaram com o grupo de animais que se denominou CONTROLE e em contraste aquelas categorias associadas ao grupo de animais que se denominou DOENTE. A qualidade do mapa perceptual foi de 89,12% (dimensão 1: 72,59% e dimensão 2: 16,53%).

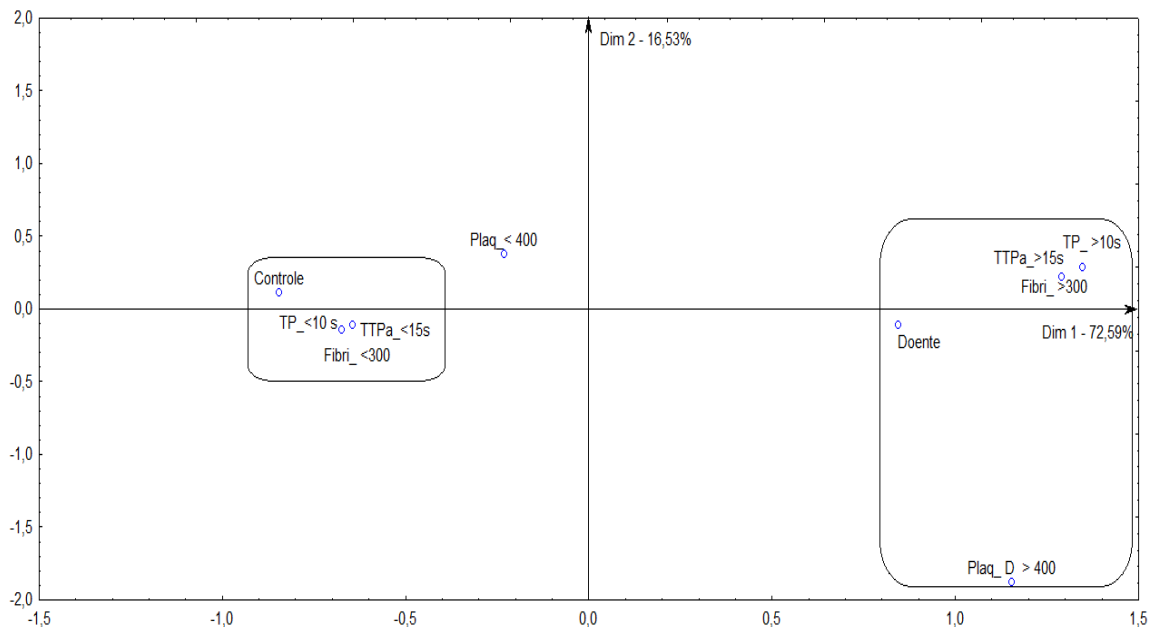


Figura 1. Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla, contendo os parâmetros hemostáticos obtidos entre os grupos estudados (Controle e Doente). Os parâmetros presentes no mapa são plaquetas (Pla<sub>q</sub>), tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e fibrinogênio (Fibri). Retângulos representam associações fortes ( $p < 0,05$ ).

Na Fig 2 vê-se quatro grupos de inter-relacionamento de categorias. No lado esquerdo mostra uma associação entre as categorias G\_I, TPPa\_<15s, TP\_<10s e Fibri\_<300 contrastando com a associação entre as categorias TP\_>10s e TPPa\_>15s. No centro e na parte superior tem-se uma associação entre as categorias T ≤ 3 e I\_II em contraste com a associação entre as categorias T ≥ 3 e III. A qualidade do mapa perceptual foi de 49,06% (dimensão 1: 29,63% e dimensão 19,43%).

