

Caio Henrique Paganini Burini

**Caracterização Clínica, Citopatológica e Bioquímica do
Câncer Mamário de Cadelas Sem Raça Definida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária.

Botucatu - SP
2002

Caio Henrique Paganini Burini

**Caracterização Clínica, Citopatológica e Bioquímica
do Câncer Mamário de Cadelas Sem Raça Definida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária.

Orientadora: Prof. Ass. Dra. Noeme Sousa Rocha

Botucatu - SP
2002

À minha mãe **Nádia**, que sempre esteve ao meu lado, pelo incentivo, amor e compreensão.

Aos meus irmãos **Paulo, Franz e Lissandra** pela amizade, companheirismo e amor.

À **Dani**, pela total dedicação, paciência, incentivo, e acima de tudo, pelo amor.

“A vocês, que são responsáveis por tudo o que sou e por tudo que eu conquistei até hoje. A vocês que se doaram por inteiro, eu dedico este trabalho e todas as minhas conquistas”

Ofereço ao meu pai, **Roberto Carlos Burini**, não como professor doutor que é, mas como companheiro querido, por partilhar comigo todo o processo de produção da tese, desde o projeto de

pesquisa, sendo minha mais importante fonte de apoio intelectual e afetivo, sem os quais certamente esta tese não chegaria ao fim.

AGRADECIMENTOS

- À minha orientadora, Professora Assistente Doutora Noeme Sousa Rocha, pela orientação e coragem de ousar trabalhar com novas idéias e conceitos, correndo os riscos inerentes a esta atitude. A quem dedico admiração pela paixão à pesquisa e ao trabalho, por todos os ensinamentos, pela confiança e amizade nestes anos de convivência.
- À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp – Campus de Botucatu, e à seção de Pós-Graduação, por toda a ajuda nestes anos, desde a residência até o mestrado.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos e constante incentivo ao trabalho e à minha formação.
- Aos Professores Doutores: Carlos Roberto Teixeira, Sheila Rahal, José Joaquim Tilton Ranzani e professora Cláudia Valéria Seullner Brandão, pelo respeito, amizade e possibilidade de utilização dos ambulatórios da Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais.
- À Professora Doutora Regina Kiomi Takahira, pela concessão das condições necessárias para a realização deste trabalho e principalmente pela amizade.
- Aos Professores Doutores Nereu Carlos Prestes, Sony Dimas Bicudo, e Maria Denise Lopes, por toda colaboração, carinho, incentivo e amizade no decorrer do experimento.
- Aos Professores Doutores Júlio Lopes Sequeira, Ênio Pedone Bandarra, Laura Figueiredo, Raphael L. Andreatti Filho, Lúgia P. Boretti e Márcio Kuchembuck e Renée Laufer Amorin pelos anos de convivência, respeito, amizade e compreensão.
- Ao Professor Doutor Adalberto José Crocci, pela valiosa análise estatística de grande parte dos resultados deste trabalho.

- À veterinária Mere Erika Saito pelo incentivo e apoio irrestrito na busca de soluções para todas as dificuldades encontradas na condução das análises laboratoriais deste experimento.
- À biomédica Maria Dorotéia Borges dos Santos e nutricionista Nailza Maestá e ao biólogo e amigo Okesley Teixeira, e demais colaboradores pelo apoio irrestrito na condução das análises bioquímicas no Centro de Metabolismo em Exercício e Nutrição (CeMeNutri) da Faculdade de Medicina.
- Aos Residentes da Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pela intensa amizade, companheirismo e ajuda imprescindível na coleta de dados para o experimento.
- Aos residentes da Patologia Veterinária, Fábio Meleiro, Celmira Calderón e Camila Dias Porto, como também aos residentes da Ornitopatologia, Edna Tereza de Lima (Galega), Adriano Sakai (Japonês) e Catharine Costa Gurgel, pela amizade e por tornarem o mestrado mais divertido!
- Aos amigos Pós-Graduandos Luis Álvaro Monteiro Júnior, Andréa Alice da Fonseca Oliveira, Alessandre Hataka, Homero Marcos Sampaio, Jayme Augusto Peres, Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura e Osimar de Carvalho e Sanches, Giovana Wingeter di Santis, Sara Maria de Carvalho e Suzano, Louisiane de Carvalho Nunes, Mércia Rodrigues Barros, Sandra Bassani Silva, Adriana Pinho Pessoa, Luiz Fernando Jantzen Gaspar e Anne Santos do Amaral que além da amizade, ajudaram de alguma forma no bom andamento do projeto.
- Aos amigos veterinários Leomar Viana, Alfredo Feio da Maia Lima, Ana Cristina Aranha Zablieth, Porfírio Candamedo Guerra, Paulo Sérgio de Oliveira Scudeller, Otávio Augusto Filho, e tantos outros que foram tão importantes durante estes anos de dedicação à dissertação.
- À aluna e amiga Maria Julia Andrade Moreira e a todos os alunos e estagiários que freqüentaram o laboratório de Patologia, com os quais tive o prazer de desfrutar momentos agradáveis.
- Aos amigos Maury Raul, Noel de Almeida Mello, Luis Antônio Matiazzi e Onivaldo Martins (Vadolino) por sua amizade, alegria e incentivo constante.

- À amiga Marlene Dias Camargo, por ter tornado estes anos mais divertidos e agradáveis.
- Aos amigos Paulo Roberto Cardoso e Ana Rosa Correia Motta pela ajuda no processamento e padronização da coloração de Shorr, agradeço pelo carinho com que sempre me receberam.
- Às bibliotecárias Rosemary Cristina da Silva e Luciana Pizzani, pela correção das referências bibliográficas e Elza Numata pela ficha catalográfica.
- Às amigas Marluci Betini e Maria Luiza Deléu da Silva, pelo carinho, amizade e atenção durante estes anos de pesquisa.
- Ao Daniel Cristian Omelas de Oliveira e Sílvio Geraldo dos Santos Júnior pela documentação fotográfica e pela atenção demonstrada em todas as situações em que nos encontramos.
- Aos amigos Antônio Cláudio Morales Júnior (Claudinho), Edílson de Souza Freire e Ana Lúcia Marcondes Salate (Lucinha), pela amizade e pela importante ajuda durante estes anos.
- Enfim, a todos os professores, funcionários e colegas pelo carinho e convivência agradável, conseguindo transformar o local de trabalho em um ambiente prazeroso.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS

RESUMO

ABSTRACT

1. REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1. Histoembriologia da glândula mamária	17
1.2. A Célula	20
1.3. Citologia Aspirativa Por Agulha Fina (CAAF)	22
1.4. Neoplasias mamárias	24
1.5. Etiopatogenia da neoplasia mamária	26
1.5.1. Transcrição gênica	27
1.5.2. Componente genético	28
1.5.3. Componente hormonal	29
1.5.4. Estresse oxidativo	29
1.5.5. Obesidade	32
1.6. Importância acadêmico-científica	36
1.7. Propedêutica diagnóstica	38
1.7.1. Clínica	38
1.7.2. Classificação TNM-clínico	40
1.7.3. Citologia Aspirativa Por Agulha Fina (CAAF)	41
1.7.4. Estresse oxidativo	41
1.7.5. Antioxidantes	42
2. OBJETIVOS	46
2.1. Gerais	47
2.2. Específicos	47
3. MATERIAL E MÉTODOS	48
3.1. Pacientes	49
3.2. Análise microscópica	49

3.3. Exame citopatológico	50
3.4. Coloração de Giemsa	52
3.5. Coloração de Shorr	52
3.6. Avaliação citopatológica	52
3.7. Análise clínica	54
3.8. Classificação clínica da neoplasia	54
3.9. Classificação do porte	57
3.10. Avaliação do estado nutricional	57
3.11. Análise da condição corporal	58
3.12. Dosagens bioquímicas	59
3.13. Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC)	59
3.14. Análises colorimétricas	60
3.15. Análise estatística	60
4. RESULTADOS	61
4.1. Características gerais da amostra	62
4.2. Porte dos animais	66
4.3. Estadiamento clínico do câncer	72
4.4. Tipo de neoplasia	79
4.5. Características citopatológicas das neoplasias	83
5. DISCUSSÃO	92
5.1. Metodologia e delineamento	93
5.2. Caracterização geral da amostra	100
6. CONCLUSÕES	119
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	121
8. ANEXOS	123
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127
10. APÊNDICE	151

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Antissepsia local (A). Introdução da agulha (B). Aspiração do material (pressão negativa do êmbolo da seringa e posterior descompressão do mesmo com a agulha ainda na lesão) C. Remoção da agulha e sucção do êmbolo (D). Reposição da agulha à seringa e distensão do material puncionado em lâminas histológicas (E). “Squash” do material puncionado (F) 51
- Figura 2 - Cadela SRD portadora de câncer mamário classificada quanto ao porte 57
- Figura 3 - Caracterização da composição corporal estabelecido pela Hill’s.. 58
- Figura 4 - Cadela SRD. Obesa portadora de câncer mamário nas mamas inguinais 65
- Figura 5 - Cadela SRD. Câncer de mama. Envolvimento multicêntrico e bilateral das mamas inguinais..... 65
- Figura 6 - Cadela SRD portadora de câncer mamário no estadiamento clínico (TNMc) IIIB 77
- Figura 7 - Cadela SRD portadora de carcinoma mamário no estadiamento clínico IV (A). Radiografia lateral do tórax: presença de massas radiopacas circulares distribuídas pelo parênquima pulmonar e compatível com metástases (B). Citologia M1E, Giemsa 20x (C). Citologia M5D, Giemsa, 20x (D). Aglomerados hipocelulares, Giemsa 20x (E). Metástase pulmonar de carcinoma mamário, fixado em formol (F). Destaque, lobo pulmonar cranial direito ... 78
- Figura 8 - Carcinoma mamário - M5E. Macroscopia, ulceração (A). Superfície de corte (B). Aspirado citopatológico apresentando pleomorfismo entre as células neoplásicas, Giemsa 25x (C). Anisocariose, Giemsa 40x (D). Pleomorfismo, Giemsa 20x (E). Célula multinucleada. Giemsa 25x (F) 81
- Figura 9 - Tumor complexo maligno - M5E. Superfície de corte (A). Histologia, Masson 10x (B). Aspirado citopatológico apresentando infiltrado PMN, Giemsa 20x. Destaque, Giemsa 10x (C). Aglomerado hipocelular, Giemsa 40x (D). Células individuais mistas, Giemsa 25x (E) 82

- Figura 10 - Tumor complexo maligno mamário - M4D. Macroscopia, ulceração (A). Superfície de corte (B). Citologia. Matriz mixóide e vacúolos citoplasmáticos. Giemsa, 20x (C). Matriz mixóide. Shorr, 25x (D). Membrana nuclear uniforme. Shorr, 25x (E). Único nucléolo proeminente. Shorr, 25x (F) 89
- Figura 11 - Tumor complexo maligno mamário - M3D. Superfície de corte. Consistência pétrea (A). Histologia. Trabéculas ósseas, H & E, 10x (B). Histologia. Células gigantes, H & E, 40x (C). Citologia. Celularidade mista. Giemsa, 25x (D). Citologia. Célula gigante, Giemsa, 25x (E) 90
- Figura 12 - Tumor complexo maligno mamário evidenciando secreção celular (lactação). Giemsa, 25x (A e B) 91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição dos animais de acordo com a idade e porte	68
Tabela 2 -	Distribuição dos animais de acordo com a obesidade e porte	68
Tabela 3 -	Diferenciação das variáveis bioquímicas (média e desvio padrão) segundo o porte dos animais	68
Tabela 4 -	Incidência de lesões neoplásicas nas cadelas conforme o porte ...	69
Tabela 5 -	Incidência do estadiamento clínico do câncer de acordo com o porte dos animais	69
Tabela 6 -	Distribuição das variáveis bioquímicas laboratoriais de acordo com o porte dos animais	70
Tabela 7 -	Distribuição dos animais de acordo com as características clínico-laboratoriais e o estadiamento clínico	73
Tabela 8 -	Distribuição da frequência do estadiamento clínico neoplásico de acordo com a idade dos animais	74
Tabela 9 -	Distribuição da frequência do estadiamento clínico neoplásico de acordo com a presença de obesidade dos animais	74
Tabela 10 -	Distribuição das variáveis bioquímicas (média desvio padrão) segundo estadiamento clínico da doença	75
Tabela 11 -	Incidência de lesões neoplásicas nas cadelas conforme o estadiamento clínico	75
Tabela 12 -	Distribuição dos animais de acordo com as características clínico-laboratoriais e o tipo de tumor apresentado	80
Tabela 13 -	Características clínicas e citopatológicas das neoplasias	87

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Características gerais prevalecentes dos animais	63
Gráfico 2 -	Prevalência das características reprodutivas gerais da amostra ...	63
Gráfico 3 -	Prevalência geral de alterações laboratoriais	64
Gráfico 4 -	Características gerais prevalecentes das neoplasias	64
Gráfico 5 -	Influência do porte sobre as características gerais da amostra	71
Gráfico 6 -	Influência do porte sobre as características clínico-laboratoriais .	71
Gráfico 7 -	Prevalência do estadiamento clínico da doença e da obesidade ...	76
Gráfico 8 -	Influência do estadiamento clínico sobre as características laboratoriais	76
Gráfico 9 -	Características clínicas das neoplasias	77
Gráfico 10 -	Características laboratoriais das neoplasias	80
Gráfico 11 -	Características citopatológicas das neoplasias	88

BURINI, C.H.P. **Caracterização clínica, citopatológica e bioquímica do câncer mamário de cadelas sem raça definida.** Botucatu, 2002. 162p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Com o objetivo de caracterizar clínica, bioquímica e citologicamente o câncer de mama de cadelas sem raça definida (SRD) foram estudados 30 animais com distribuição uniforme nos portes pequeno, médio e grande. Todos os animais foram submetidos à anamnese e exame físico para a classificação clínica do câncer (TNMc), amostra citológica da lesão por citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) para caracterização do tipo de tumor e coleta de sangue para determinações de glicose, albumina, colesterol, α -tocoferol e malonildialdeído (MDA) para avaliação do estado protéico-energético e peroxidativo antioxidante. A amostra foi caracterizada com predominância de idade 6-10 anos (57%), obesos (83%) com ingestão de dieta mista (80%) caseira-industrial, tendo hipovitaminose E como variável bioquímica mais alterada (70%) seguida de níveis elevados de malondialdeído (47%), hipoalbuminemia e hipocolesterolemia (37%), hipoglicemia (27%), hiperglicemia e hipercolesterolemia (20%). Metade das cadelas eram nulíparas, apresentando pseudogestação (47%), tumoração das mamas inguinais (63%), em ambas as cadeias, com nódulos multicêntricos (80%) de incidência bilateral (80%), prevalecendo nódulos (57%) de tamanho inferior a 2cm de diâmetro. Prevaleceu o carcinoma (57%) em relação ao tumor complexo (43%), sendo característicos do primeiro a presença de necrose (89%), infiltrado PMN (71%), célula individual epitelial (61%), pleomorfismo (75%) e anisocariose (71%) moderados, membrana nuclear uniforme (82%) e múltiplos macronúcleos proeminentes (50%). Os animais com carcinoma apresentaram características ($p < 0,05$) de obesidade (43%), hiperglicemia (83%), nuliparidade (80%) e pseudogestação (64%), hipovitaminose E (48%), MDA elevado (43%) e prevalência de estadiamento clínico IIA-IIIB (50%). Nesse estadiamento além das

características acima vistas nos animais com carcinoma houve hipoalbuminemia (55%) e hipocolesterolemia (64%). O estadio mais grave (IV) foi o menos prevalente (17%) em ambos os tumores e esteve associado aos animais mais idosos, ausência de obesidade (40%), presença de hipoglicemia (38%) e de vitamina E normal. O porte dos animais não apresentou influência significativa, mas aqueles de pequeno porte estiveram mais associados às características do carcinoma (80%) e os de porte grande à associação dos tumores (50%), ambos no estadiamento IIA-IIB (80% e 60%). Assim, observou-se boa concordância dos achados citopatológicos do tumor com indicadores do estado protéico/energético/oxidativo do paciente independentemente do estadiamento clínico do câncer.

Unitermos: câncer mamário, estadiamento clínico, citopatologia, obesidade, desnutrição, peroxidação lipídica.

BURINI, C.H.P. **Clinical, citopathologic and biochemistry characterization of breast cancer in mixed breed bitches.** Botucatu, 2002. 162p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The severity of breast cancer in mongrel animals is not defined yet in its clinical, biochemical and cytological associative aspects. With the aim to establish that characterization we studied 30 bitches, 5-16 years old, mixed breed bitches attended at this university ambulatory in compliance with current ethical and pathological rules. The animals were allotted according to their body size in groups small (Gs), medium (Gm) and large (Gl) with 10 animals each. After physical examination and lifestyle records, the blood sample was taken for plasma analysis of albumin (alb), glucose (gluc), total cholesterol (chol), alpha-tocopherol (vit.E) and malondialdehyde (MDA) levels. The tumor nodules were evaluated macro-and-microscopically, the later through fine needle aspiration sampling. From these data the animals were classified as predominantly 6-10 years old (57%), obese (83%), presenting carcinoma (CA) oftenly (57%) than complex tumor type (MT=43%), prevalently on clinical stage (TNMc) IIA – IIIB (50%). Half of the animals were nulliparus, showing pseudopregnancies (47%), having multicentric nodules (57%) sizing less than two cm diameter, located inguinally (63%) in both side mammary chains. The most found plasma changes were hypovitaminosis E (70%), high MDA (47%), low alb and low chol (37%), low gluc (27%) and either high chol or high gluc (20%). Additionally the bitch bearing carcinoma were ($p<0,05$) predominantly, nulliparus (80%), pseudopregnant (64%), obese (43%) showing more prevalence of high MDA (43%), low vit E (48%), high gluc (83%) and low alb (36%) than the mixed tumor animals. The association of tumors worsened the (hypo) glucemic and (hypo) albuminemic status of the patients. Half

of CA, 75% of MT and 60% of associated tumor (CA+MT) were at the clinical stage (TNMc) IIA-IIIB, whose main statistical differences from the severer stage IV were obesity (82%), high gluc (83%) and low vit. E (61%). Besides lacking statistical significancy the Gs were younger than Gl, presenting CA (80%) and CA+MT (50%) respectively, both mainly at the clinical stage IIA-IIIB. Thus there was some agreement among the studied markers of mammary cancer severity, with a mild relationship between cytological and clinical degrees with both types of tumor being distributed similarly among the three clinical stages. Both body overweight and nutritional biochemistry changes were also found in either extremes of clinical stages and the stronger relationship was found between tumor types and nutritional biochemistry changes with low gluc and low alb associated with CA+MT being CA more related with obesity, high gluc, low chol, low vit. E and high MDA. In conclusion the cytological and nutritional (metabolic) markers of the disease severity were more alike than its clinical stages in this studied sample.

Key words: bitches mammary gland cancer, clinical stages, cytopathology, fat peroxidation, malnutrition.

***REVISÃO DE
LITERATURA***

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Histoembriologia da glândula mamária

A glândula mamária existe unicamente na classe *Mammalia* (BLOON & FAWCETT, 1986; WEISS, 1988) com função nutridora, para as fêmeas que alimentam a prole na primeira etapa da vida pós-fetal (ROSS *et al.*, 1993). São glândulas sudoríparas modificadas de localização subcutânea (SHULL & MADDUX, 1999). São derivadas, embriologicamente, do ectoderma, a partir do espessamento linear paralelo denominado crista mamária, que se estende desde a região axilar à inguinal, evidente por volta do 25º dia de vida intra-uterina, quando o embrião tem 14 mm de comprimento (GARCIA *et al.*, 1991; EVANS & CHRISTENSEN, 1993).

No 30º dia (19 mm), os pares de mamilos são visualizados ao longo das cristas, a partir daí, brotamentos epiteliais crescem para o centro do mesênquima subjacente, o qual irá formar tecido conjuntivo fibroso, o estroma da glândula. Cerca de 20 brotos epiteliais são formados, ramificando-se posteriormente em brotos menores (GARCIA *et al.*, 1991; EVANS & CHRISTENSEN, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

No final da vida intra-uterina, as projeções epiteliais canalizam-se, formando os ductos lactíferos, enquanto que os brotos originam os ductos pequenos, os alvéolos secretores e as células mioepiteliais (REHMAN, 1978; GARCIA *et al.*, 1991; EVANS & CHRISTENSEN, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

O número de orifícios sobre a superfície externa do mamilo varia consideravelmente, há relato de 7 a 22 em cães de diferentes raças. Desse modo, cada orifício possui um sistema de ductos independentes associado a cada adenômero glandular (GETTY, 1986; BANKS, 1992; EVANS & CHRISTENSEN, 1993; DYCE *et al.*, 1996). Em vista disso, a formação das mamas não é sempre simétrica e números desiguais de glândulas ocorrem com frequência (REHMAN, 1978; GARCIA *et al.*, 1991; EVANS & CHRISTENSEN, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

A organização histológica do sistema de ductos é única, com os mesmos envoltos por tecido conjuntivo e adiposo (EVANS & CHRISTENSEN, 1993; PELETEIRO, 1994). O epitélio de revestimento dos ductos é formado por dupla camada de células epiteliais cúbicas ou cilíndricas baixas. À medida que os ductos vão se ramificando para formar ductulos intralobulares, o epitélio transforma-se em epitélio simples, cilíndrico ou mesmo cúbico (ZUCCARI *et al.*, 2001).

Baseando-se na disposição dos ductos e secreção, essas glândulas podem ser classificadas como apócrinas tubuloalveolares compostas (BANKS, 1992).

A mama possui amplo espectro de morfologia normal que varia conforme a fase do ciclo estral, ou de acordo com a fase da vida do indivíduo; puberdade, gravidez, lactação e involução, ou ainda com o efeito de qualquer droga ou terapia hormonal (ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Os estágios da mamogênese são definidos pelo desenvolvimento sexual e reprodutivo da fêmea (IMAGAWA *et al.*, 1994). O principal desenvolvimento pós-fetal é simultâneo à puberdade, sob a influência dos hormônios ovarianos estrogênios e progesterona (ROSS *et al.*, 1993). O estrogênio, juntamente com hormônio de crescimento e adrenocorticosteróides sinaliza a proliferação do sistema ductal, enquanto que a proliferação alveolar sofre influência da progesterona e da prolactina mediante à proliferação das células epiteliais da porção terminal dos ductulos intralobulares. Subseqüentemente ocorre a formação dos alvéolos secretores, que são constituídos por um epitélio cilíndrico simples (epitélio luminal) entremeado por células mioepiteliais (epitélio basal). Esse conjunto responsabiliza-se pelo produto secretado pela mama (BURKITT *et al.*, 1994; SILVERMAN, 1996). As células do epitélio luminal sintetizam e excretam proteínas lácteas e lipídios durante a lactação, e as células epiteliais basais ou mioepiteliais contraem, sob a influência da ocitocina, expelindo o leite dos ductos. Ambos os tipos celulares são derivados de uma única população celular de células tronco (ZUCCARI *et al.*, 2001).

Na formação alveolar, as células mioepiteliais não proliferam na mesma proporção que o epitélio secretor, permitindo contato direto entre este e a

membrana basal, ou seja, a ação estimuladora desempenhada pelo estroma torna-se efetiva sobre as próprias células secretoras (ZUCCARI *et al.*, 2001).

O agrupamento de alvéolos forma a unidade conhecida como lóbulo, um número variável de lóbulos forma o lobo mamário, o conjunto irá constituir a mama (BURKITT *et al.*, 1994; PARK & JACOBSON, 1996; SILVERMAN, 1996).

O tecido glandular secretor está presente em grau significativo durante a gestação, pseudogestação, lactação e por até 40 a 50 dias pós desmame. Afora, os alvéolos (a maioria reabsorvido) e os lóbulos são limitados a um sistema reduzido de ductos e alguns lóbulos restantes. Desse modo, a mama possui grande quantidade de parênquima e pouco estroma durante a lactação, ocorrendo o inverso fora desse período (EVANS & CHRISTENSEN, 1993; BURKITT *et al.*, 1994).

Nas fêmeas, especialmente após a lactação, o tamanho relativo das glândulas pode afastar-se do padrão típico (GETTY, 1986; EVANS & CHRISTENSEN, 1993; DYCE *et al.*, 1996; PARK & JACOBSON, 1996; ZUCCARI *et al.*, 2001).

Os carnívoros domésticos não entram em menopausa, e as mamas continuam sujeitas às influências hormonais até idade avançada (ZUCCARI *et al.*, 2001).

A pele que reveste a mama varia em espessura, por vezes é pigmentada e possui regiões glabras e com pêlos. Histologicamente, é constituída de elastina, fibras musculares lisas, vasos sangüíneos, melanócitos, glândulas sebáceas entre outros (EVANS & CHRISTENSEN, 1993).

Na espécie canina as glândulas são em número de 10, dispostas em duas séries, região peitoral e inguinal. São, por isso, denominadas torácicas craniais (2) e caudais (2), abdominais craniais (2) e caudais (2) e inguinais (2), podendo, ainda, serem encontradas outras supranumerárias nas regiões torácica e abdominal (GETTY, 1986; ARGYLE, 1998).

A inervação das mamas torácicas é realizada pelos 4^o, 5^o e 6^o (craniais) e 6^o e 7^o (caudais) nervos subcutâneos laterais, enquanto que as abdominais e

inguinais são inervadas pelo feixe superficial ventral dos três primeiros nervos lombares (iliohipogástrico cranial e caudal, e ilioinguinal) (EVANS & CHRISTENSEN, 1993; ARGYLE, 1998).

A irrigação sangüínea das glândulas torácicas é realizada pelos ramos cutâneos das artérias intercostais e, as glândulas abdominais e inguinais, pelos ramos das artérias torácica lateral e epigástrica superficial (craniais e caudais). O trajeto das veias segue basicamente o das artérias (EVANS & LAHUNTA, 1994). A drenagem linfática é feita a partir das mamas torácicas craniais e caudais para os linfonodos axilares, e para os linfonodos inguinais (a partir dos dois pares caudais). As mamas abdominais craniais podem apresentar drenagem mista (linfonodo axilar e inguinal) (RAHAL *et al.*, 1997). Promove o contacto de algumas glândulas homolaterais, mas não existe comunicação entre as cadeias direita e esquerda (ZUCCARI *et al.*, 2001). Essa drenagem pode sofrer variação individual, assim como ser influenciada pelo estágio da lactação ou presença de massa tecidual e/ou obstrutiva (HARVEY, 1996).

1.2. A Célula

As células vivas, hoje são classificadas como procarióticas ou eucarióticas. Apesar de possuírem uma estrutura relativamente simples, as procarióticas são bioquimicamente versáteis e diversas: por exemplo, todas as principais vias metabólicas são encontradas em bactérias, incluindo os três processos de obtenção de energia: glicólise, respiração e fotossíntese (KOSS, 1972; MACLEOD, 1981; BIBBO, 1991; KEEBLER & SOMRAK, 1993; ALBERTS *et al.*, 1997; FARAH, 1997).

As células eucarióticas, por sua vez, são maiores e mais complexas do que as procarióticas e contêm uma quantidade maior de DNA, junto a componentes que permitem o DNA ser processado de maneira muito elaborada. O DNA da célula eucariótica é contido numa estrutura nuclear membranosa, enquanto que o citoplasma contém uma variedade de organelas também contidas em membranas, incluindo a mitocôndria, que é responsável pela oxidação de moléculas derivadas

dos alimentos, e, em plantas, os cloroplastos são responsáveis diretos pela fotossíntese (KOSS, 1972; MACLEOD, 1981; BIBBO, 1991; KEEBLER & SOMRAK, 1993; ALBERTS *et al.*, 1997; FARAH, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Mitocôndria e cloroplastos podem ser considerados descendentes diretos de células procarióticas que se estabeleceram como simbiontes internos numa célula anaeróbica primordial (KOSS, 1972; MACLEOD, 1981; BIBBO, 1991; KEEBLER & SOMRAK, 1993; ALBERTS *et al.*, 1997).

As células eucarióticas são também únicas em estrutura, tipo o citoesqueleto de proteínas filamentosas, que, além de ajudar na organização do citoplasma, é responsável pelo movimento celular (KOSS, 1972; MACLEOD, 1981; BIBBO, 1991; KEEBLER & SOMRAK, 1993; ALBERTS *et al.*, 1997; FARAH, 1997).

De função desconhecida, a lâmina fibrosa contribui para a proeminência do envelope nuclear vista na microscopia de luz, especialmente em células neoplásicas (MACLEOD, 1981; KEEBLER & SOMRAK, 1993).

O espaço entre as duas membranas nucleares, a cisterna perinuclear, é variável e pode aumentar consideravelmente após várias injúrias, inclusive após radiação e inflamação. São detectadas sob a forma de vacúolos isolados ou contínuos adjacentes ao núcleo. Este último, denominado halo perinuclear (ZACH, 1972; KEEBLER & SOMRAK, 1993; McKEE, 1997).

Dentre os componentes nucleares, a cromatina representa o maior percentual, chegando a ocupar de 25% a 28% do volume nuclear. A cromatina é constituída de 14% a 17% de DNA, e os demais constituintes correspondem a proteínas e RNA. Independente da variação que ocorre durante o ciclo celular, há tendência considerável para a cromatina alterar o seu estado de distribuição no compartimento nuclear, no que diz respeito ao estado de expansão e contração. O expansivo, a forma de apresentação normal da cromatina no núcleo de contração, é estado alterado. O desequilíbrio na concentração dos íons cálcio e magnésio encontrado na grande maioria das doenças, inclusive nas neoplásicas,

desenvolvem papel fundamental neste contexto (MACLEOD, 1981; KEEBLER & SOMRAK, 1993; FARAH, 1997).

O DNA é o carreador de informação genética, portanto, é o responsável pelas propriedades e habilidades da célula. A ativação e repressão gênica são muitas vezes determinadas por proteínas que também atuam mantendo a integridade do DNA. Determinadas proteínas podem reparar as alterações no DNA, enquanto outras podem removê-las, preservando a integridade genética. As duas principais categorias de proteínas nucleares são as histonas e as não histonas. Nas células cancerígenas, há um enriquecimento de proteínas ácidas, não-histona, que representam fator primordial para a hiper cromasia nuclear (MACLEOD, 1981; KEEBLER & SOMRAK, 1993; FARAH, 1997).

O núcleo da célula somática normal contém os cromossomos oriundos da fusão do espermatozóide com o óvulo, sendo, portanto, diplóides. As alterações no número de cromossomos e na quantidade de DNA são denominadas de aneuploidias ou heteroploidias. Células senis são mais propensas a retardarem os ciclos mitóticos, podendo resultar em aumento na quantidade de DNA e conseqüentemente na criação de múltiplas células diplóides (MACLEOD, 1981; KEEBLER & SOMRAK, 1993; ALBERTS *et al.*, 1997; FARAH, 1997; GOEPFERT *et al.*, 2002).

1.3. Citologia Aspirativa Por Agulha Fina (CAAF)

A CAAF é uma adaptação da citologia esfoliativa, preconizada por Papanicolau na metade do século XIX. Esta modificação aconteceu nos Estados Unidos, na década de 60. Portanto, não é procedimento novo, e nos últimos anos tem sido amplamente utilizada, mundialmente, por médicos e médicos veterinários, com significativa melhoria na preparação e interpretação do material aspirado de várias lesões, inclusive das neoplasias mamárias (BOTTLES *et al.*, 1986; ROCHA, 1998).

Já está bem estabelecido que o exame de CAAF, de ótima qualidade, depende do operador (LEE *et al.*, 1987; ABATI *et al.*, 1997), desta forma

amostras adequadas fornecem a chave para o diagnóstico acurado (ALVES *et al.*, 1999; CATROPPO & LARA, 2001).

Vários estudos foram realizados a fim de se determinar a sensibilidade, a especificidade e a eficiência da CAAF (GRIFFITHS *et al.*, 1984; HAMMOND *et al.*, 1987; PALOMBINI *et al.*, 1988; TEIXIDOR *et al.*, 1992; ROBINSON *et al.*, 1994; O'NEIL *et al.*, 1997; ROCHA *et al.*, 1997; ARISIO *et al.*, 1998). A média dos resultados obtidos para a sensibilidade, especificidade e a eficiência foram 84%, 97% e 92,6% respectivamente. Assim, a CAAF constitui método diagnóstico efetivo para o diagnóstico do câncer de mama. É bastante útil para selecionar os casos suspeitos de malignidade nas alterações mamárias (SILVERMAN *et al.*, 1987; BRASIL, 1991; ROCHA *et al.*, 1997).

As amostras citológicas são freqüentemente utilizadas pela facilidade, rapidez e segurança, e também pelo baixo custo e boa tolerância dos pacientes à coleta (GOUVÊA, 1996; ROCHA, 1998; TYLER *et al.*, 1999; SOLTER, 1999; CASSALI, 2000). Tem particular valor nas condições em que os pacientes se apresentam muito debilitados ou com idade avançada, devido ao não envolvimento de procedimentos anestésicos (ZAKHOUR & WELLS, 1999).

A versatilidade da citologia aspirativa e a rapidez com que as colorações são realizadas podem proporcionar um diagnóstico rápido da neoplasia mamária na clínica. Outro benefício de sua rapidez é de avaliar o material (representativo x não representativo) e reaspirar quando necessário, reduzindo o número de amostras inadequadas (ROCHA, 1998; SHULL & MADDUX, 1999; ZAKHOUR & WELLS, 1999; CASSALI, 2000).

Possui estruturas independentes e critérios próprios que não devem permanecer à mercê de confirmações de outros exames. Deve-se respeitar a assepsia e a proteção do campo a ser puncionado (BRASIL, 1999; PINOTTI, 1991; CARVALHO, 1993; ROCHA, 1998; ELSTON, 1999).

A maioria das CAAF não tem trazido complicações significantes, mas alguns raros trabalhos da literatura mostram intercorrências que vão desde síncope até hematomas locais, sendo raro o pneumotórax (ZAKHOUR & WELLS, 1999).

1.4. Neoplasias mamárias

Os processos inflamatórios e as neoplasias constituem os acometimentos lesivos mais freqüentes nas mamas. As neoplasias mamárias são afecções quase que exclusivas de fêmeas, acometendo raramente os machos. Na cadela, as neoplasias de mama, representam as lesões mais freqüentes, praticamente em todas as partes do mundo (MOULTON, 1990; KOHLI *et al.*, 1998; MISDORP *et al.*, 1999). Metade dos tumores mamários são malignos (HARVEY, 1996; SHULL & MADDUX, 1999).

Considera-se que as hiperplasias atípicas mamárias, que fazem parte das chamadas alterações funcionais benignas da mama, apresentam risco relativamente aumentado para o câncer de mama (BRASIL, 1991; STONE, 1998).

Embora 50% das neoplasias mamárias sejam benignas nas cadelas, muitas apresentam câncer de alto grau de malignidade (MISDORP *et al.*, 1999).

A distribuição dos focos tumorais é determinada, em grande parte, pelas características anatômicas das veias e dos vasos linfáticos que drenam os locais onde se situam os tumores primários. No entanto, nos animais, a maioria dos tumores malignos metastatizam para os pulmões. Isto ocorre devido ao imenso fluxo de sangue que passa por este órgão e à grande trama de capilares, onde a circulação se torna mais lenta. O leito capilar pulmonar serve como filtro para os agregados de células tumorais que se alojam na árvore vascular, inserindo pseudópodos entre as células endoteliais e emigrando para o parênquima pulmonar (COTRAN *et al.*, 2000; RUBIN & FARBER, 2002).

Uma em cada quatro cadelas com neoplasia mamária está sujeita a desenvolver novos nódulos em outras mamas, já que todos os fatores determinantes do câncer de mama permanecem (BRASIL, 1991; STONE, 1998).

As neoplasias epiteliais mamárias são classificadas de acordo com o arranjo histológico, em papilares, tubulares, sólidos e anaplásicos e quanto a origem em lobulares ou ductais. A melhor precisão diagnóstica e compreensão prognóstica, podem ser decorrentes da observação de características como presença ou não de infiltração, inflamação, hemorragia, necrose, fibrose e

metaplasia cartilaginosa ou óssea (MONLUX *et al.*, 1977; FERNANDES, 1996; EISENBERG & KOIFMAN, 2000; PERES, 2000).

Quando os tumores complexos apresentam metástases, estas podem ser representadas por células epiteliais ou também por células pseudo-sarcomatosas, podendo, em um lugar, aparecer metástase com células epiteliais e, em outro, metástase com células pseudo-sarcomatosas (ZEZZA NETO, 1997).

Às vezes, o tumor maligno de pequenas dimensões se apresenta quase totalmente ossificado. Em outros casos, pode em tumor de idêntico tipo histológico, mas com grandes dimensões, apresenta a formação de “cartilagem” e tecido “ósseo” em mínima quantidade. Assim, o aparecimento de tais tecidos pode ocorrer em qualquer estágio do crescimento tumoral (ZEZZA NETO, 1997).

O tecido ósseo formado na glândula mamária é tão autêntico que muitas vezes observa-se a presença de medula óssea típica e ativa. Quando da presença de cartilagem, esta assume seu aspecto morfológico característico e demonstra íntima relação com o tecido epitelial adjacente (ZUCCARI *et al.*, 2001).

O carcinoma inflamatório nos cães se caracteriza por apresentar glândulas difusamente hiperêmicas, edemaciadas, eritematosa e com pouca demarcação entre os tecidos normal e anormal, sendo uma variação dramática que simula infecções agudas da mama. No entanto, no caso de mastite, a edemaciação é mais localizada e ocorre após o estro, desmame ou pseudociese (BAKER & LUMSDEN, 1999; SILVERMAN, 1996; STONE, 1998; ZAKHOUR & WELLS, 1999). Sua manifestação é variada e freqüentemente não há massa dominante, somente infiltração difusa do parênquima e a presença de depósitos satélites de células tumorais com tamanho e localização variados (MESA, 1988). Seu comportamento é extremamente agressivo, de rápida evolução e se metastatiza facilmente (DONEGAN, 1988; DODD & LAYFIELD, 1996).

Existem evidências de que o estado de imunodepressão durante a gestação, seja induzido por algumas alterações hormonais, como a elevação dos corticosteróides. Estes poderiam, pelas modificações endócrinas da gestação, estimular o crescimento do processo neoplásico. Isto ocorreria, pelo aumento das concentrações sangüíneas de estradiol, juntamente com a elevação da prolactina e

dos fatores de crescimento epidérmicos. Ambos propiciariam importante associação mitogênica, o que acarretaria a elevação da incidência de neoplasia mamária na gestação e lactação. A produção hormonal, durante a gestação, a princípio torna os processos neoplásicos mais agressivos, sendo assim o provável efeito protetor da gestação não teria repercussão imediata, mas sim a longo prazo (MOULTON, 1990).

Os resultados da influência da ovariectomia em animais com média de nove anos de idade portadores de tumores mamário sugerem que a castração no momento da remoção do tumor não tem efeito significativo na progressão da doença maligna (MORRIS *et al.*, 1998). Outros autores acreditam que a ovariectomia atua de forma moderada na prevenção do desenvolvimento das neoplasias mamárias (MISDORP, 1988). As neoplasias clinicamente estabelecidas podem ter a redução temporária de suas massas, ou a sua proliferação impedida, quando a ovariectomia for adotada como forma terapêutica (MOULTON, 1990).

Um dos fatores que contribuem para a alta mortalidade é o avançado estadiamento da doença no momento em que as pacientes são submetidas ao primeiro tratamento (BRASIL, 1991; MANSOUR *et al.*, 1994)

1.5. Etiopatogenia da neoplasia mamária

O aparecimento de tumor maligno resulta de uma série de eventos diferentes, gerando uma célula transformada (DOLL & PETO, 1981; RAW & MORO, 1999; GATANBY & FRIEDEN, 2002). Dentre os estímulos iniciais dessas amplificações, mutações, translocações, deleções e desregulação gênica figuram as ações de radiações ionizantes, vírus, hormônios e radicais livres (WATRACH *et al.*, 1978; NERURKAR *et al.*, 1989; KARP & BRODER, 1995). Dentre esses agentes, o viral e a radiação são pouco consensuais (PELETEIRO, 1994; BRUENGER *et al.*, 1994; STONE, 1998).

1.5.1. Transcrição gênica

As células dos tumores malignos apresentam genes que se expressam de modo instável e diversificado com conseqüente desregulação da diferenciação celular. Há geralmente, o envolvimento de três classes de genes, os proto-oncogenes (promovem o crescimento), os genes oncosuppressores (inibem o crescimento) e os genes que regulam a apoptose (LESLIE & HOWARD, 1992; COTRAN *et al.*, 2000; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000; LODISH *et al.*, 2002; RUBIN & FARBER, 2002).

A causa exata do câncer mamário ainda permanece desconhecida, mas presumivelmente representa uma interação complexa de susceptibilidade genética e fatores circundantes (RALF *et al.*, 1997; RAY *et al.*, 2001a; BARTOW, 2002).

Inúmeros tipos de genes estão envolvidos no processo da carcinogênese, incluindo genes que influenciam na ativação/detoxificação metabólica, no reparo do DNA, na estabilidade cromossômica, na atividade dos oncogenes ou genes supressores tumorais, no controle do ciclo celular, transdução de sinal, trajeto hormonal, caminho metabólico das vitaminas, função imune e ação receptora ou neurotransmissora (SINHA & CAPORASO, 1999; GREENWALD *et al.*, 2001; YOON *et al.*, 2002).

Durante a última década, o interesse pela interação entre gene e nutrição fez com que ocorresse crescimento considerável nesta área científica e parece ser bastante promissora para reduzir ao máximo possível o risco de desenvolver câncer (GANDINI *et al.*, 2000; GREENWALD *et al.*, 2001).

Achados bastante importantes têm mostrado que todos os cromossomos das células neoplásicas têm diferentes sítios/regiões de deleções. Do mesmo modo, variações individuais na susceptibilidade surgindo de diversas formas nos genes que administram o metabolismo de substâncias exógenas podem modificar os efeitos carcinogênicos e anticarcinogênicos dos componentes alimentares (LAI & SHIELDS, 1999; SINHA & CAPORASO, 1999; GREENWALD *et al.*, 2001).