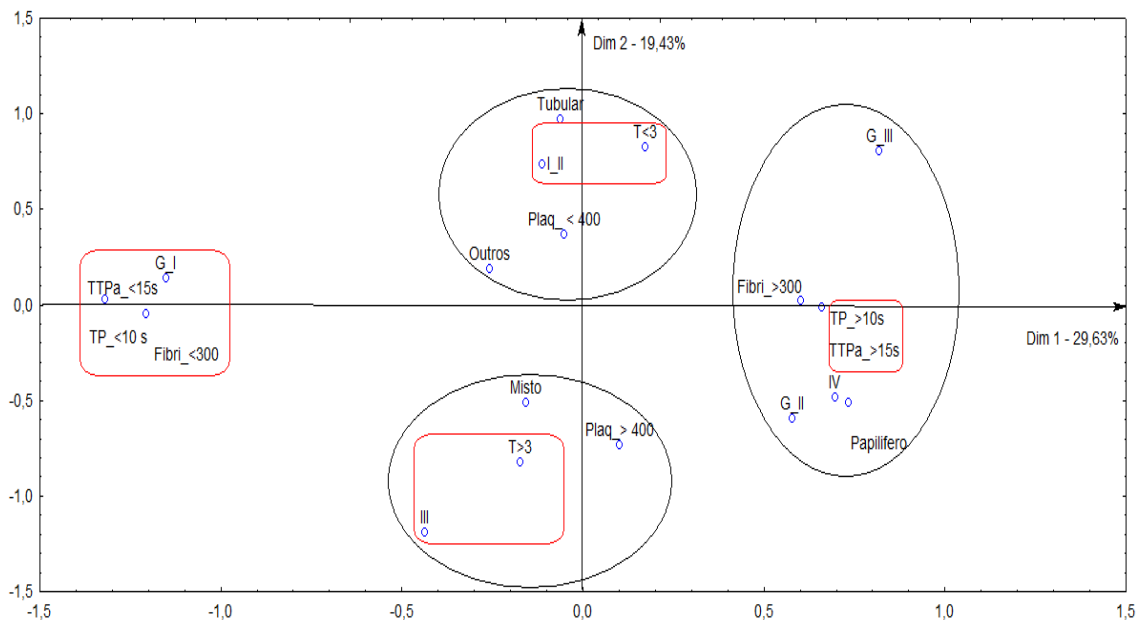


Figura 2. Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla, contendo os parâmetros hemostáticos (Plaq, TP, TPPa e Fibri) obtidos entre os subgrupos estudados (Tipo Histopatológico, Estadiamento Clínico I\_II, III, IV, Grau Histopatológico G\_I, G\_II, G\_III e tamanho do tumor T ≤ 3 e T ≥ 3). Retângulos representam associações fortes ( $p < 0,05$ ) e círculos representam associações fracas ( $p > 0,05$ ).

### 3.4 DISCUSSÃO

Os mecanismos que conduzem a ativação do sistema hemostático em pacientes com câncer incluem o fator tissular, o fator pró-coagulante do câncer e as citocinas inflamatórias (TABAK et al., 2011). Entretanto, já está bem estabelecido que os componentes da hemostasia, como as plaquetas, proteínas da coagulação e da fibrinólise apresentam um papel importante no crescimento e na progressão do tumor (BOGENRIEDER E HERLY, 2003).

Neste estudo, a média total de plaquetas no sangue de cadelas acometidas de carcinoma mamário foi maior quando comparadas ao grupo controle. A trombocitose é uma condição rara em pacientes oncológicos na veterinária, porém é observada frequentemente em pacientes humanos com câncer (DESANCHO E RAND, 2010). No entanto, alguns estudos recentes contradizem os estudos anteriores, citando que a trombocitose é um achado comum em cães com neoplasia (HAMMER, 1991; DESANCHO E RAND, 2010) e que a verdadeira incidência de trombocitose em cães com neoplasia pode estar sendo subnotificada (CHILDRESS, 2012).

A trombocitose está associada ao estado de hipercoagulabilidade que acompanha o câncer e a um prognóstico negativo de sobrevida em pacientes humanos (SYMBAS et al., 2000; GUNGOR et al., 2009). O mecanismo de trombocitose em pacientes com neoplasia não está completamente esclarecido, mas acredita-se que essa desordem possa ocorrer em resposta à liberação de fatores tumorais pro-angiogênicos e a citocinas inflamatórias (IL-1 e IL-6) ou fatores de crescimento hematopoiéticos (SAAVEDRA et al., 2011; CHILDRESS, 2012) secretados ou induzidos pelo tumor.