O gene que codifica a biossíntese da proteína p53 está localizado no cromossomo 17 e limita a proliferação celular parando o ciclo celular em G1. A

proteína p53 pode ativar também vias apoptóticas, destruindo a célula danificada (ELLEDGE & ALLRED, 1994; TEICH, 1997; RAW & MORO, 1999; COTRAN *et al.*, 2000; YAMAMOTO *et al.*, 2000). As formas mutantes do p53 podem inibir a apoptose, apresentam meia vida alterada (mais longa) e se acumulam nas células, contrariamente ao tipo selvagem do p53, o qual tem meia vida curta e não apresenta níveis detectáveis (imunoistoquimicamente) nas células normais (SCHMITT, 1994; RUNGSIPIPAT *et al.*, 1999; YOON *et al.*, 2002).

Os fatores de crescimento epidérmico (EGF) e de transformação (TGF- α) estão implicados no crescimento de células epiteliais e mesenquimais (TGF- α) ou apenas epiteliais (EGF) mamárias (LESTER & COTRAN, 2000).

As fases da carcinogênese mamária não diferem das demais e incluem a iniciação e progressão decorrentes da ativação dos oncogenes ou inativação dos oncosuppressores, desregulando a expressão gênica e os mecanismos de proliferação, diferenciação e morte celular (KARP & BRODER, 1995; RUBIN & FARBER, 2002). Segundo modelo evolutivo de carcinoma mamário subclínico, qualquer epitélio, sob fator cancerígeno iniciante, poderá produzir lesões precursoras que permanecem estacionárias até a ação de um promotor. A partir daí há o aparecimento de neoplasia intra-epitelial que poderá evoluir para carcinoma pré-clínico ou clínico (PINOTTI, 1991).

Fundamental à prevenção e ao controle do câncer é o conceito de que a carcinogênese não é um evento, e sim um processo, uma série de alterações celulares distintas que resultam em processos celulares progressivamente mais autônomos (RAW & MORO, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000; TSUTSUMI *et al.*, 2002).

1.5.2. Componente genético

Do ponto de vista genético as neoplasias mamárias manifestam-se como esporádicas, familiares e hereditárias. A neoplasia esporádica resulta de mutação cromossômica em indivíduos até então sem pré-disposição à doença. Na forma familiar a doença está presente em dois ou mais indivíduos parentes em primeiro

ou segundo grau. O risco familiar é cerca de três vezes maior que o da população em geral. Por fim, a forma hereditária é caracterizada por padrão autossômico dominante de transmissão, o que determina alto risco e precocidade etária ao diagnóstico (LYNCH *et al.*, 1989; GURGEL *et al.*, 1997). Em cadelas, a forma hereditária de neoplasia mamária é maior em raças definidas como Pointers, Retriviers, English Setters e Spaniel, Poodles, Boston Terriers e Daschunds (MOULTON, 1990).

1.5.3. Componente hormonal

O componente etiológico hormonal tem alcançado boa aceitação, particularmente pelas diferenças significativas de incidência tumoral entre cadelas castradas e não castradas (MONSON *et al.*, 1977; PELETEIRO, 1994; MANZEL, 1995; WITHROW & MacEVEN, 1996; ZUCCARI *et al.*, 2001).

O desenvolvimento rápido da mama sob efeito estrogênico na puberdade pode contribuir para formação dos clones de células alteradas, que se tornam nódulos hiperplásicos, não detectáveis clinicamente, mas que sofrem transformação neoplásica pela ação de agentes carcinogênicos (PINOTTI, 1991; DONNAY *et al.*, 1995).

Ciclo estral irregular, cistos folículo-ovarianos, corpo lúteo persistente, endométrio hiperplásico, pseudogestação, piometra e alteração da vida sexual também estão relacionadas ao desenvolvimento de neoplasias mamárias em cadelas (MOULTON, 1990; HARVEY, 1996).

1.5.4. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo, por definição, se refere à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) e doenças associadas, cujos mecanismos são oxidação de ácidos nucléicos, quebras cromosômicas e peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados constituintes das membranas celulares (NIKI *et al.*, 1991; HALLIWELL, 1996; RABL *et al.*, 1996; KOTLER, 1998; OBERLEY, 2002).

As EROs são compostos altamente reativos derivados de oxigênio molecular sendo estas as três espécies mais importantes: superóxido (O^{-2}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e íons hidroxila (OH). Estes compostos podem ser produzidos por várias enzimas oxidativas, em diferentes locais das células: citosol, mitocôndria, lisosomos, peroxisomos e membrana plasmática (HINDER & STEIN, 1991; NIKI *et al.*, 1991; ABDALLA, 1993; GALIZIA & WAITZBERG, 2001).

Como todos os outros radicais livres, são moléculas com um ou mais elétrons não pareados na sua órbita externa. Como resultado, são moléculas instáveis e que reagem com outras moléculas doadoras de elétrons, para atingir moléculas mais estáveis (LAMEU, 2001). Neste processo, são potencialmente capazes de oxidar proteínas (podem atacar a matriz extracelular, degradando o ácido hialurônico e o colágeno), lipídios, organelas citoplasmáticas (danificar a membrana celular e a membrana de suas organelas, através da peroxidação da estrutura fosfolipídica peculiar da membrana) e material genético (PORTER & WAGNER, 1986; YOSHIDA, 1996).

Cada vez mais estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos mostram o envolvimento dos RLO em várias doenças incluindo o câncer (GALIZIA & WAITZBERG, 2001; HEATON *et al.*, 2002).

A produção de radicais livres é uma consequência fisiológica como na respiração celular, no metabolismo do ácido araquidônico na detoxificação de drogas pelo fígado e nos processos de inflamação e defesa à infecção (YOSHIDA, 1996; LAMEU, 2001).

Quando há aumento de níveis de radicais livres, seja por produção aumentada ou por diminuição de antioxidantes disponíveis, ocorre estado de estresse oxidativo, o que acarreta em lesão tissular e no aparecimento de diversas doenças, como as neoplasias (GALIZIA & WAITZBERG, 2001; RAY *et al.*, 2001a). Este evento é seguido por resposta inflamatória, por meios diretos e indiretos, o que, por si só, é estímulo para maior produção de novos radicais livres, mantendo, desta forma, a lesão tecidual progressiva (YOSHIDA, 1996).

Nos seres vivos, os radicais livres são geralmente produzidos por dois processos principais: (1) o sistema de transporte de elétrons localizado na membrana mitocondrial interior, formando água e (2) as ações das células polimorfonucleares ao fagocitarem e destruírem bactérias (ESTERBAUER, 1993; YABIKU, 1999; GALIZIA & WAITZBERG, 2001; OBERLEY, 2002).

A peroxidação lipídica é definida como processo complexo, amplo, de deterioração oxidativa dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) (FRANKEL, 1984; NIKI *et al.*, 1991). Inicia-se com a abstração de um átomo de hidrogênio do grupo metil localizado entre duas duplas ligações do ácido graxo. Ocorre formação de radical peróxido, que é suficientemente reativo para continuar a reação em cadeia, formando novos radicais peróxidos. As reações de peroxidação lipídica, em cadeia, envolvem a formação de radical livre por uma molécula de PUFA, seguido pela adição de oxigênio para formar peróxido; este pode reagir com outra molécula de PUFA para produzir outro radical livre, propagando a reação (RONCADA, 2000). A decomposição dos hidroperóxidos e radicais peróxidos em uma variedade de intermediários e produtos finais, alguns biologicamente ativos, destacando-se o malonilaldeído (MDA), que podem lesar proteínas, DNA etc (WATERFALL *et al.*, 1995; LAMEU, 2001; RAY *et al.*, 2001a; RAY *et al.*, 2001b).

Em condições normais de saúde, a cascata de transferência de elétrons na mitocôndria ocorre de maneira extremamente eficiente, formando poucos radicais livres. Quando o ambiente interno do organismo torna-se hostil, o metabolismo da mitocôndria aumenta, intensificando o consumo de oxigênio e favorecendo o escape de radicais livres do sistema de transporte de elétrons (GALIZIA & WAITZBERG, 2001).

O impacto real dos radicais livres ocorre quando os H_2O_2 é exposto a certos metais de transição doadores de elétrons, especialmente o íon férrico. Nestas condições, o H_2O_2 é reduzido a $OH\cdot$. O íon hidroxila produzido tem meia vida muito curta, mas está associado com a capacidade de iniciar peroxidação lipídica, aumentar Ca^{+2} livre intracelular, lesar DNA, liberar enzimas catalíticas destrutivas e lesar membranas celulares. A ação dos radicais livres sobre as bases

de DNA produz bases modificadas. Estas bases retardam a replicação do DNA, o qual resulta em divisão celular alterada ou aberrações cromossômicas. As bases alteradas também produzem combinações alteradas de bases durante a replicação ou podem criar seqüências de DNA sem conexões entre as bases, facilitando a separação entre as fitas. Têm-se postulado que todas estas alterações poderiam propiciar o aparecimento de alteração celular neoplásica (GUTTERIDGE & HALLIWELL, 1990; GALIZIA & WAITZBERG, 2001; OBERLEY, 2002).

A hipótese do estresse oxidativo na carcinogênese afirma que muitos carcinógenos podem gerar radicais livres que danificam as células, pré-dispondo estas células a transformações malignas. Os radicais livres de oxigênio podem variar/diversificar os efeitos moleculares e celulares resultando em mutagenicidade, citotoxicidade e alterações na expressão dos genes envolvidos na iniciação e promoção da carcinogênese (RAY *et al.*, 2001a).

Os mecanismos exatos pelos quais os lipídios e lipoproteínas contribuem para a carcinogênese não estão completamente compreendidos. No entanto trabalhos sugerem que os produtos da peroxidação lipídica, como malondialdeído (MDA), podem se ligar com proteínas, e possivelmente nas fitas de DNA (RAY *et al.*, 2001b).

1.5.5. Obesidade

O estado nutricional do animal pode desempenhar papel chave na suscetibilidade à neoplasia (MORRIS & ROGERS, 2000).

A dieta lista entre os principais responsáveis pela etiologia e prevenção do câncer, sendo esta a principal rota de exposição dos animais aos carcinógenos químicos. No entanto, informações inconsistentes existem entre os estudos que têm investigado a correlação entre dieta e câncer (HOWE *et al.*, 1990; ARUOMA, 1993; CHAPELON *et al.*, 1997; STOLL, 1998; GREENWALD, 1999; GREENWALD *et al.*, 2001).

A hipótese que dietas relativamente ricas em gordura total estão associadas com alto risco de câncer mamário é plausível porque: (1) sabe-se que ácidos

graxos afetam diretamente a química celular; (2) ingestão elevada de gordura causa obesidade, a qual está relacionada com câncer de mama; e (3) estudos epidemiológicos mostram que a incidência de câncer de mama em algumas áreas geográficas é maior nos subgrupos que ingerem grandes quantidades de dietas ricas em gordura (SONNESCHEIN, 1988; KOLONEL, 1997).

A obesidade, definida como condição de acúmulo excessivo de gordura corpórea, acarreta aos seus portadores, inúmeras disfunções na fisiologia de diferentes sistemas orgânicos, quais sejam: cardiovascular, osteoarticular, imunológico, digestivo e endócrino, fazendo que o risco de ocorrência de neoplasias e outras patologias cresça, além de prejuízo óbvio à qualidade de vida do animal (BORGES & NUNES, 1998; HILL'S, 1999). É uma doença nutricional de gênese multifatorial e, nas sociedades ditas modernas e ocidentalizadas, é considerada a forma mais comum de má-nutrição (JERICÓ & SCHEFFER, 2002).

Inúmeros são os trabalhos encontrados na literatura que demonstram fortes evidências do papel protetor dos vegetais, frutas, grãos, dietas ricas em fibras, certos micronutrientes e alguns ácidos graxos contra alguns tipos de câncer. Em contraste, outros fatores, como a obesidade, alguns ácidos graxos e alguns métodos de preparação da comida podem aumentar estes riscos (SHAPIRA *et al.*, 1991; CARROL, 1998; GANDINI *et al.*, 2000; GREENWALD *et al.*, 2001).

Muitos estudos têm indicado a correlação de lipídios e lipoproteínas com o risco de câncer de mama (HOLMES *et al.*, 1999; RAY *et al.*, 2001a).

Sendo uma condição mórbida de ocorrência comum também na prática veterinária a obesidade está, geralmente, associada à redução do tempo e da qualidade de vida, como também a um pior prognóstico relacionado ao câncer de mama (STOLL, 1996a). Essa condição, aliada à regularidade com que é observada, faz com que a obesidade seja considerada, atualmente, a forma mais importante de má nutrição em pequenos animais. A obesidade decorre da manutenção do balanço positivo de energia por prolongado período de tempo; a energia acumulada transforma-se em gordura. O balanço positivo advém de ingestão excessiva de energia sob forma de alimento, ou de gasto energético diminuído, ou da associação entre ambos. Diferentes fatores contribuem para

tornar o balanço energético positivo ou afetar o equilíbrio da composição corpórea. A herança genética, o sexo, a condição reprodutiva, a faixa etária, a frequência de atividade física, bem como a palatabilidade e o conteúdo calórico dos alimentos são inequívocos fatores de risco para o desenvolvimento da obesidade, e para o aumento da sua prevalência em determinada população (BRIGGS; JERICÓ & SCHEFFER, 2002).

O aumento excessivo de massa corporal esta associado com o aumento dos níveis de estrógeno disponíveis, o qual afeta de forma adversa o prognóstico de pacientes humanos com câncer de mama. Contudo, outros estudos não confirmam esta correlação (STOLL, 1996b). Nas mulheres, a sobrevida das pacientes com câncer mamário é independentemente influenciada pelo índice de massa corporal e estrógeno (MATHÉ, 2000). O mecanismo que é proposto para explicar o prognóstico desfavorável associado à obesidade no câncer de mama é a produção excessiva de estrógeno que ocorre no tecido adiposo pela aromatização da androstenediona (STOLL, 1996b; MADY, 2000; COFFEY, 2001; GREENWALD *et al.*, 2001).

O mecanismo exato ainda não se conhece, mas os metabólitos estrogênicos são excretados pela bile, e a flora intestinal e enzimas convertem estes a estradiol, que é reabsorvido. Por isso que alguns tipos de dieta rica em fibras podem diminuir a reabsorção, reduzindo os níveis de estrógenos circulantes (STOLL, 1996b).

Cães jovens tendem a apresentar gasto energético maior, direcionado aos processos anabólicos inerentes ao crescimento. Cães idosos apresentam gasto metabólicos menor, o que facilita o acúmulo de energia sob a forma de gordura, mas, por outro lado, perdem massa muscular devido à incapacidade anabólica e atrofia decorrente do envelhecimento. Postula-se também que cães adultos obesos não se tornam idosos obesos porque a atuação danosa da obesidade diminui a longevidade do animal. Assim, o cão obeso pode ter o seu tempo de vida abreviado devido às complicações decorrentes do acúmulo excessivo de gordura corpórea, tais como problemas locomotores e articulares, problemas respiratórios

e circulatórios, distúrbios digestivos e, ainda, alterações endócrinas e metabólicas, como diabetes mellitus e dislipidemias (JERICÓ & SCHEFFER, 2002).

Não há, no Brasil, relatos ou levantamentos sobre a prevalência da obesidade em cães, assim como não se conhece o perfil do cão obeso no país (JERICÓ & SCHEFFER, 2002).

Fatores como distúrbios endócrinos (WILCOCK, 1993) e nutricionais (SONNENSCHNEIN *et al.*, 1991), podem provocar alterações cromossômicas nas células. Essas alterações afetam as amplificações, mutações, translocações, deleções ou desregulação da expressão gênica, interferindo com os mecanismos de proliferação, diferenciação e morte celular (KARP & BRODER, 1995). Muitos trabalhos foram conduzidos pela associação da gordura total, de alimentos ricos em gordura e alguns tipos de ácidos graxos com o risco de câncer, incluindo o de mama (STOLL, 1998; RAY *et al.*, 2001a). Contudo, estes achados sugerem que a ligação entre gordura e o risco de câncer depende do tipo de gordura consumida, ou até mesmo do total de gordura ingerida (GREENWALD *et al.*, 2001).

Os ácidos graxos influenciam diretamente vários passos na carcinogênese por meio de mecanismos que incluem: peroxidação dos PUFA's e subsequente lesão de DNA; efeitos nas concentrações estrogênicas e sua disponibilidade; efeito nas enzimas da membrana que regulam o metabolismo de xenobióticos; alterações nas membranas celulares, resultando em alterações nos receptores de hormônio e fatores de crescimento, e vários outros (BARTSCH *et al.*, 1999; GREENWALD, 1999).

Dietas contendo elevados níveis de ácidos graxos podem favorecer seu acúmulo nos tecidos, tornando-os mais vulneráveis para a peroxidação lipídica, especialmente se a peroxidação superar o mecanismo antioxidante (HALL, 1996; WANDER *et al.*, 1997).

Estudos experimentais indicam que PUFA's n-3 e n-6 estão envolvidos na regulação e transcrição genética, estabilidade do mRNA e diferenciação normal das células, e que n-6 PUFA's afetam a expressão do gene supressor tumoral (SIMONSEN *et al.*, 1998; deDECKER, 1999; GREENWALD *et al.*, 2001).

Geralmente, o n-6 (ácido linoléico) parece acentuar na fase promocional da carcinogênese em modelos para câncer de mama. Por outro lado, o n-3 (ácido linolênico) parece exercer efeito inibitório na carcinogênese mamária (ARCHER, 1997; STOLL, 1998). Tal fato sugere a importância do balanço entre n-3 e n-6 (HARRIS, 1996; BAGGA *et al.*, 1997).

1.6. Importância acadêmico-científica

Os tumores mamários espontâneos dos canídeos apresentam várias características epidemiológicas, clínicas e biológicas semelhantes aos da espécie humana e por isso vêm sendo utilizados como modelos para o conhecimento dos vários aspectos da carcinogênese mamária no homem (SCHNEIDER *et al.*, 1969; HAMILTON *et al.*, 1977; NERURKAR *et al.*, 1989; CASSALI 2000; O'BRIEN, 2000). Dentre as semelhanças destacam-se a idade do aparecimento, frequência (ELLING & UNGEMACH, 1983; MOULTON, 1990), morfologia (HAMILTON *et al.*, 1977; MOULTON, 1990), órgãos alvo de metástases (HAMILTON *et al.*, 1977), evolução clínica (SCHNEIDER *et al.*, 1969; HAMILTON *et al.*, 1977; MOULTON, 1990), presença de receptores para estrógenos (SCHNEIDER *et al.*, 1969; EVANS & PIERRPOIT, 1975; HAMILTON *et al.*, 1977), o efeito protetor da ovariectomia (MILLER, 1991; SOARES & SILVA, 1998; STRANDBERG & GOODMAN, 1974) e o tratamento cirúrgico. Entretanto, para uma mesma área geográfica, a incidência dos tumores de mama em cadelas é duas a três vezes superior a observada na mulher (STRANDBERG & GOODMAN, 1974; INABA *et al.*, 1984). Além disso, a idade de máxima incidência é de 50-80 anos nas mulheres, e de 8-11 anos, nas cadelas, o que, pela tabela de conversão de Lebeau são faixas etárias equivalentes (SCHNEIDER, 1970).

Em ambas as espécies há o importante papel da ação hormonal (60-70% dos casos) com correlação positiva entre a presença de receptores de estrógeno e progesterona e a terapia hormonal (MENDONÇA *et al.*, 1992; ALLRED *et al.*, 1998). Além disso, os tumores malignos mostraram maior índice proliferativo (maiores níveis de DNA e maior percentual de células na fase S) nos tumores

mamários tanto de mulheres como de cadelas (CASSALI, 2000). Os carcinomas mais freqüentes, nas duas espécies, são os carcinomas ductais infiltrantes e os genericamente descritos como adenocarcinomas (STRANDBERG & GOODMAN, 1974; MARTIN *et al.*, 1984; SIMON *et al.*, 1996; CASSALI, 2000).

Existe grande similaridade entre os tumores complexos na mulher e nas cadelas, no entanto as ocorrências são raras em humanos em contraste com a incidência de aproximadamente 50% do total das lesões mamárias em cadelas (STRANDBERG & GOODMAN, 1974; NERURKAR, *et al.*, 1989). Outras neoplasias mamárias que ocorrem no homem e no cão são os sarcomas, incomuns em ambas as espécies (STRANDBERG & GOODMAN, 1974).

Como nas mulheres, o carcinoma inflamatório nas cadelas se caracteriza por apresentar hiperemia, eritema e edema das glândulas mamárias, sendo uma variação dramática que simula infecções agudas da mama. Seu comportamento é bastante agressivo e de rápida evolução, obtendo prognóstico ruim (DONEGAN, 1988).

Os tumores mamários espontâneos caninos constituem modelos de estudo comparativos das neoplasias mamárias humanas. Isto porque o modelo com os pequenos animais de laboratório apresenta a desvantagem da elevada consangüinidade, freqüente associação com partículas virais e diferenças anátomo-patológicas aos tumores humanos (MARTIN *et al.*, 1984; NERURKAR *et al.*, 1989; ZUCCARI *et al.*, 2001). Mesmo assim a falta de dados epidemiológicos e de biologia molecular, o reduzido número de estudos relacionando características histológicas ao prognóstico e sobrevida e a falta de uniformização nos diferentes critérios de classificação a partir das diferenças histológicas dos tumores de cadelas, limitam sua comparação com os da espécie humana (LAGADIC *et al.*, 1990).

1.7. Propedêutica diagnóstica

1.7.1. Clínica

Mesmo na ausência de causas manifestas de morte, os animais com câncer ainda perdem peso progressivamente e morrem. Geralmente a massa neoplásica não pode explicar completamente a morte em termos mecânicos, deve-se então cogitar sobre mecanismos mais sutis que desempenham papéis importantes na morte do paciente com câncer (RUBIN & FARBER, 2002).

A caquexia é achado comum nas doenças crônicas como o câncer. É caracterizada pela perda de peso, menor síntese de albumina, anemia e alterações nos processos de cicatrização e imunocompetência (TRACEY & CERAMI, 1993). Desta forma, desgaste de tecido periférico, hipoalbuminemia, hemoglobina reduzida e hipoglicemia constituem indicadores de gravidade da doença (WOLFSHEIMER, 2000; WONG *et al.*, 2001).

Neoplasias mamárias se apresentam usualmente como nódulos e cerca de 90% destas lesões são detectadas pelo exame clínico (MISDORP *et al.*, 1999). Este deve seguir uma rotina padronizada, com condições ideais e a necessária tranquilidade, com levantamento mais completo possível da história pregressa (BARCELLOS, 1984; STONE, 1998). Sabendo-se que certas neoplasias afetam animais de acordo com idade, sexo ou raça deve-se obter essas identificações e também dados de ambiente, dieta, história médica e, também, do tipo, duração e velocidade de crescimento, de queixa primária, edema ou massas, registros de tratamentos anteriores, entre outros (BIRCHARD, 1998; RUBIN & FARBER, 2002).

A inspeção e a palpação constituem as duas etapas do exame físico, observando dados como, simetria glandular, localização, contorno, apresentação e contorno do tumor, inflamações ou ulcerações, condições corpóreas e, particularmente dos linfonodos regionais (BARCELLOS, 1984).

Antigamente a retração da pele na glândula mamária era considerada como diagnóstico virtual de câncer de mama, mas atualmente se sabe que lesões

benignas podem produzir estas alterações, notavelmente em necrose do tecido adiposo e em mastites (DONEGAN, 1988).

A palpação deve envolver as mamas e os linfonodos regionais. A mama é dedilhada, por setor, em posição correta da paciente e das mãos do examinador (BLAMEY & ELSTON, 1986; PINOTTI, 1991). Aproximadamente 70% de todos os cânceres de mama são palpáveis e quase 50% dos tumores com 0,6 a 1,0 cm de diâmetro são detectáveis ao exame clínico (DONEGAN, 1988).

Embora as lesões com certas características tenham maior probabilidade de ser cancerosas (lesões pétreas, irregulares, fixas ou indolores), apenas o exame físico não consegue excluir uma neoplasia maligna (BARROWS *et al.*, 1986; LIPPMAN, 1998). Salienta-se que achados clínicos característicos de outros tumores malignos (diâmetro maior que 5 cm, crescimento rápido, infiltração, eritema e edema) nem sempre são válidos para as neoplasias de mama. Havendo, pois, necessidade dos exames citológico e histológico para identificação de células e metástases (BRASIL, 1998; ZUCCARI, 1999).

A remoção do câncer de mama freqüentemente mostra histologicamente a extensão do tumor para o mamilo, principalmente se o tumor primário estiver próximo (2,5cm) ou for maior que 2,0 cm de diâmetro. Os sinais clínicos estão ocultos em 50% dos casos com envolvimento da aréola. Do ponto de vista clínico, duas alterações são notáveis nos mamilos: retração e a doença de Paget. Na doença de Paget a lesão representa progressão intraepitelial do carcinoma dos ductos próximos ao mamilo. As alterações microscópicas podem estar presentes com ou sem alterações da pele, sendo histologicamente caracterizadas com a presença de células grandes e citoplasma “pálido”. A lesão pode ou não apresentar massas palpáveis na mama. O prognóstico da paciente sem a massa palpável é melhor do que a que apresenta massa (DONEGAN, 1988; MOULTON, 1990).

Das neoplasias malignas mamárias, nos cães, 25% a 50% delas apresentam metástases antes da cirurgia (STONE, 1998). A existência de metástases torácicas, abdominais ou do tecido linfóide podem ser verificadas com o auxílio de diagnóstico por imagem (JOHNSTON, 1993; FOSSUM *et al.*, 1997; O’KEEFE, 1997). Com o auxílio do ultra-som pode-se determinar a proximidade de um

tumor aos grandes vasos sangüíneos, determinar a natureza cavitária ou cística das massas e avaliar o volume tumoral inicial e pós-tratamento (FRANCO, 1997; STONE, 1998).

1.7.2. Classificação TNM-clínico

A prática de se dividir os casos de câncer em grupos, de acordo com os chamados estágios, surgiu do fato de que as taxas de sobrevida eram maiores para os casos nos quais a doença era localizada, do que para aqueles nos quais a doença tinha se estendido além do órgão de origem. Esses grupos eram freqüentemente referidos como casos iniciais e avançados (União Internacional Contra o Câncer - UICC, 1998).

A União Internacional Contra o Câncer (UICC) acredita que é importante alcançar a concordância no registro da informação precisa da extensão da doença para cada localização anatômica, porque a descrição clínica acurada e a classificação histopatológica das neoplasias podem interessar a um número de objetivos correlatos a saber: ajudar o médico no planejamento do tratamento, dar alguma indicação do prognóstico, ajudar na avaliação dos resultados de tratamento, facilitar a troca de informação entre os centros de tratamento, contribuir para a pesquisa contínua sobre o câncer humano.

O sistema TNM trabalha prioritariamente com a classificação por extensão anatômica da doença determinada clínica e histopatologicamente (BRASIL, 1998).

As classificações para o estadiamento clínico e patológico do câncer de mama propostas pela American Joint Committee on Cancer (AJCC) e UICC são as classificações TNM clínica (TNMc) e a TNM histopatológica (TNMp) (AJCC, 1989; EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

A classificação precisa requer a compreensão do comportamento biológico dos diferentes tipos tumorais e uma avaliação diagnóstica completa. Teoricamente, a classificação é utilizada para determinar a extensão da doença neoplásica, proporcionar uma estrutura para planejamento de tratamento racional,

permitir uma comparação uniforme e uma avaliação dos resultados de tratamento e auxiliar no prognóstico completo (BRASIL, 1998; BARTOW, 2002).

Os esquemas de classificação são frequentemente revisados devido à aquisição constante de novas informações prognósticas (BRASIL, 1998).

1.7.3. Citologia aspirativa por agulha fina (CAAF)

A amostragem citológica por meio de aspiração com agulha é, em geral, mais conveniente e menos complicada que uma biópsia aberta. É particularmente importante nos tumores malignos de estágio avançado, que não são corrigidos por tratamento cirúrgico (ZACH, 1972; DEBORAH, 2001; EHYA, 2002).

A citologia apresenta tanto vantagens quanto limitações quando comparada ao exame de amostras histológicas (biópsia). Como exemplos de vantagens podem ser citados menor traumatismo, maior superfície de amostragem, diagnóstico rápido, maior relação de custo-eficácia, entre outros; e como limitações citam-se a classificação do tipo de tumor, o tamanho pequeno da amostra, a extensão e a profundidade da invasão, entre outros (HAJDU *et al.*, 1989; LAYFIELD & DOOD, 1996; MELAMED *et al.*, 1998; EHYA, 2002).

1.7.4. Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo pode ser avaliado, diretamente, por métodos físicos (ressonância eletrônica de spin e quimoluminescência) ou, mais comumente, indiretamente por métodos químicos. A avaliação direta é limitada pela meia vida extremamente curta desses compostos e pelo difícil acesso aos locais produtores. As medidas indiretas englobam determinações dos produtos do dano oxidativo, do consumo de antioxidantes ou antioxidantes oxidativos (BIRD & DRAPER, 1984; FAVIER, 1994; OBERLEY, 2002).

Como a sensibilidade e especificidade desses marcadores são diferentes recomenda-se o uso de pelo menos dois indicadores podendo um deles ser geral e

o outro específico. O indicador da peroxidação lipídica mais usado é o malonildialdeído (FAVIER, 1997; NIELSEN *et al.*, 1997).

Dentre os antioxidantes usados na indicação do estresse oxidativo têm-se tocoferoxil, ascorbil e as relações glutathiona reduzida/oxidada (GSH/GSSG) e cisteína/cistina (Cys/Cis) (BAKER *et al.*, 1989; FAVIER, 1997).

1.7.5. Antioxidantes

O organismo possui uma elaborada rede de antioxidantes que ajuda a nos proteger dos efeitos da oxidação excessiva. Estes compostos podem ser classificados em fatores e enzimas que são sintetizadas no organismo (endógenos) e em fatores exógenos, obtidos da dieta (nutricionais) (NIELSEN, 1999; GALIZIA & WAITZBERG, 2001; HEATON *et al.*, 2002).

Os antioxidantes endógenos mais comuns incluem a catalase, a glutathiona peroxidase dependente de selênio, superóxido dismutase (SOD), dependente de cobre e zinco, ácido úrico e proteínas ligantes a metais de transição, como transferrina e ceruloplasmina. Sendo derivados de proteínas, os níveis destes antioxidantes são determinados por sua taxa de síntese e, portanto, não podem ser modificados facilmente. Como antioxidantes exógenos mais comuns temos os tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides e flavonóides. Como estes antioxidantes estão disponíveis na natureza, seus níveis podem ser manipulados por suplementos e modificações dietéticas (BEECHER, 1999; HARPER & ALBLAS, 1999; WEDEKIND *et al.*, 2002).

O α -tocoferol é oxidado nos tecidos dos animais produzindo o α -tocoferilquinona, que é o principal produto formado a partir da peroxidação dos lipídios. O α -tocoferilquinona facilmente se transforma em α -tocoferil hidroquinona. Este composto pode ser esterificado no fígado e excretado em forma conjugada nas fezes, via bile (80%) ou então sobre uma β -oxidação nos rins, formando o α -tocoferônico, sendo excretado na urina como α -tocoferano-lactona conjugado (ISLABÃO, 1977).

Com base em estudos com várias espécies, esta vitamina parece estar relacionada com número considerável de funções fisiológicas aparentemente não relacionadas, mas poucos, dos vários sintomas de deficiência observados, parecem ser comuns às diferentes espécies (MAYNARD & LOOSLI, 1966).

Os radicais de oxigênio são produzidos como resultado do processo normal de redução do oxigênio à água. Contudo estes radicais são necessários apenas quando são produzidos em doses exatas, no lugar certo e na hora certa (HEATON *et al.*, 2002)

Com a formação desses radicais livres altamente reativos pode haver o ataque às duplas-ligações das cadeias do PUFA dos fosfolípides das membranas celulares. A vitamina E quebra a formação da cadeia de radicais livres, reagindo com estes e convertendo-os numa forma menos perigosa, de fraca ou nenhuma toxicidade (NIKI *et al.*, 1991; SANT'ANA & MANCINI FILHO, 1995; YOSHIDA, 1996; RONCADA, 2000). Estes compostos provaram ser inibidores da fase de propagação da peroxidação lipídica, por meio da doação de hidrogênios a radicais peroxilas derivados de ácidos graxos (GALIZIA & WAITZBERG, 2001). Desta maneira agem como varredores de radicais livres e previnem a peroxidação lipídica que causaria o dano no DNA (BRASIL, 1991; McKEOWN, 1999). Essa reação tem que ser suficientemente rápida, para impedir a reação deste radical com outro ácido graxo insaturado, uma vez que pequenas quantidades de vitamina E protegem grande quantidade de lipídios insaturados. Assim, a falta desta vitamina resulta em lesão aos PUFA das membranas com conseqüente comprometimento da função celular. As membranas das mitocôndrias, onde a utilização de oxigênio é elevada, são particularmente sujeitas ao rompimento peroxidativo (GALIZIA & WAITZBERG, 2001; OBERLEY, 2002).

Ainda que muitas funções da vitamina E sejam desconhecidas, parecem ter importantes papéis, maiores do que os de outros nutrientes, auxiliando os animais a se recuperarem das doenças, especialmente das crônicas (BEECHER, 1999; LAMEU, 2001; WEDEKIND *et al.*, 2002).

Vitaminas antioxidantes apresentam inúmeras atividades biológicas como a estimulação imunológica, inibição da formação de nitrosaminas e alterações na ativação de metabólitos da carcinogênese (BURTON, 1994; CHARLEUX, 1996; RAY *et al.*, 2001a). Elas podem prevenir alterações genéticas inibindo os danos no DNA induzidos pelos radicais livres (STOLL, 1998; RAY *et al.*, 2001a). O mecanismo pelo qual a vitamina E contribui para efeito anticarcinogênico é que pode agir diretamente com uma variedade grande de radicais livres de oxigênio, incluindo os radicais da peroxidação lipídica e radicais hidroxilas (OH) (FREI, 1994; HUANG *et al.*, 2000; RAY *et al.*, 2001a).

Estudos envolvendo grupo-controle apresentam resultados conflitantes na associação entre os níveis sanguíneos de tocoferol com o risco de câncer de mama, e estudos prospectivos não demonstram evidências de proteção associado com os altos níveis sanguíneos (KNERT, 1988; STOLL, 1998). Níveis de tocoferol são reduzidos na presença de diabetes e obesidade e que com o aumento do consumo de PUFA's requerem aumento na ingestão de vitamina E (STOLL, 1998).

Para Stoll (1998), é possível que as vitaminas antioxidantes protejam contra a carcinogênese mamária somente na presença de alta ingestão de PUFA.

A presença de fibras, carotenóides e vitaminas específicas e minerais na dieta podem ajudar a diminuir os danos ocasionados pelos radicais livres (HATHCOCK, 1997; ZHANG *et al.*, 1999). Desta forma, pode ser considerada como fator de proteção contra doenças degenerativas, como na carcinogênese mamária (GREENWALD & McDONALD, 1997; McKEOWN, 1999; HEATON *et al.*, 2002). Estes mecanismos ocorrem por absorver e inativar compostos dietéticos que servem como promotores de câncer mediante atividade estrogênica e androgênica (GREENWALD *et al.*, 2001).

Estudo realizado com succinato de vitamina E (VES) demonstrou seu potencial antitumoral análogo à vitamina E. VES inibe o crescimento de células do câncer de mama inibindo a angiogênese (inibe a expressão do gene do fator de crescimento endotelial vascular - VEGF) (MALAFA & NEITZEL, 2000).

Estudos indicam que as células cancerígenas sintetizam quantidade maior de DNA, RNA e proteínas se comparadas com células normais, as quais podem ser controladas pela administração de vitaminas (RAY *et al.*, 2001a).

Assim como Stoll (1998), sugere-se que dietas controladas nas mulheres com alto risco de câncer de mama pode influenciar tardiamente na promoção tumoral, acredita-se na mesma possibilidade para com os animais.

Para que se possa implementar o uso de antioxidantes *in vivo*, é necessário conhecer os caminhos metabólicos, as reações bioquímicas e as interações dos mesmos, tanto com outros constituintes celulares, como entre si, sendo esta portanto uma área muito profícua para a investigação científica (SANT'ANA & MANCINI FILHO, 1995).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais

- Caracterizar os tipos de câncer mamário de cadelas sem raça definida mediante métodos clínicos, citopatológicos e bioquímicos.

2.2. Específicos

- Conhecer as características clínicas dos portadores do câncer mamário;
- Estabelecer as características citopatológicas do câncer mamário;
- Estipular os indicadores dos estados nutricionais e pró/antioxidantes de portadores de câncer mamário;
- Investigar a influência do porte dos animais;
- Investigar a associação dos indicadores clínicos, citopatológicos e bioquímicos.

***MATERIAL E
MÉTODOS***

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Pacientes

Dentre os animais atendidos no serviço de Patologia, foram selecionadas 30 cadelas, sem raça definida (SRD), de diferentes faixas etárias, agrupadas em três grupos de 10 animais cada, classificados em grupos de pequeno, médio e grande portes. O critério de inclusão foi baseado na suspeita de neoplasia mamária confirmada pelo Serviço de Patologia mediante à citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) e exame clínico completo. A confirmação de malignidade da neoplasia mamária foi estabelecida com a paciente e cliente ainda na sala de exames (ambulatoriais). Quando possível, foram obtidas junto aos seus respectivos proprietários, a história detalhada e, em particular, as características relacionadas ao ciclo estral.

Para a realização deste estudo foram obedecidas as normas éticas exigidas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal – CEEA protocolo nº 29/99 aprovado em Pesquisa local e incluiu a obtenção do consentimento esclarecido de cada participante (proprietário).

3.2. Análise microscópica

Para a realização deste estudo desenvolveu-se protocolo (Anexo 1) para a coleta sistematizada dos dados do exame citopatológico e laudo. O protocolo segue as referências de Silverman (1991); Baker e Lumsden (1999); Shull e Maddux (1999) e Zakhour e Wells (1999).

A leitura do material foi realizada em microscópio de luz, seguindo os critérios: 100x para avaliação da celularidade e qualidade da coloração; 200x para características de esfoliação e avaliação dos tipos celulares; e, por fim, o aumento de 400x para análise morfológica individual das células (características citoplasmáticas, cromatina nuclear, nucléolos, entre outros).

3.3. Exame Citopatológico

O exame citopatológico foi realizado por aspirações com agulha fina (CAAF). Para tanto utilizaram-se algodão embebido em álcool iodado para a antissepsia local, agulhas de 13x4,5 mm (insulina) para nódulos mamários menores que 1,0 cm e 30x7 mm para nódulos com diâmetro maior que 1,0 cm; seringas descartáveis de 10 ml; citoaspirador de Valeri e lâminas histológicas com e sem extremidades fosca. Em nenhum dos casos foi necessária a utilização de anestésicos. A Figura 1 mostra o procedimento para a realização da CAAF até a distensão do material em lâminas de microscopia.

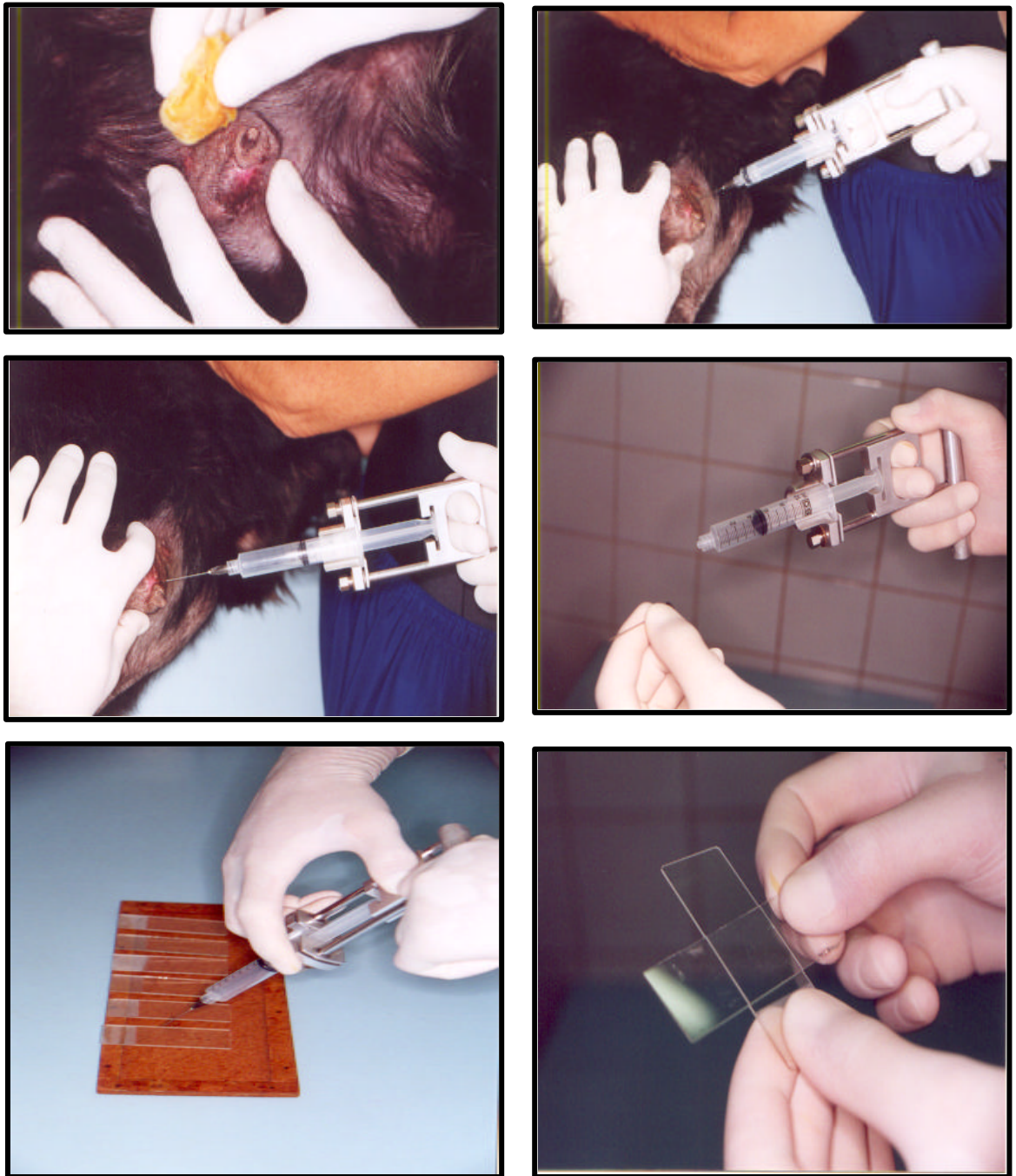


Figura 1 - Antissepsia local (A). Introdução da agulha (B). Aspiração do material (pressão negativa do êmbolo da seringa e posterior descompressão do mesmo com a agulha ainda na lesão) C. Remoção da agulha e sucção do êmbolo (D). Reposição da agulha à seringa e distensão do material puncionado em lâminas histológicas (E). Esfregaço do material puncionado (F).