O prolongamento dos tempos de protrombina (TP) e de tromboplastina parcial ativada (TTPA) observados neste estudo atingiram índices superiores aos descritos na literatura, que são de 43% em cadelas com carcinoma mamário (STOCKHAUS et al., 1999). Neste estudo, foi evidenciada uma associação forte do grupo doente com os parâmetros hemostáticos avaliados ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 1), bem como, diferença significativa entre os grupos estudados ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 1). No entanto, estes

resultados não estão de acordo com o estudo realizado pelos autores Saavedra *et al.* (2011), em que não foi observado diferença significativa do TP e TTPA entre cães com diferentes tipos de carcinoma e o grupo controle. As anormalidades nos tempos de coagulação identificadas em cadelas portadoras de carcinoma mamário neste trabalho podem estar associadas à secreção de citocinas inflamatórias que podem promover o aumento no consumo dos fatores de coagulação (ANDREASEN *et al.*, 2012).

No entanto, não foi evidenciada diferença significativa dos tempos de TP e TTPA entre os estádios clínicos I, III e IV, mas foi observado o prolongamento dos tempos de coagulação, contradizendo um estudo que observou alterações da coagulação somente em cadelas em estadiamento III e IV (STOCKHAUS *et al.*, 1999). Este resultado pode ser explicado pelo fato dos animais em estadiamento clínico I no estudo apresentarem em sua maioria tumores moderadamente diferenciados (Grau II) e pouco diferenciados (Grau III) e conseqüentemente alterações nos parâmetros hemostáticos (TTPA, TP e fibrinogênio).

Observou-se uma forte associação do Grau histopatológico I com os parâmetros hemostáticos ( $p \leq 0,05$ ) (TTPA, TP e fibrinogênio) dentro da normalidade (Fig. 2), demonstrando que cadelas portadoras de carcinoma mamário Grau I não apresentaram alterações da coagulação e possuem comportamento hemostático semelhante ao grupo controle (animais saudáveis). Contudo, foi observada uma fraca associação entre o Grau II, Grau III e os tempos de TP e TTPA (Fig. 2). Entretanto, ocorreu uma diferença estatística significativa dos tempos de TP, TTPA e fibrinogênio entre o Grau I e os Graus II e III ( $p \leq 0,05$ ) que apresentaram prolongamento dos tempos de coagulação e aumento nos níveis de fibrinogênio (Tab. 2).

A hiperfibrinogenemia é comum em cães com doença maligna (WADA *et al.*, 2005), e foi a anormalidade hemostática mais frequente neste estudo, atingindo 65% das cadelas com carcinoma mamário, cujos valores aumentaram conforme a progressão da doença, sendo mais evidentes nos estádio III e IV. Este resultado foi superior aos valores encontrados na literatura, em um estudo com cadelas portadoras de carcinoma mamário, somente 23,3% apresentaram valores elevados de fibrinogênio, sendo mais evidentes nos estádios III e IV (STOCKHAUS *et al.*,

1999), semelhante ao que foi observado neste estudo. Em outra pesquisa com cães portadores de carcinoma esta anormalidade afetou 32% dos animais (SAAVEDRA et al., 2011). Apesar da evidência do aumento dos níveis de fibrinogênio com a progressão da doença em cadelas portadoras de carcinoma mamário, a correlação entre a concentração de fibrinogênio e a progressão do tumor permanece controversa e obscura (O'DONNELL et al., 1981, STOCKHAUS et al., 1999; SAAVEDRA et al., 2011). Contudo, a hiperfibrinogenemia já foi associada à progressão e extensão do câncer em pacientes humanos (RICKLES et al., 1992) e pacientes caninos (ANDREASEN et al., 2012). Além disso, 61% dos cães com carcinoma e hipercoagulabilidade apresentaram aumento dos níveis de fibrinogênio, destacando o efeito do fibrinogênio na hipercoagulabilidade (SAAVEDRA et al., 2011). A hiperfibrinogenemia em cães com neoplasia pode estar associada com a resposta inflamatória onde ocorre a secreção de IL-6 (SAAVEDRA et al., 2011), pela secreção de fatores de crescimento pelos tecidos tumorais (EDWARDS et al., 1987) e devido ao dano tecidual ocasionado pelo crescimento tumoral infiltrativo (KIES et al., 1980).

A coagulação intravascular disseminada (CID) tem sido relatada em até 10 % dos cães com tumores sólidos (SAAVEDRA et al., 2011) e já foi identificada em cadelas com carcinoma mamário (MISCHKE et al., 1998). O diagnóstico de CID é baseado em pelo menos três alterações as quais incluem trombocitopenia, prolongamento do TP, TTPA, TT, hipofibrinogenemia e elevação dos valores de PDF (produtos de degradação da fibrina) e dímero D (STOCKHAUS et al., 1999; STOKOI et al., 1999; BROOKS E LAFORCADE, 2010). No entanto, nenhuma das cadelas incluídas neste estudo foi diagnosticada com CID. Contudo, é importante ressaltar que no estudo 56 % dos animais apresentaram pelo menos três alterações da coagulação as quais incluíram prolongamento dos tempos de TP, TTPA, e hiperfibrinogenemia.

### 3.5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que cadelas portadoras de carcinoma mamário em sua maioria apresentam perda da integridade hemostática e as alterações da hemostasia foram influenciadas pelo grau histopatológico e pelo estadiamento clínico da doença. A hiperfibrinogenemia foi a anormalidade mais comum em cadelas com carcinoma mamário e parece estar relacionada a progressão da doença. Aumento das plaquetas, do fibrinogênio e o prolongamento dos tempos de TP e TTPA podem estar associadas a uma resposta pró-inflamatória induzida pela doença e sugere um estado de hipercoagulabilidade nesses pacientes. Contudo, são necessários estudos adicionais para estabelecer os mecanismos da ativação hemostática em cadelas com neoplasias mamárias.

### 3.6 REFERÊNCIAS

ANDREASEN, E.B.; TRANHOLM, M.; WIINBERG, B.; MARKUSSEN, B.; KRISTENSEN, A.T. Hemostatic alterations in a group of canine cancer patients are associated with cancer type and disease progression. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.54, n.3, p.1-8, 2012.

BERGAM P.J. Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW, S.; MACEWEN'S J. (Eds). **Small Animal Clinical Oncology**. 4.ed. St. Louis. MO.USA: Saunders and Elsevier, 2007. p. 77–94.

BOGENRIEDER, T.; HERLYN, M. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. **Oncogene**. v.22, n.42, p. 6524-6536, 2003.

BROOKS, M. B.; LAFORCADE, A. Acquired coagulopathies. In.: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. (Ed) **Schalm's Veterinary Hematology**. 6.ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. p. 654-660.

CHILDRESS, O. M. Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.42, n.1, p.123- 55, 2012.

DESANCHO, M. T.; RAND, J. H. Coagulopathic complications of cancer patients. In: HONG, W. K.; BAST, R. C.; HAIT, W. N. (Ed). **Cancer medicine**. 8.ed. PMPH-USA: Seltun(CT), 2010. p. 1813-1822.

EDWARDS, R.L.; RICKLES, F.R.; MORITZ, T.E.; HENDERSON, W.G.; ZACHARSKI, L.R.; FORMAN, W.B.; CORNELLI, C.J.; FORCIER, R.J.; O'DONNELL, J.F.; HEADLEY, E.; KIM, S.H.; O'DELL, R.; TORNYOS, K.; KWAAN, H.C. Abnormalities of blood coagulation tests in patients with cancer. **American Journal of Clinical Pathology**. v.88, n.5 p.596-602, 1987.

FALANGA, A.; MARCHETTI, M.; VIGNOLI, A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**. v.11, n.2, p.223-33, 2013.

GUNGOR, T.; KANAT-PEKTAS, M.; SUCAK, A.; MOLLAMAHMUTOGLU, L. The role of thrombocytosis in prognostic evaluation of epithelial ovarian tumors. **Archives of Gynecology and Obstetrics**. v.279, n.1, p.53-56, 2009.

HAMMER, A.S. Thrombocytosis in dogs and cats: A retrospective study. **Comparative Haematology International**. v.1, n.4, p.181-186, 1991.

KIES, M.S.; POSCH, J.J. JR.; GIOLMA, J.P.; RUBIN, R.N. Hemostatic function in cancer patients. **Cancer**. v.46, n.4, p.831-7, 1980.

KRISTENSEN, A. T.; WIINBERG, B.; JESSEN, L. R.; ANDREASEN, E.; JENSEN A. L. Evaluation of human recombinant tissue factor activated thromboelastography in 49 dogs with neoplasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.22, n.1, p.140-147, 2008.