O número de lâminas, por punção, foi de no mínimo duas lâminas de cada nódulo mamário para cada tipo de coloração.

3.4. Coloração de Giemsa

A leitura do material aspirado pôde ser concluída após a fixação prévia durante cinco minutos em álcool metílico e posterior coloração pelo Giemsa, durante trinta minutos.

3.5. Coloração de Shorr

Após a confirmação do diagnóstico, outra lâmina foi submetida à coloração especial de Shorr, por meio da fixação imediata (fixação do material ainda úmido) em álcool etílico a 96%.

3.6. Critérios utilizados no exame Citopatológica

Os critérios citopatológicos utilizados na classificação das neoplasias malignas mamárias seguiram aqueles propostos por Silverman (1991); Baker e Lumsden (1999); Shull e Maddux (1999) e Zakhour e Wells (1999).

Carcinoma

- componente epitelial;
- células individuais ou em aglomerados (tamanho variado), geralmente hiper celularidade;
- pleomorfismo e atividade mitótica variáveis com o grau de malignidade;
- células geralmente redondas;
- núcleo redondo a oval com variabilidade de tamanho (núcleo gigante), núcleo vesicular;
- presença de hipercromasia;
- intensidades variáveis de basofilia citoplasmática e, ocasionalmente, presença de vacúolos secretórios;
- relação núcleo: citoplasma alterada;
- quantidade variável de nucléolos (macro e micronúcléolos);
- debris nucleares e “necrose no campo de fundo” (background);
- canibalismo celular.

Tumor complexo

- componentes celulares epiteliais e mesenquimais;
- material metacromático nos casos de matriz cartilaginosa e osteóide;
- células fusiformes que lembram sarcomas;
- pleomorfismo com formas multinucleares.

3.7. Análise clínica

Após a confirmação do diagnóstico para malignidade, o laudo foi encaminhado, como procedimento de rotina, para o profissional (clínico/cirurgião) responsável pelo caso. Os animais foram imediatamente identificados em fichas próprias, elaboradas pelo Serviço de Patologia Veterinária (Anexo 2). Nestas fichas eram registrados os dados de identificação do animal, o histórico e o exame clínico. O histórico dá ênfase ao comportamento reprodutivo (cios, gestações, uso de anticoncepcionais, entre outros), visto que o envolvimento hormonal é a hipótese que tem conseguido maior confirmação junto aos pesquisadores e clínicos. O exame clínico aborda os aspectos como a localização do tumor, tamanho, tempo de evolução, envolvimento de linfonodos, manifestações de prurido, e a realização de exames complementares, incluindo radiografias da cavidade torácica.

3.8. Classificação clínica da neoplasia

Após a confirmação do câncer mamário e caracterização do quadro clínico, era realizado o estadiamento clínico da doença utilizando-se o sistema TNM-clínico (Tumor-Linfonodo-Metástase) para câncer de mama, elaborado pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Esta classificação baseia-se no fato que os tumores seguem um curso biológico comum. Tem como base a dimensão do tumor (T), a avaliação da extensão aos linfonodos (N) e a presença ou não de metástases à distância (M). Após a avaliação destes fatores, os casos foram classificados em estágios que variam de I a IV graus crescentes de acordo com a gravidade da doença (Quadro 2) (BRASIL, 1998).

Nos casos de multicentricidade utilizou-se o diâmetro do maior tumor e em casos de tumores bilaterais apenas o tumor com estágio mais avançado foi considerado.

A classificação pelo TNM-clínico (adaptado de EISENBERG & KOIFMAN, 2000) tem como base os seguintes critérios:

T= Tamanho ou Extensão Tumoral (maior diâmetro do tumor primário)

Tx – tumor primário não pode ser avaliado

T0 – nenhuma evidência de tumor primário

TIS – carcinoma *in situ* ou doença de Paget do mamilo sem tumor adjacente

T1 – 2 cm ou menos

T2 - > 2,0 até 5,0 cm

T3 - > 5,0 cm

T4 – qualquer tamanho de tumor com extensão direta para parede torácica ou pele

T4a – extensão à parede torácica

T4b – edema, ulceração da pele ou nódulos cutâneos satélites confinados à mesma mama

T4c – T4a + T4b

T4d – carcinoma inflamatório

N = Envolvimento Linfonodal

Nx – linfonodos regionais não podem ser avaliados

N0 – ausência de metástases para linfonodos regionais

N1 – metástases para linfonodos regionais ipsilaterais móveis

N2 - metástases para linfonodos regionais ipsilaterais fixos (linfonodos fixos uns aos outros ou fixos a outras estruturas)

N3 – metástases para linfonodos da cadeia mamária interna ipsilateral

M = Metástase à Distância

Mx – metástases não podem ser avaliadas

M0 – não existem metástases

M1 – presença de metástases à distância

Quadro 1 - Estadiamento clínico pela classificação TNM-clínico (adaptado de EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

Estadiamento clínico			
Estadiamento	Tamanho	Linfonodo	Metástase
Estádio 0	TIS	N0	M0
Estádio I	T1	N0	M0
Estádio IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Estádio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estádio IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
Estádio IIIB	T4	*qqN	M0
	*qqT	N3	M0
Estádio IV	qqT	qqN	M1

*qqT- qualquer tamanho

*qqN- qualquer envolvimento linfonodal

No presente trabalho, pelo tamanho da amostra, optou-se pelo agrupamento dos animais nos estágios tumorais local (I), regional (IIA-IIIB) e metastático (IV).

3.9. Classificação do porte

Como meio de classificação da altura do animal, utilizou-se o método aplicado pela Confederação do Brasil Kennel Clube (CBKC, 1987), obtido pela mensuração da distância entre o solo e a cernelha, permanecendo o animal em posição quadrupedal (Figura 2).



Figura 2 - Cadela SRD portadora de câncer mamário classificada quanto ao porte.

As classificações da altura tiveram como base às normas existentes para os cães com raça definida, utilizando-se a altura limite até 35cm para porte pequeno, 36-46cm para porte médio e acima de 46cm para porte grande.

3.10. Avaliação do estado nutricional

A avaliação do estado nutricional englobou o exame físico, a determinação da condição corporal e a quantificação dos níveis plasmáticos de albumina, glicose e colesterol.

3.11. Análise da condição corporal

A metodologia aplicada para a avaliação da composição corporal e achados físicos seguiu os critérios utilizados pela Hill's através da visualização e um simples exame físico (Figura 3).

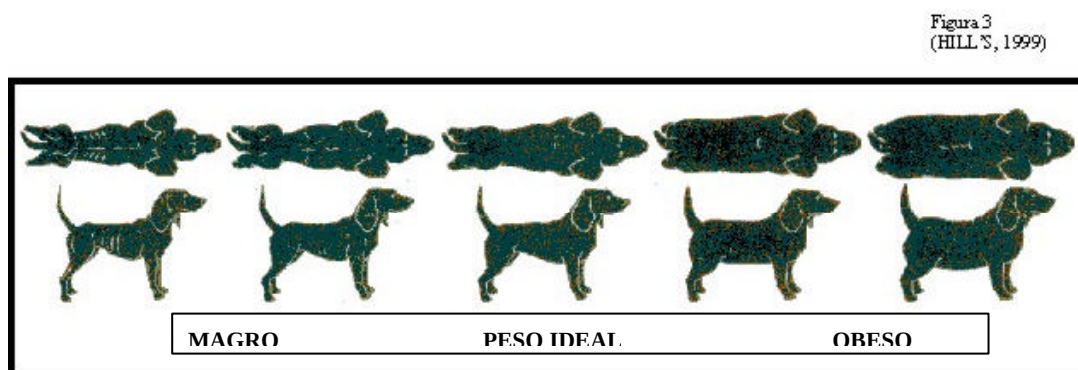


Figura 3 - Caracterização da composição corporal estabelecido pela Hill's.

MAGRO – Costelas facilmente palpáveis, sem cobertura de gordura. Base da cauda com ossos proeminentes, com o mínimo ou sem gordura entre a pele e os ossos. Visão lateral, curvatura abdominal acentuada ou marcante. Visão dorsal, silhueta da cintura bastante acentuada ou marcante.

PESO IDEAL – Costelas facilmente palpáveis, com pouca cobertura de gordura. Base da cauda com contorno suave, ossos palpáveis com fina camada de gordura. Visão lateral, curvatura abdominal e visão dorsal com silhueta da cintura proporcional.

OBESO – Costelas dificilmente palpáveis, com moderada ou abaixo de espessa cobertura de gordura. Base da cauda ligeiramente abaulada ou abaulada e difícil de palpar, abaixo de moderada ou espessa camada de gordura. Visão lateral, a gordura sobressai do abdômen e não há curvatura abdominal ou cintura. Visão dorsal, porção traseira ligeiramente ou marcadamente alargada.

Também foram registrados dados como pelagem simples ou dupla caracterizada conforme a presença ou não de sub-pêlos, considerando a pelagem dupla como a que contém sub-pêlo (CBKC, 1987). A coloração da pelagem

também seguiu os critérios utilizados pela CBKC caracterizando-as como coloração sólida a pelagem de uma cor só, seja de pigmento claro ou escuro e de coloração mista quando possuir a pelagem com pigmentos claro e escuro.

3.12. Dosagens bioquímicas

Com as pacientes em jejum hídrico e alimentar de 12 horas, foi realizada a coleta de 8,0 ml de sangue, mediante a venipunção da jugular externa, utilizando-se algodão embebido em álcool iodado para antisepsia local, seringa de 10 ml, agulha 30x7 mm, dois tubos de ensaio, sendo um com EDTA e outro sem anticoagulante.

Após a coleta do sangue, 4,0 ml foram depositados imediatamente no tubo contendo EDTA, sob agitação contínua e cuidadosa. O restante do sangue foi transferido a outro tubo sem anticoagulante. Desta maneira foi possível pela centrifugação, a obtenção do plasma e soro, respectivamente. As amostras de plasma e soro foram acondicionadas em tubos Ependorf e depositadas em congelador. Para a conservação do soro utilizou-se freezer com temperatura de -20°C e para o plasma freezer -70°C (deep freezer).

3.13. Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC)

As dosagens bioquímicas de componentes pró-oxidantes (malondialdeído) e antioxidantes (α -tocoferol) foram realizadas, utilizando-se o plasma, em aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC). As determinações do malonildialdeído (MDA) foram baseadas na reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e posterior detecção por ultravioleta (NIELSEN *et al.*, 1997). O α -tocoferol foi extraído com n-hexano e detectado por ultravioleta (ARNAUD *et al.*, 1991).

3.14. Análises colorimétricas

Como indicadores bioquímicos do estado nutricional do animal e da gravidade da doença das pacientes utilizou-se a glicemia, albuminemia e colesterolemia. As dosagens foram realizadas por Kits mediante o método colorimétrico para albumina e o método enzimático-colorimétrico para glicose e colesterol. Para tanto se empregou o Espectrofotômetro SB-190.

3.15. Análise estatística

Para possível associação entre tipo de tumor (carcinoma ou tumor complexo maligno mamário) e porte do animal ou condição corporal foi aplicado o teste de associação baseado na estatística X^2 (Qui-quadrado) (ZAR, 1996). O estudo da variação da gravidade da doença com relação aos exames bioquímicos gerais e do estresse oxidativo foi realizado pela análise de variância de um delineamento inteiramente casualizado com 3 grupos (estádios da doença- Local, Regional ou Metastático). As comparações múltiplas entre médias de grupos foram realizadas pelo teste de Tukey (ZAR, 1996). Todos os testes foram realizados ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Características gerais da amostra

Foram estudados animais de 5 a 16 anos de idade, 17 (57%) deles na faixa de 6 a 10 anos, 12 (40%) acima de dez anos e apenas um animal abaixo de seis anos.

O peso das cadelas variou de 3,3 a 40 kg. A obesidade estava presente em 25 (83%) delas (Figura 4). Em 24 (80%) cadelas a alimentação era mista, caseira e industrial (Gráfico 1), sendo que apenas seis (20%) cadelas receberam exclusivamente comida caseira e nenhuma, exclusivamente ração.

Pela história da doença atual 15 (50%) cadelas eram nulíparas e 14 (47%) apresentaram pseudogestação (Gráfico 2).

As alterações bioquímicas mais comuns no plasma dos animais foram os níveis reduzidos de α -tocoferol em 21 (70%), elevação nos níveis de MDA em 14 (47%), hipoalbuminemia e hipocolesterolemia em 11 (37%) e hipoglicemia em oito (27%) animais. Hiperglicemia e hipercolesterolemia foram observadas em seis (20%) e dois (6,7%) animais, respectivamente (Gráfico 3).

As lesões mostraram-se mais freqüentes nas mamas inguinais, acometendo 19 (63%) animais com distribuição semelhante entre as cadeias direita (63%) e esquerda (60%) (Gráfico 4). A distribuição foi crescente no sentido antero-posterior em ambas as cadeias, mais na direita (73% x 57%) do que na esquerda (70% x 43%). Dentre as 30 cadelas, seis (20%) apresentaram um único nódulo mamário enquanto que o envolvimento multicêntrico estava presente em 24 (80%) animais, percentual idêntico da incidência de envolvimento bilateral das mamas (Figura 5).

Gráfico 1 - Características gerais prevalentes nos animais.

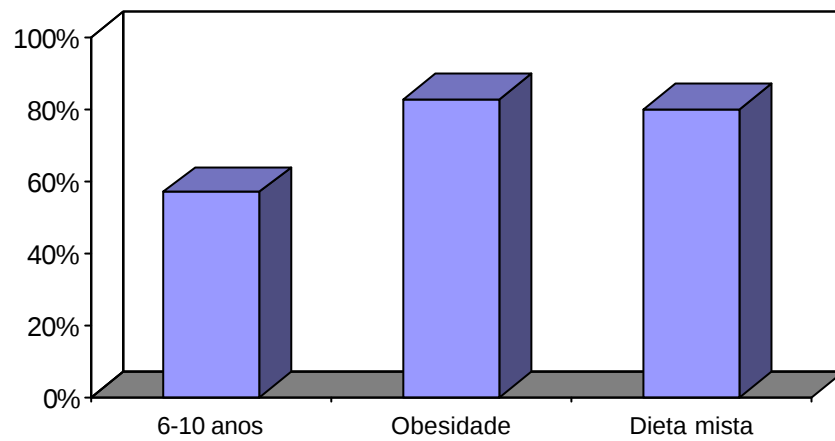


Gráfico 2 - Prevalência das características reprodutivas gerais da amostra.

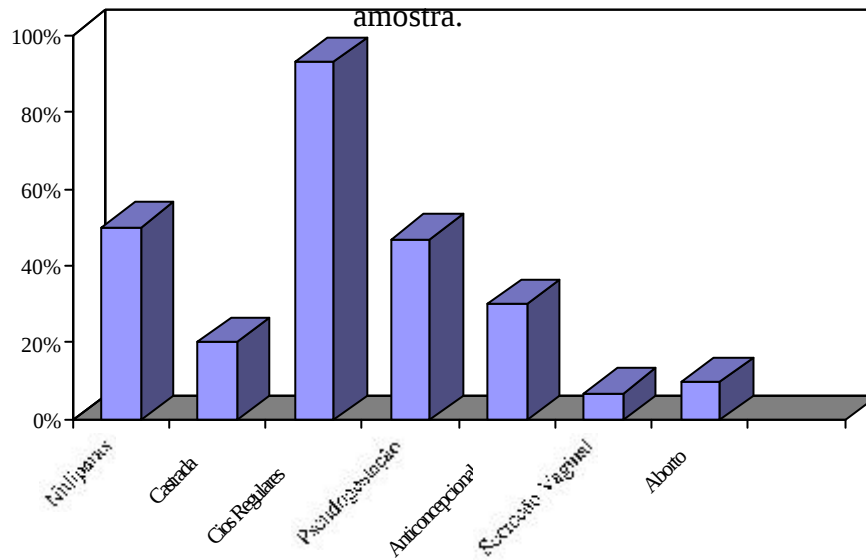


Gráfico 3 - Prevalência geral de alterações laboratoriais.

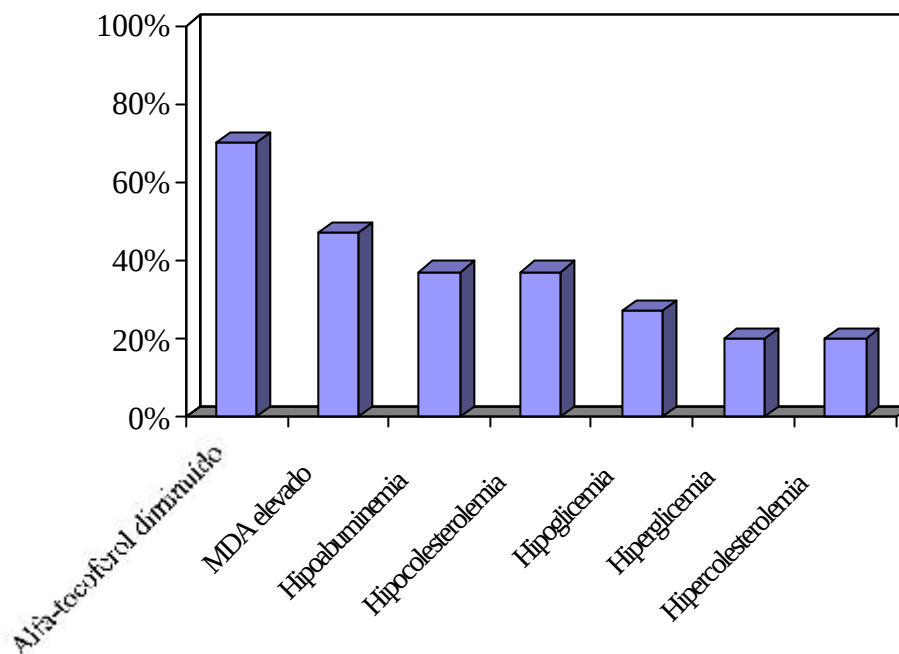


Gráfico 4 - Características gerais prevalentes das neoplasias

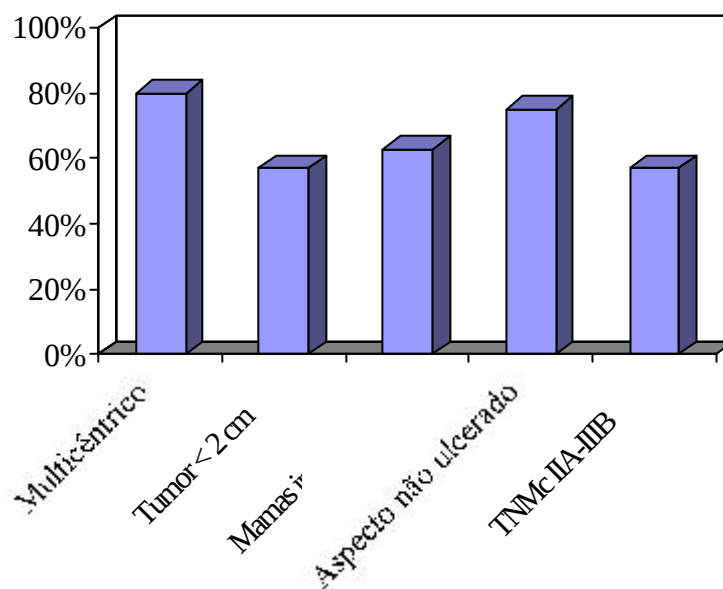




Figura 4 - Cadela SRD obesa portadora de câncer mamário nas mamas inguinais.



Figura 5 - Cadela SRD. Câncer de mama. Envolvimento multicêntrico e bilateral das mamas inguinais.

4.2. Porte dos animais

Os animais apresentaram peso variando de 3,3 a 12 kg naqueles de pequeno porte, 10 a 18 kg nos de porte médio e 18,5 a 40 kg naqueles de porte grande.

Não houve associação significativa entre o porte e idade dos animais (Tabela 1), obesidade (Tabela 2), glicemia, albuminemia, colesterolemia, malonildialdeído e α -tocoferol (Tabela 3); tipo (Tabela 4) e estadiamento clínico do tumor (Tabela 5).

Apesar da não significância estatística destaca-se que dentre os animais de porte pequeno, 24 (80%) apresentaram exclusivamente carcinoma mamário e dentre aqueles de porte médio e grande o carcinoma associado ao tumor complexo acometeu cinco (50%) animais de cada grupo, respectivamente. A hipoalbuminemia ($< 2,6$ g/dL) prevaleceu dentre os de porte grande (60%). Paralelamente a hipoalbuminemia, também a hipocolesterolemia (< 135 mg/dL) atingiu 11 (37%) animais, sendo cinco deles (50%) de porte grande (Tabela 6).

A pelagem simples foi verificada em todos os animais de porte pequeno, oito de porte médio (80%) e cinco de porte grande (50%). De modo semelhante, a coloração mista foi freqüente em 80, 90 e 40%, respectivamente para os portes pequeno, médio e grande.

Dentre todas as cadelas estudadas 15 (50%) eram nulíparas, com distribuição de oito (80%), quatro (40%) e três (30%) animais de portes pequeno, médio e grande, respectivamente. Apenas duas cadelas (de porte médio) não apresentaramaios regulares e outras seis (três grandes, um de porte médio e dois de pequeno porte) foram ovário-histerectomizadas após o terceiro ano de vida.

A história de pseudogestação esteve presente em 14 (47%) animais, na seqüência dos portes pequeno (60%), grande (50%) e médio (30%).

Apenas duas cadelas (porte pequeno) apresentaram secreção vaginal, nove (cinco de porte médio, três grandes e uma de porte pequeno) receberam anticoncepcional e três (uma de cada grupo) apresentaram aborto até o momento do estudo.

Assim, embora sem associação significativa com idade, obesidade e variáveis bioquímicas plasmáticas, o porte dos animais apresentou influência nos seguintes parâmetros (Gráficos 5 e 6):

- nos animais de pequeno porte prevaleceram a idade de 6-10 anos (70%), pelagem simples (100%), nuliparidade (80%), pseudogestação (60%) e obesidade (90%); neoplasia tipo carcinoma (80%), em estadiamento clínico IIA-IIIB (80%), com MDA elevado (50%) e menores frequências de hipoalbuminemia (20%) e hipovitaminose E (60%).
- nos animais de grande porte prevaleceram a idade superior a 10 anos (60%), a associação de tumores (50%), no estadiamento IIA-IIIB (60%), com hipoalbuminemia (60%), hipocolesterolemia (50%) e hipovitaminose E (80%), paralelamente houve menores frequências de pelagem simples (50%), nuliparidade (30%), glicose (10%) e MDA elevado (40%).
- nos animais de porte médio prevaleceu a hiperglicemia (30%) associada às menores frequências de obesidade (70%), pseudogestação (30%) e hipocolesterolemia (20%).

Tabela 1 - Distribuição dos animais de acordo com a idade e porte.

*Idade	Porte			Total
	Pequeno	Médio	Grande	
0-5	1	0	0	1
6-10	7	6	4	17
> 10	2	4	6	12
Total	10	10	10	30

$$X^2 = 4,82, p = 0,306$$

*Idade = anos

Tabela 2 - Distribuição dos animais de acordo com a obesidade e porte.

Obesidade	Porte			Total
	Pequeno	Médio	Grande	
Presente	9	7	9	25
Ausente	1	3	1	5
Total	10	10	10	30

$$X^2 = 1,92, p = 0,383$$

Tabela 3 - Diferenciação das variáveis bioquímicas (média e desvio padrão) segundo o porte dos animais.

Bioquímica	Porte			Valor de p
	Pequeno	Médio	Grande	
Glicose (mg/dL)	91,8±17,8 ^(a)	89,2±34,8 ^(a)	82,1±21,2 ^(a)	P= 0,687
Albumina (g/dL)	2,7±0,45 ^(a)	2,6±0,48 ^(a)	2,4±0,62 ^(a)	P= 0,257
Colesterol (mg/dL)	169±72,3 ^(a)	214±66,3 ^(a)	151±55,6 ^(a)	P= 0,135
α-tocoferol (μmol/L)	14,4±6,7 ^(a)	14,4±7,9 ^(a)	11,4±7,5 ^(a)	P= 0,584
*MDA (μmol/L)	1,4±1,7 ^(a)	1,9±2,4 ^(a)	1,7±1,9 ^(a)	P=0,867

Para cada variável, médias de grupos seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem significativamente (P>0,05). *MDA = malonildialdeído.

Tabela 4 - Incidência de lesões neoplásicas nas cadelas conforme o porte.

Lesões neoplásicas	Porte			Total
	Pequeno	Médio	Grande	
Carcinoma (Ca)	8	4	4	16
Tumor complexo (TC)	2	1	1	4
Ca + TC	0	5	5	10
Total	10	10	10	30

$X^2 = 7,5; p = 0,112$

Tabela 5 - Incidência do estadiamento clínico do câncer (TNMc) de acordo com o porte dos animais.

TNMc	Porte			Total
	Pequeno	Médio	Grande	
I	3	2	3	8
IIA-IIIB	6	5	6	17
IV	1	3	1	5
Total	10	10	10	30

$X^2 = 1,968, p = 0,742$

Tabela 6 - Distribuição das variáveis bioquímicas laboratoriais de acordo com o porte dos animais.

Animal	Glicose (mg/dL)			Albumina (g/dL)			Colesterol (mg/dL)		
	Pequeno	Médio	Grande	Pequeno	Médio	Grande	Pequeno	Médio	Grande
1	66	64	85	3,2	3,1	1,0	181	236	109
2	98	64	40	2,9	1,7	2,1	198	109	189
3	92	100	62	2,0	2,6	2,1	133	184	127
4	78	96	91	2,7	2,4	2,5	73	105	90
5	84	132	97	1,9	2,9	2,5	90	286	196
6	73	67	87	3,3	2,7	3,0	188	238	159
7	88	22	63	2,8	2,0	1,8	134	221	271
8	123	133	94	2,9	2,6	2,9	139	213	109
9	104	100	88	2,7	2,9	2,6	249	260	154
10	112	114	114	3,0	3,3	3,0	305	286	106
X±s	91,8±17,8	89,2±34,8	82,1±21,2	2,74±0,45	2,62±0,48	2,35±0,62	169±70,8	213,8±64,4	151±55,5

X±s = média ± desvio padrão

Gráfico 5 - Influência do porte sobre as características gerais da amostra

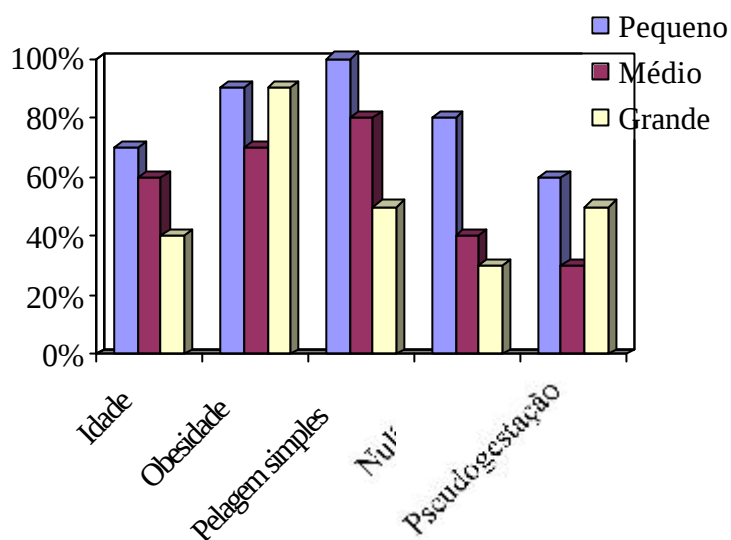
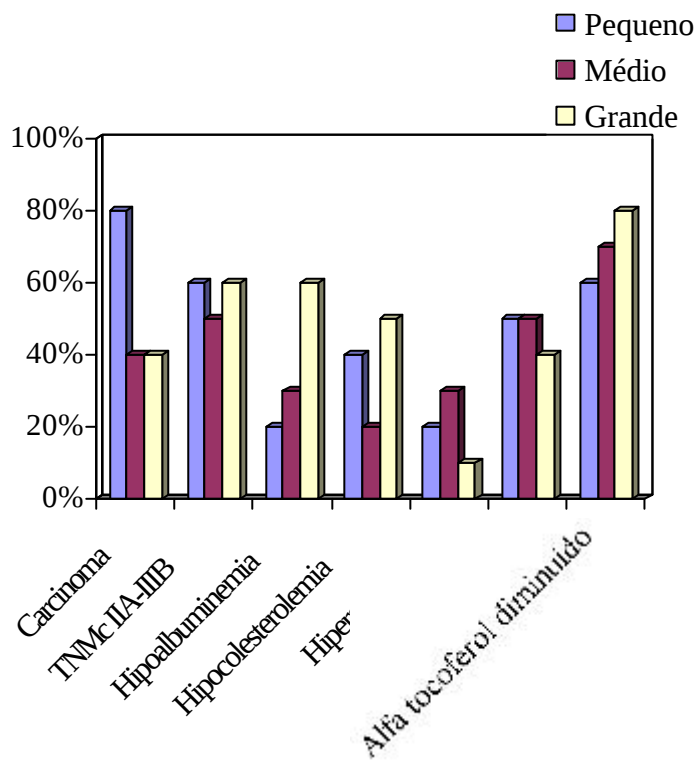


Gráfico 6 - Influência do porte sobre as características clínico-laboratoriais.



4.3. Estadiamento clínico do câncer

Os dados clínicos mostraram existência do estadiamento tumoral IIA-IIIB, em 17 (57%) animais seguido de oito (26%) animais no estágio I. São estatisticamente diferentes os estágios IIA-IIIB > IV (Figuras 6 e 7), sendo I intermediário (Tabela 7).

Não houve associação significativa do estadiamento clínico do tumor com as variáveis idade (Tabela 8) e obesidade (Tabela 9), mas a prevalência de obesidade foi IV < IIA-IIIB, com I intermediário (Tabela 7). As idades médias das cadelas nos estadiamentos I e IV foram oito e 12 anos, respectivamente.

Dentre os indicadores bioquímicos, o estadiamento mais grave (IV) esteve associado aos menores valores de glicemia (Tabela 10), enquanto que, não houve associação significativa para albuminemia, colesterolemia, malonildialdeído e α -tocoferol (Tabela 10). Mesmo assim, salienta-se que o estadiamento IIA-IIIB englobou 83% dos casos de hiperglicemia, 55% das hipoalbuminemias, 64% das hipocolesterolemias, 62% das hipovitaminoses E e 57% das pacientes com MDA elevado (Tabela 7 e Gráficos 7 e 8).

O estadiamento IIA-IIIB foi observado em metade das cadelas portadoras de carcinoma, em 75% das portadoras de tumor complexo e em 60% das portadoras de ambos. Entretanto, não houve associação estatística significativa do estadiamento clínico com o tipo de tumor (Tabela 11).

Assim, houve prevalência do estadiamento IIA-IIIB, envolvendo 17 (57%) animais seguido do I com oito (26%) animais (Gráfico 7), sendo que metade (50%) dos carcinomas e 3/4 dos tumores complexos apresentaram estadiamento IIA-IIIB (Gráfico 9).

Embora sem associação significativa da idade sobre o estadiamento tumoral, as formas mais graves (IV) foram mais frequentes nos animais mais velhos (média de 12 anos) e a menos grave nos mais jovens (média de 8 anos). Com a mesma limitação estatística, os animais obesos apresentaram-se em maioria distribuídos na sequência I (100%), IIA-IIIB (82%) e IV (60%).

Prevaleceu o estadio IIA-IIIB (57%), em frequência maior no tumor complexo (75%), associado a hiper (83%) ou hipoglicemia (38%), hipoalbuminemia (55%), hipocolesterolemia (64%), hipovitaminose E (62%) e MDA elevado (57%) Gráfico 8.

O estadio IV foi o menos prevalente no geral (17%) e também no carcinoma (13%) e complexo (25%). Foi associado à ausência de obesidade (40%) e de hiperglicemia (0%), presença de hipoglicemia (38%) e vitamina E normal (Gráficos 7 e 8).

Tabela 7 - Distribuição dos animais de acordo com as características clínico-laboratoriais e o estadiamento clínico.

Características	TNM-clínico			Total
	I	IIA-IIIB	IV	
Prevalência	8 (26%) ^{ab}	17 (57%) ^a	5 (17%) ^b	30 (100%)
Obesidade	8 (32%) ^{ab}	14 (82%) ^a	3 (60%) ^b	25 (100%)
Hipoglicemia	2 (25%) ^a	3 (37,5%) ^a	3 (37,5%) ^a	8 (100%)
Hiperglicemia	1 (17%) ^a	5 (83%) ^a	0 ^a	6 (100%)
Hipoalbuminemia	2 (19%) ^a	6 (55%) ^a	3 (27%) ^a	11 (100%)
Hipocolesterolemia	3 (27%) ^a	7 (64%) ^a	1 (9%) ^a	11 (100%)
*↑ MDA	2 (14%) ^a	8 (57%) ^a	4 (29%) ^a	14 (100%)
Hipovitaminose E	5 (24%) ^{ab}	13 (61%) ^a	3 (14%) ^b	21 (100%)

*↑ MDA: Malonildialdeído elevado

Letras diferentes = p<0,05 (entre colunas)

Tabela 8 - Distribuição da frequência do estadiamento clínico neoplásico de acordo com a idade dos animais.

*Idade	TNMc			Total
	I	IIA-IIIB	IV	
0-5	0	1	0	1
6-10	8	9	2	19
>10	0	7	3	10
Total	8	17	5	30

$$X^2 = 7,23, p = 0,124$$

*Idade = anos

Tabela 9 - Distribuição da frequência do estadiamento clínico neoplásico de acordo com a presença de obesidade dos animais.

Obesidade	TNMc			Total
	I	IIA-IIIB	IV	
Presente	8	14	3	25
Ausente	0	3	2	5
Total	8	17	5	30

$$X^2 = 3,572, p = 0,168$$

Tabela 10 - Distribuição das variáveis bioquímicas (média desvio padrão) segundo estadiamento clínico da doença.

Exame Bioquímico	TNMc			*CV
	I	IIA-IIIB	IV	
Glicose (mg/dL)	84,8 ^(ab) ± 15,2	97,1 ^(a) ± 22,4	66,1 ^(b) ± 31,1	26,0%
Albumina (g/dL)	2,85 ^(a) ± 0,29	2,46 ^(a) ± 0,57	2,48 ^(a) ± 0,63	20,0%
Colesterol (mg/dL)	162,5 ^(a) ± 73,9	180,8 ^(a) ± 72,4	194,1 ^(a) ± 49,7	38,8%
α-tocoferol μmol/L	14,6 ^(a) ± 7,7	11,5 ^(a) ± 6,0	16,6 ^(a) ± 9,4	54,3%
MDA μmol/L	1,56 ^(a) ± 2,67	1,66 ^(a) ± 1,98	1,84 ^(a) ± 0,85	122%

*CV= Coeficiente de variação. MDA= malonildialdeído. Para cada variável, médias de grupos seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem significativamente ($P>0,05$).

Tabela 11 - Incidência de lesões neoplásicas nas cadelas conforme o estadiamento clínico (TNMc).

Lesões neoplásicas	TNMc			Total
	I	IIA-IIIB	IV	
Carcinoma (Ca)	6	8	2	16
Tumor complexo (TC)	0	3	1	4
Ca + TC	2	6	2	10
TOTAL	8	17	5	30

$X^2 = 2,72$, $p = 0,606$

Gráfico 7 - Prevalência do estadiamento clínico da doença e da obesidade.

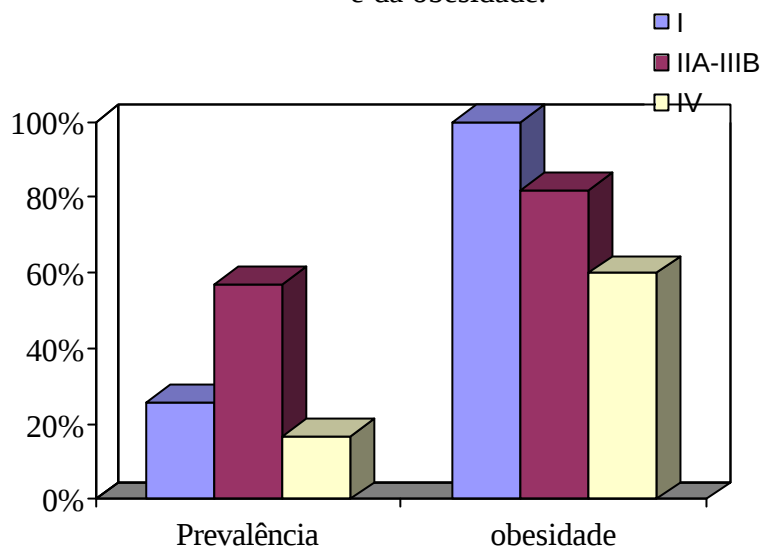


Gráfico 8 - Influência do estadiamento clínico sobre as características laboratoriais.

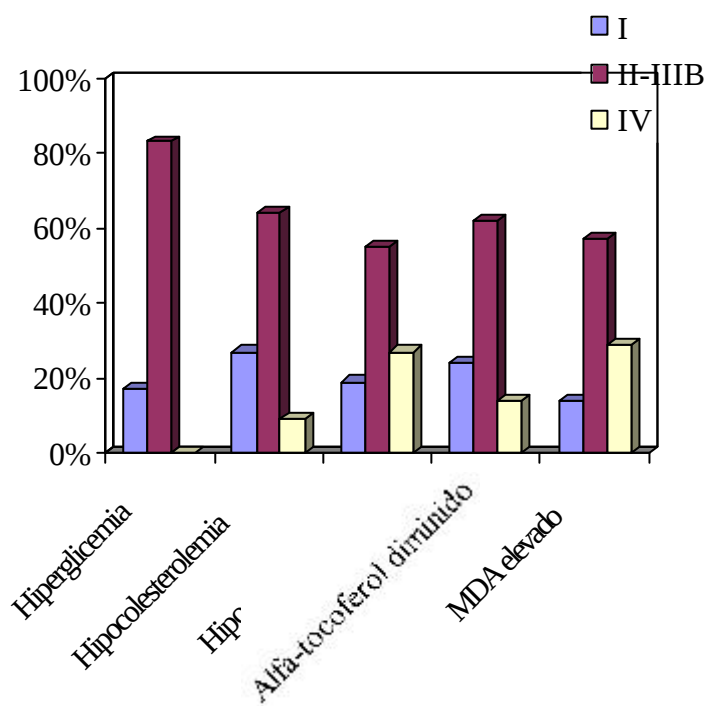


Gráfico 9 - Características clínicas das neoplasias.

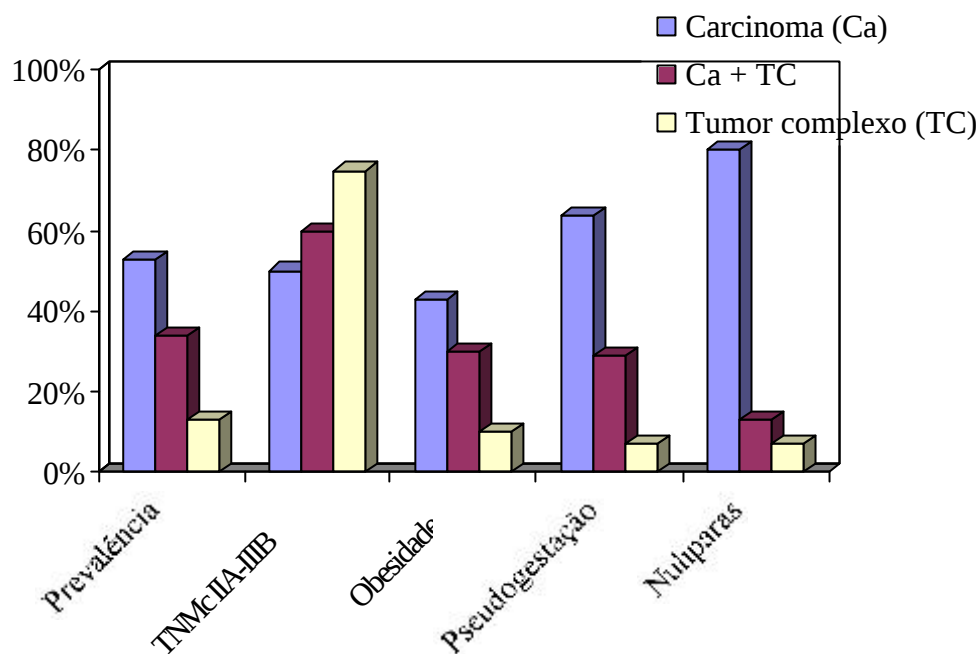


Figura 6 - Cadela SRD portadora de câncer mamário no estadiamento clínico (TNMc) IIIB.