MADEWELL, B. R.; FELDMAN, B. F.; O'NEILL S. Coagulation abnormalities in dogs with neoplastic disease. **Thrombosis and Haemostasis**. v.44, n.1, p.35-38, 1980.

MISCHKE, R.; WOHLSEIN, P.; BUSSE, L.; POHLENZ, J. Disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis in dogs with metastasizing mammary carcinoma. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**. v.140, n.12, p.497-505, 1998.

O'DONNELL, M.R.; SLICHTER, S.J.; WEIDEN, P.L.; STORB R. Platelet and fibrinogen kinetics in canine tumors. **Cancer Research**. v.41, n.4, p.1379-83, 1981.

PINHO, V. F.; COUTINHO, E. S. Risk factors for breast cancer: a systematic review of studies with female samples among the general population in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 2, p. 351-360, 2005

RICKLES, F.R.; LEVINE, M.; EDWARDS, R.L. Hemostatic alterations in cancer patients. **Cancer and Metastasis Reviews**. v.11, n.(3-4), p.237-48, 1992.

SAAVEDRA, P.V.; GARCÍA, A.L.; LÓPEZ, S.Z.; COUTO G. Hemostatic abnormalities in dogs with carcinoma: A thromboelastographic characterization of hypercoagulability. **The Veterinary Journal**. v.190, n.2, p. e78-83, 2011.

STOCKHAUS, C.; KOHN, B.; RUDOLPH, R.; BRUNNBERG, L.; GIGER, U. Correlation of haemostatic abnormalities with tumor stage and characteristics in dogs with mammary carcinoma. **The Journal of Small Animal Practice**. v.40, n.7, p.326–31, 1999.

STOKOL, T.; BROOKS, M.; ERB, H.; MAULDIN, G.E. Evaluation of kits for the detection of fibrin(ogen) degradation products in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.13, n.5, p.478-484, 1999.

SYMBAS, N.P.; TOWNSEND, M.F.; EL-GALLEY, R.; KEANE, T.E.; GRAHAM S.D.; PETROS, J.A. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with renal cell carcinoma. **BJU International**. v.86, n.3, p.203-207, 2000.

TABAK, D.; TORRES, L. G.; NAHOUM, B. Câncer e trombose. **Onco&**. p.26-32, 2011.

WADA, H.; SASE, T.; YAMAGUCHI, M. Hypercoagulant states in malignant lymphoma. **Experimental Oncology**. v.27, n.3, p.179-85, 2005.

## ANEXO

### QUESTIONÁRIO – PROJETO MESTRADO

N. Geral \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

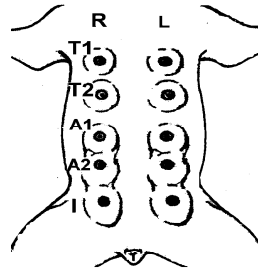
#### *Evaluation of Canine Mammary Tumors*

Name:	Age:	Breed:
Pet Owner:		Phone Number:
Address:		Date:

#### *Clinical History*

**Estro:** ( ) Regular ( ) Irregular ( ) Despercebido  
**Crias:** ( ) Sim ( ) Não  
**Castração:** ( ) Yes (Date: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_) ( ) No  
**Pseudociese:** ( ) Yes ( ) No  
**Piometra:** ( ) Yes ( ) No  
**Uso de anticoncepcional:** ( ) Sim ( ) Não  
**Evidence of distant metastasis?** ( ) No ( ) Yes

#### *Physical exam of the mammary glands*



Mammary Gland	Size	Consistency	Tumor	Secretion	Ulceration	Involved Lymph Nodes
T1						
T2						
A1						
A2						
I						
<b>R</b> Right <b>L</b> Left	<b>1</b> < 3.0 cm <b>2</b> 3.0-5.0 cm <b>3</b> > 5.0 cm	<b>1</b> Firm <b>2</b> Soft <b>3</b> Elastic	<b>1</b> Not fixed <b>2</b> Fixed Skin <b>3</b> Fixed Muscle	<b>1</b> Yes <b>2</b> No	<b>1</b> Yes <b>2</b> No	<b>1</b> Axillary <b>2</b> Inguinal <b>3</b> None