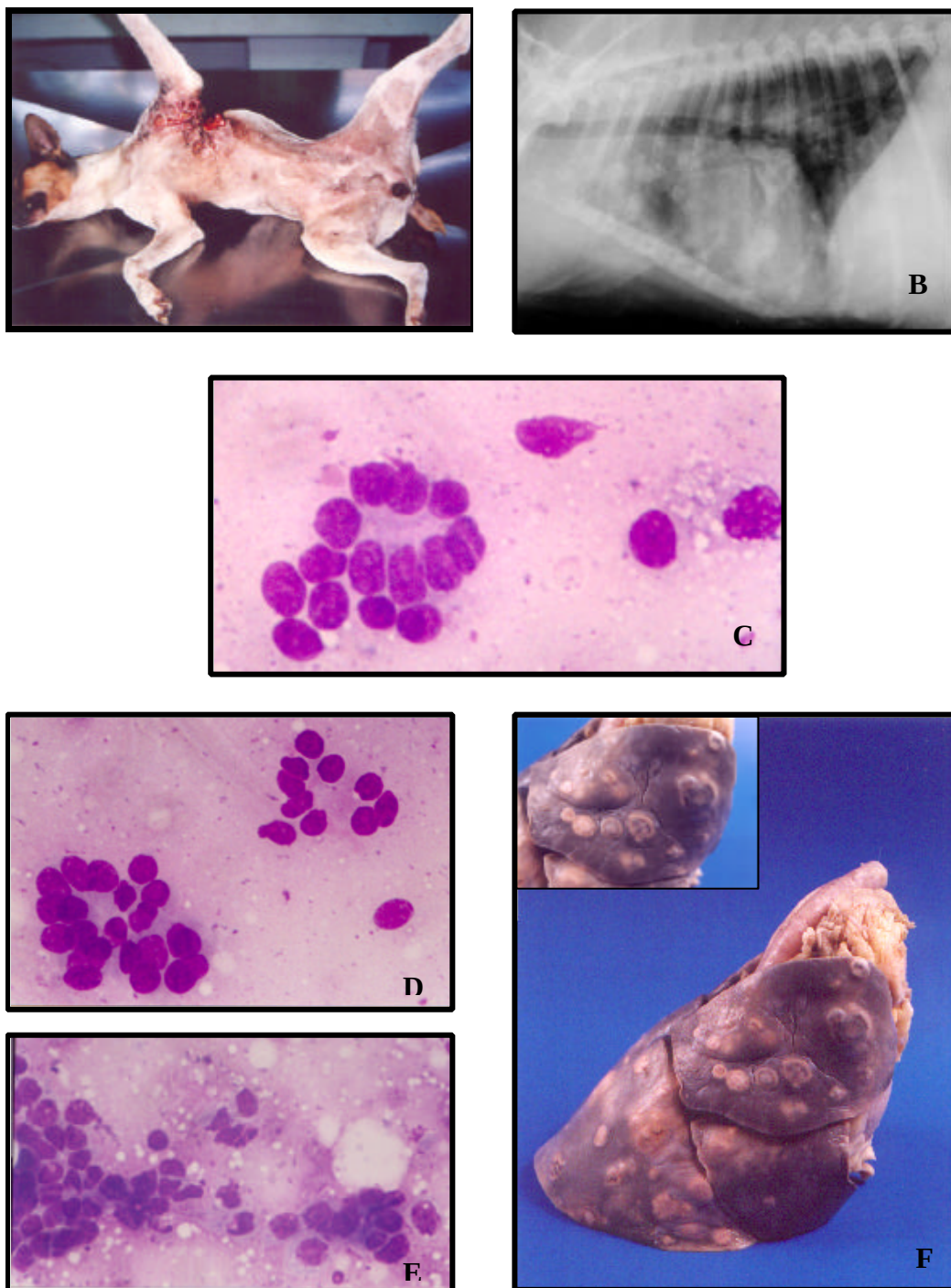


Figura 7 - Cadela SRD portadora de carcinoma mamário no estadiamento clínico IV (A). Radiografia lateral do tórax: presença de massas radiopacas circulares distribuídas pelo parênquima pulmonar e compatível com metástases (B). Citologia M1E, Giemsa 25x (C). Citologia M5D, Giemsa, 20x (D). Aglomerados hipocelulares, Giemsa 20x (E). Metástase pulmonar de carcinoma mamário, fixado em formol (F). Destaque, lobo pulmonar cranial direito.

4.4. Tipo de neoplasia

Dentre as portadoras de neoplasia mamária, 16 (53%) delas apresentaram exclusivamente o componente epitelial (carcinoma) Figura 7, dez (33%) cadelas o tumor complexo maligno associado a carcinoma e quatro (13%) o tumor complexo maligno (Figura 9). Houve diferença estatisticamente significativa na comparação carcinoma > misto (Tabela 12). A presença associada de obesidade foi vista em 43% dos carcinomas, 30% dos tumores associados e 10% dos tumores complexos, sendo (carcinoma = associado) > complexo. Essa sequência foi observada também para a nuliparidade (80%, 13% e 7%) e pseudogestação (64%, 29% e 7%), Tabela 12 e Gráfico 9.

Quanto às anormalidades bioquímicas, a presença de carcinoma foi determinante, quando isolado, da hiperglicemia (83%) e hipovitaminose E (48%) Tabela 12. No tumor complexo predominou a hipoglicemia (25%) e a hipoalbuminemia (27%). Os animais portadores de ambos os tumores mostraram hipoglicemia (63%), hipoalbuminemia (55%) e hipocolesterolemia (45%), com frequência de hipovitaminose E (43%) e elevação de MDA (43%) semelhante ao carcinoma isolado (Tabela 12 e Gráfico 10).

Assim, nas cadelas portadoras de câncer mamário, prevaleceu o carcinoma (53%), associado à obesidade (43%), nuliparidade (80%), pseudogestação (64%), hiperglicemia (83%), hipovitaminose E (48%) e MDA elevado (43%) Gráficos 9 e 10.

O tumor complexo ocorreu em menor frequência (13%), de modo associado ao não obeso (90%), menor nuliparidade (7%) e menor pseudogestação (7%), menor frequência de hipovitaminose E (9%) e de MDA alterado (14%) e assim como de hipocolesterolemia (19%) Gráficos 9 e 10.

Nas pacientes portadoras de carcinoma associado ao tumor complexo (33%), houve também a maior frequência de hipoglicemia (63%), hipoalbuminemia (55%), hipocolesterolemia (45%) e MDA elevado (43%) Gráficos 9 e 10.

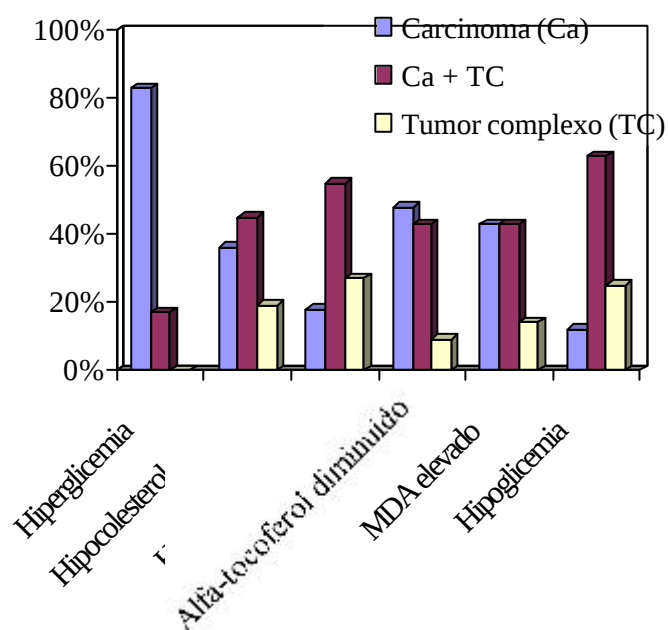
Tabela 12 - Distribuição dos animais de acordo com as características clínico-laboratoriais e o tipo de tumor apresentado.

Variáveis	Neoplasia			Total
	Carcinoma	Tumor complexo	Associado	
Prevalência	16 (53%) ^a	4 (13%) ^b	10 (34%) ^{ab}	30 (100%)
Obesidade	13 (43%) ^a	3 (10%) ^b	14 (30%) ^a	30 (100%)
Nuliparidade	24 (80%) ^a	2 (7%) ^b	4 (13%) ^a	30 (100%)
Pseugestação	19 (64%) ^a	2 (7%) ^b	9 (19%) ^{ab}	30 (100%)
Hiperglicemia	25 (83%) ^a	0 (0%) ^b	5 (17%) ^a	30 (100%)
Hipovitaminose E	14 (48%) ^a	3 (9%) ^b	13 (43%) ^a	30 (100%)
Hipoglicemia	4 (12%) ^b	7 (25%) ^{ab}	19 (63%) ^a	30 (100%)
Hipoalbuminemia	5 (18%) ^b	8 (27%) ^{ab}	17 (55%) ^a	30 (100%)
Hipocolesterolemia	11 (36%) ^a	6 (19%) ^b	13 (45%) ^a	30 (100%)
↑ MDA	13 (43%) ^a	4 (14%) ^b	13 (43%) ^a	30 (100%)

↑MDA= malonildialdeído elevado

Letras diferentes = $p < 0,05$ (entre colunas)

Gráfico 10 - Características laboratoriais das neoplasias.



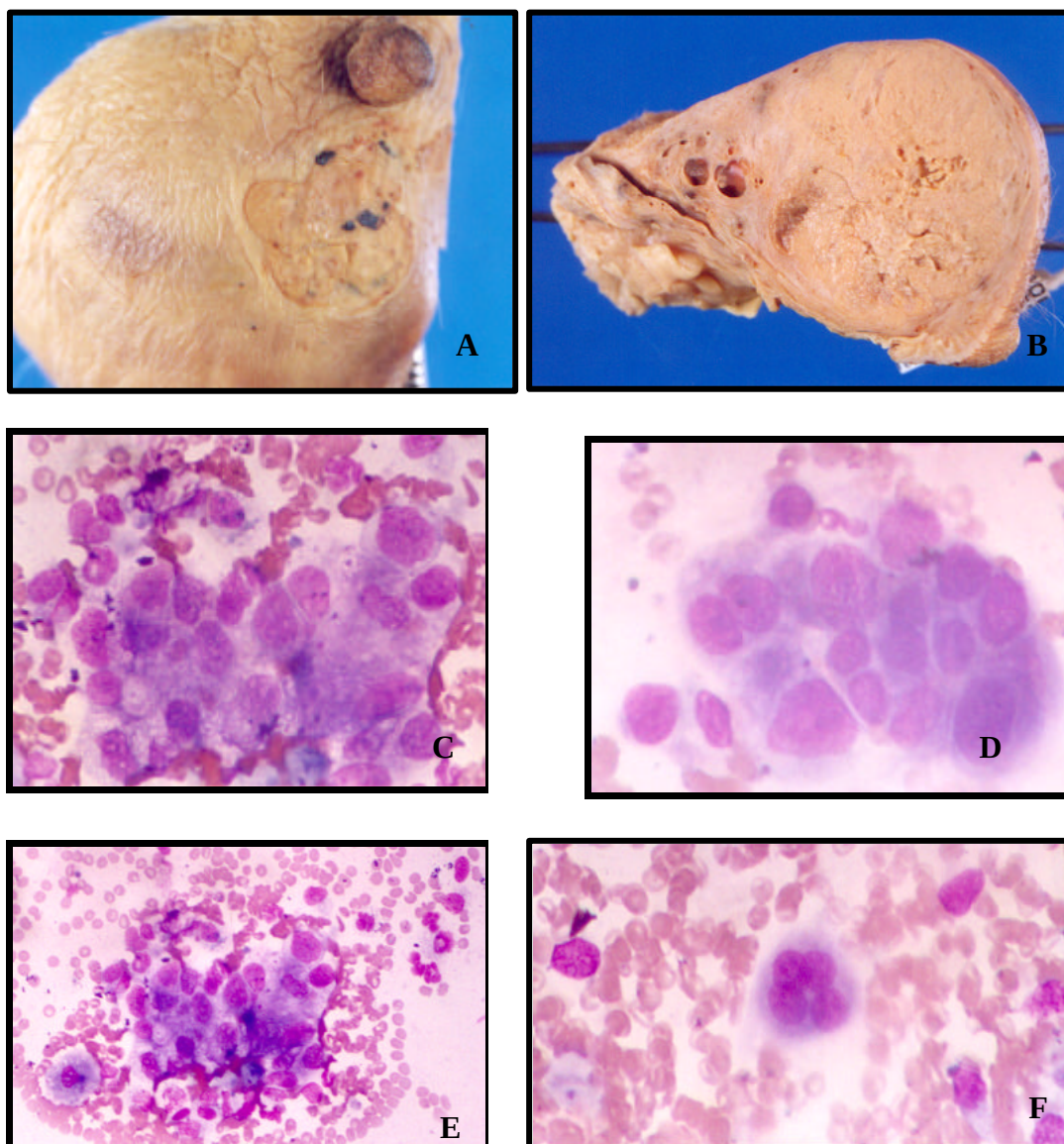


Figura 8 - Carcinoma mamário - M5E. Macroscopia, ulceração (A). Superfície de corte (B). Aspirado citopatológico apresentando pleomorfismo entre as células neoplásicas, Giemsa 25x (C). Anisocariose, Giemsa 40x (D). Pleomorfismo, Giemsa 20x (E). Célula multinucleada. Giemsa 25x (F).

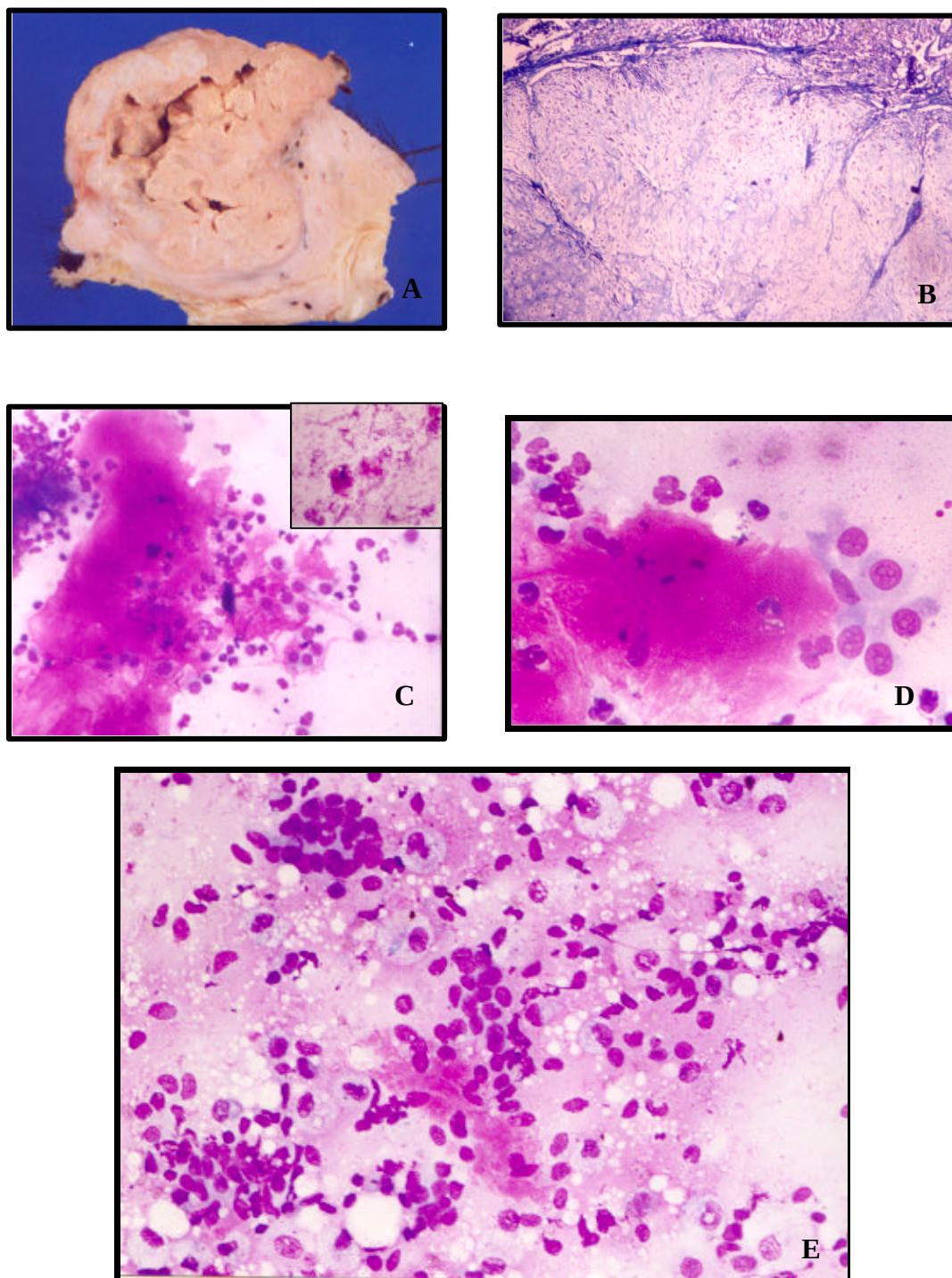


Figura 9 - Tumor complexo maligno - M5E. Superfície de corte (A). Histologia, Masson 10x (B). Aspirado citopatológico apresentando infiltrado PMN, Giemsa 20x. Destaque, Giemsa 10x (C). Aglomerado hipocelular, Giemsa 40x (D). Células individuais mista, Giemsa 25x (E).

4.5. Características citopatológicas das neoplasias

A distribuição dos tipos de tumores obedeceu à sequência (Tabela 13) carcinoma (28/49, 57% - Figura 8) e tumor complexo maligno (21/49, 43% - Figura 9).

Quanto ao tamanho do tumor 57% foram menores que dois centímetros de diâmetro, com distribuição idêntica entre carcinoma (16/28) e complexo (12/21). Adicionalmente 75% dos tumores apresentaram aspecto íntegro à avaliação macroscópica, de modo semelhante entre os tipos de tumores (Tabela 13). A prevalência dos aspectos ulcerado e cístico foi idêntica (5/49), com distribuição semelhante entre os dois tipos de tumores para a forma ulcerada (Figura 6 e 8) prevalecendo a forma cística nos carcinomas (4/28 x 1/21).

O processo inflamatório foi observado em 79% do total dos casos, sendo 61% composto por infiltrado polimorfonuclear (PMN) (Figura 9), o qual foi observado na totalidade das lesões ulceradas; infiltrado linfocítico (16%) e histiocitário (79%) Tabela 13. Em dois dos casos com infiltrado histiocitário as lesões se apresentaram ulceradas, as demais eram de lesões não ulceradas. A necrose estava presente em 63% dos casos. Não houve detecção de infiltrado plasmocitário.

Houve prevalência de aglomerados hipocelulares tumorais (27/49, 55%), pouco mais freqüente no tumor complexo (13/21, 62% - Figura 9) do que no carcinoma (14/28, 50% - Figura 7). Os aglomerados hiper celulares e aqueles com celularidade moderada prevaleceram mais dentre os carcinomas (6/28) que nos tumores complexos (3/21) - Tabela 13.

Houve nítida discriminação tumoral pela freqüência das células individuais sendo encontrada a forma mista (estroma e mioepitélio) em 100% dos tumores complexos (Figura 9) e a forma epitelial (61%), no carcinoma.

A ausência de células multinucleadas prevaleceu (42/49, 86%) em relação à sua presença. Entretanto, esse quadro foi mais apropriado ao carcinoma (7% de presença) uma vez que no tumor complexo a presença dessas células (24%) foi mais próxima da ausência (76%) - Figuras 8 e 11 e Tabela 13.

A presença de infiltrado polimorfonuclear (30/49, 61%) predominou em relação à ausência (39%) com a presença prevalecendo dentre os carcinomas (10/28, 71%) e a ausência dentre os tumores complexos (10/21, 48%).

Não houve detecção de secreção láctea em 78% (38/49) das amostras. Quando presente, foi detectada em 19% (4/21) dos tumores complexos (Figura 12) e 21% (6/28) dos casos de carcinomas (Tabela 13).

Houve prevalência do pleomorfismo moderado (35/49, 67% - Figura 8) com distribuição semelhante entre os tumores complexo (14/21, 67%) e carcinoma (21/28, 75%). Houve ausência de pleomorfismo discreto e o de intensidade acentuada (13/49, 26%) apresentou distribuição de 33% (7/21) no tumor complexo e 21% (6/28) no carcinoma. De modo análogo, também a anisocariose (Figura 8) prevaleceu, em ambos os tumores, com intensidade moderada (32/49, 65% - Tabela 13) com ausência da anisocariose discreta (Gráfico 11).

A prevalência de necrose celular (36/49, 73%) superou a ausência (13/49, 27%). Isso graças às características citopatológicas do carcinoma (89% x 11%), uma vez que no tumor complexo, presença e ausência se equipararam em 11/21 (52%) - Tabela 13 e Gráfico 11.

O achado citopatológico de núcleo uniforme prevaleceu (41/49, 84%) em relação ao vesicular (8/49, 16%) com distribuição semelhante entre os dois tipos de neoplasia (Tabela 13). De modo análogo, prevaleceu dentre os achados citopatológicos a presença de membrana nuclear uniforme (37/49, 75% - Figura 10), como característica comum aos tumores complexo (14/21, 67%) e carcinoma (23/28, 82%) Tabela 13.

A presença de um único nucléolo proeminente foi ligeiramente mais freqüente (29/49, 59% - Figura 10) do que as células com nucléolos múltiplos proeminentes (19/49, 39%). No carcinoma esta distribuição foi semelhante enquanto que no tumor complexo a prevalência citopatológica de nucléolo único proeminente foi o triplo (16/21, 76%) da do multinucleolar (Tabela 13 e Gráfico 11).

Assim, dentre as amostras analisadas, o carcinoma foi a forma neoplásica mais comum, apresentando frequência semelhante entre os portes. No entanto, a frequência do tumor complexo foi decrescente com o porte (54,5% > 31,8%, > 13,6%).

Apesar de alguns tumores atingirem grandes dimensões (15cm), os tumores com diâmetro menor que 2,0cm foram os mais frequentes. A grande maioria dos tumores apresentou-se com aspecto macroscópico íntegro, com distribuição semelhante entre os tipos de tumores. Ao exame citopatológico os aspirados contendo aglomerados hipocelulares superaram aqueles com celularidade moderada e hipercelulares, principalmente nos tumores mistos. O achado de células individual dispersa entre os aglomerados (dissociação celular) pôde caracterizar de certa forma os carcinomas, onde mais de 60% deles apresentaram apenas o envolvimento de células epiteliais, enquanto que o tumor complexo apresentou celularidade mista (epitelial e pseudo-sarcomatosa). Na maioria das amostras não foi possível observar células multinucleadas, principalmente nos carcinomas.

O achado de necrose celular prevaleceu em 73% dos casos, particularmente nos carcinomas (89%). O infiltrado histiocitário foi encontrado em grande número das amostras, independente do aspecto macroscópico e o tipo de tumor. O mesmo ocorreu com a presença de infiltrado PMN.

Os achados citológicos compatíveis com secreção láctea foram pouco frequentes entre as amostras, de modo semelhante entre os tumores complexos (19% - Figura 12) e os carcinomas.

Dentre as alterações morfológicas das células malignas observadas, o pleomorfismo moderado junto à anisocariose moderada superaram a forma discreta e acentuada, com distribuição semelhante entre os tumores. O núcleo uniforme junto a membrana nuclear uniforme foram os achados mais frequentes dentre as células envolvidas na neoplasia, o mesmo ocorreu com as células apresentando único macronúcleo proeminente.

O carcinoma foi o tipo de neoplasia mais frequente (57%) diferenciando-se do tumor complexo pela maior presença de necrose (89%), infiltrado PMN (71%),

presença de células individuais epiteliais (61%), pleomorfismo moderado (75%), anisocariose moderada (71%), membrana nuclear uniforme (82%) e múltiplos macronúcleolos proeminentes (50%).

No tumor complexo predominou o aspecto íntegro (86%), infiltrado histiocitário (86%), aglomerados hipocelulares (62%), ausência de células epiteliais, presença de células mistas (100%) e multinucleadas (24%), único macronúcleolo proeminente (76%) e presença de matriz mixóide extracelular (100%).

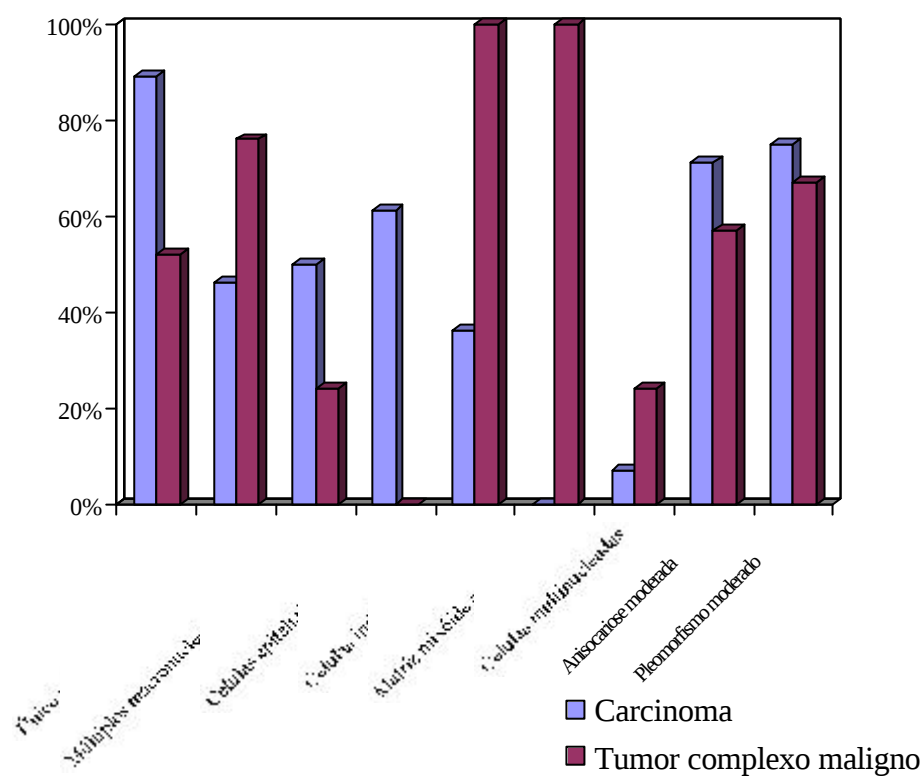
Houve semelhança entre os dois tipos de tumores para o tamanho (< 2 cm), infiltrado linfocitário, ausência de secreção láctea e presença de núcleo uniforme.

Tabela 13 - Características clínicas e citopatológicas dos tumores.

Características	Carcinoma	Tumor complexo maligno
Frequência	28/49 (57%) ^a	21/49 (43%) ^a
Tamanho < 2 cm	16/28 (57%) ^a	12/21 (57%) ^a
Aspecto integro	19/28 (68%) ^a	18/21 (86%) ^a
Infiltrado linfocítico	5/28 (18%) ^a	3/21 (14%) ^a
Infiltrado macrofágico	21/28 (75%) ^a	18/21 (86%) ^a
*Infiltrado PMN	20/28 (71%) ^a	10/21 (48%) ^a
Necrose	25/28 (89%) ^a	11/21 (52%) ^b
Aglomerados hipocelulares	14/28 (50%) ^a	13/21 (62%) ^a
Células individuais (epiteliais)	17/28 (61%) ^a	0/21 (0%) ^b
Células individuais (mistas)	10/28 (36%) ^a	21/21 (100%) ^b
Células multinucleadas	2/28 (7%) ^a	5/21 (24%) ^a
Ausência de secreção celular	22/28 (79%) ^a	16/21 (76%) ^a
Pleomorfismo moderado	21/28 (75%) ^a	14/21 (67%) ^a
Anisocariose moderada	20/28 (71%) ^a	12/21 (57%) ^a
Núcleo uniforme	23/28 (82%) ^a	18/21 (86%) ^a
Membrana nuclear uniforme	23/28 (82%) ^a	14/21 (67%) ^a
Único macronúcleo proeminente	13/28 (46%) ^a	16/21 (76%) ^b (p=0,07)
Múltiplos macronúcleos proeminentes	14/28 (50%) ^a	5/21 (24%) ^a
Matriz mixóide extracelular	0/28 (0%) ^a	21/21 (100%) ^b

Proporções seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste X^2 . *Infiltrado PMN = infiltrado neutrofílico.

Gráfico 11 - Características citopatológicas do câncer mamário.



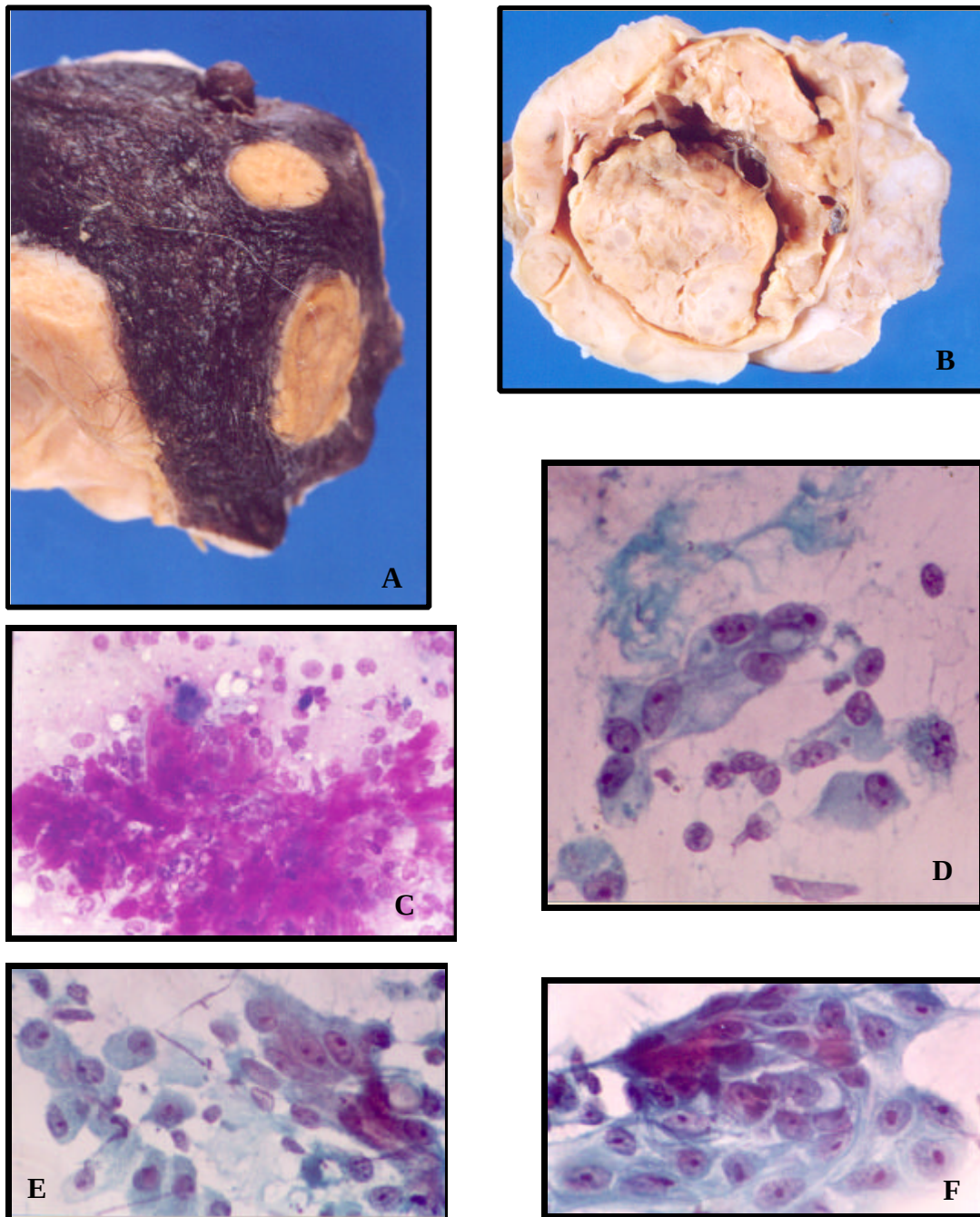


Figura 10 - Tumor complexo maligno mamário - M4D. Macroscopia, ulceração (A). Superfície de corte (B). Citologia. Matriz mixóide e vacúolos citoplasmáticos. Giemsa, 20x (C). Matriz mixóide. Shorr, 25x (D). Membrana nuclear uniforme. Shorr, 25x (E). Único nucléolo proeminente. Shorr, 25x (F).

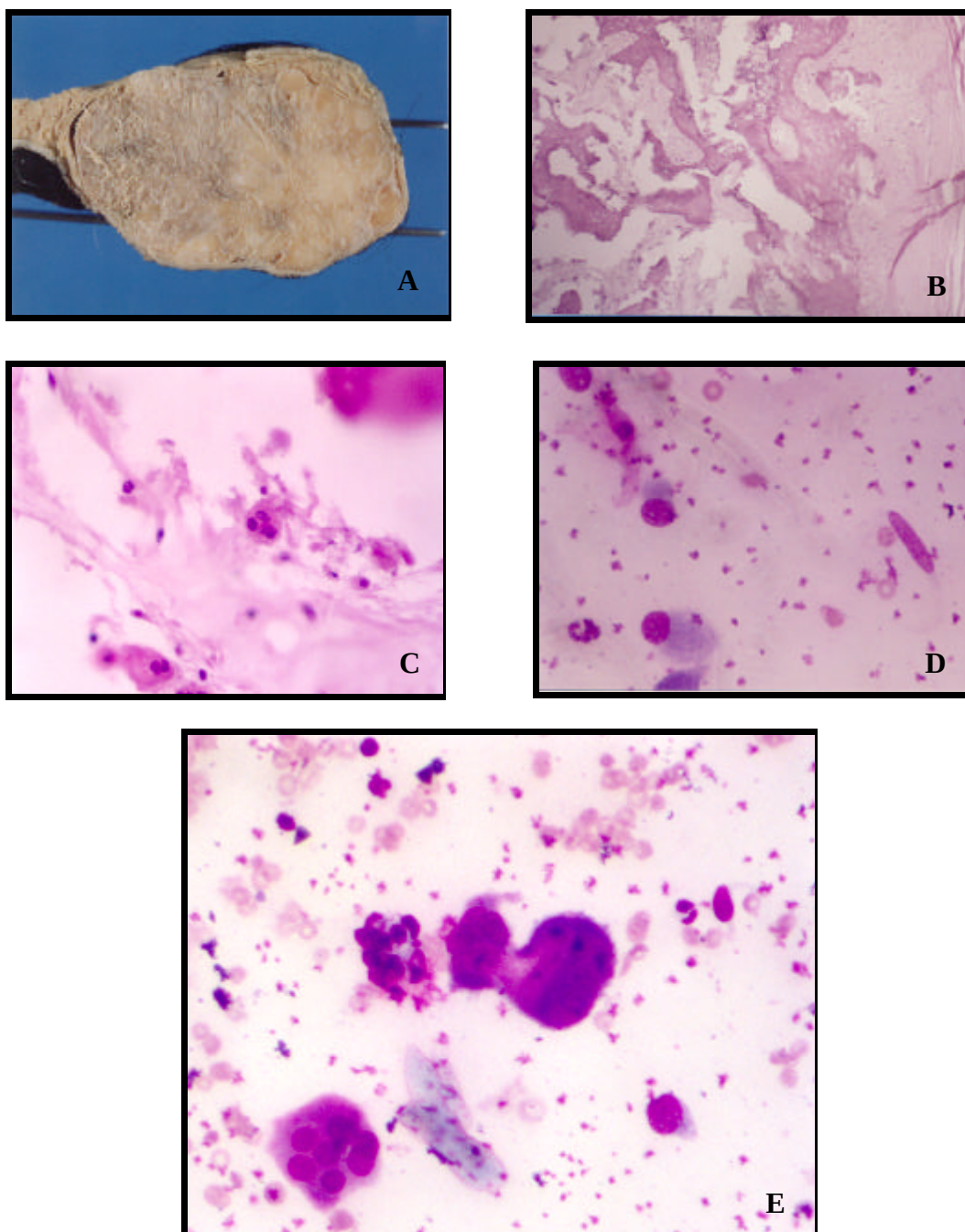


Figura 11 - Tumor complexo maligno mamário - M3D. Superfície de corte. Consistência pétrea (A). Histologia. Trabéculas ósseas, H & E, 10x (B). Histologia. Células gigantes, H & E, 40x (C). Citologia. Celularidade mista. Giemsa, 25x (D). Citologia. Célula gigante, Giemsa, 25x (E).

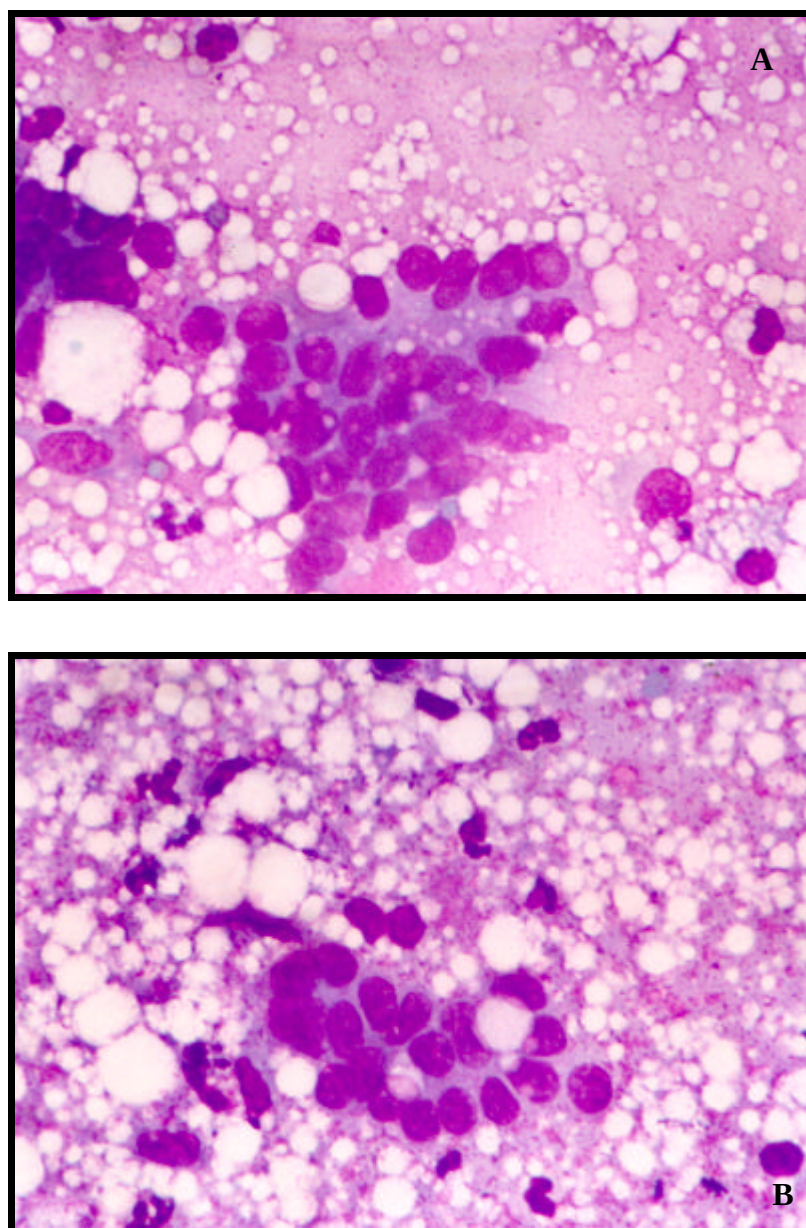


Figura 12 - Componente epitelial do tumor complexo maligno mamário evidenciando secreção láctea. Giemsa, 25x (A e B).

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1. Metodologia e delineamento

Conforme o já estabelecido pela literatura, o tumor de mama canino é biologicamente similar à neoplasia mamária na mulher, sendo considerada como modelo experimental para carcinogênese mamária (O'BRIEN, 2000).

Com isso, os protocolos para exame clínico e citopatológico elaborados foram desenvolvidos tendo como modelo àqueles descritos para colheita de material citológico no homem (CASSALI, 2000), aos quais foram feitas adaptações para o estudo das lesões mamárias caninas. O objetivo destes protocolos é servir como base para protocolos de pesquisa, ou como guia para outros tipos de sinopse ou laudos. Desta maneira procuramos também uniformizar a anotação de dados clínicos e exame físico do animal.

A classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO) para tumores e displasias da glândula mamária canina segue o máximo possível a WHO para tumores mamários de humanos. Essa classificação ficou ainda mais completa com o estadiamento clínico (ELSE & HANNANT, 1979).

Para Yamagamy *et al.* (1996), nos cães, o estadiamento clínico parece ser tão significativo quanto a classificação histológica. No presente trabalho o estadiamento clínico foi de fundamental importância para que se estabelecesse a classificação clínica precisa e que pudesse ser comparada as citadas pela literatura.

O teste triplo envolve o exame físico, achados radiológicos, e exame citológico. Este teste é importante para o diagnóstico de neoplasia maligna da mama (MARTELLI & PILOTTI, 1990; SILVERMAN 1996; ABATI *et al.*, 1997; CATROPPO & LARA, 2001).

A versatilidade da citologia aspirativa e a rapidez com que as colorações puderam ser realizadas proporcionaram diagnóstico rápido com paciente e cliente ainda nos ambulatórios do HV. Adicionalmente, a CAAF proporciona, aos clínicos, diagnóstico rápido, em grande número de situações definitivo, ou quando

não definitivo, pelo menos orientador dos passos subsequentes (ROCHA, 1998; SHULL & MADDUX, 1999; ZAKHOUR & WELLS, 1999; CASSALI, 2000). Com o auxílio do Raio X foi possível detectar a presença de metástases à distância (5 animais), em especial a pulmonar.

Quanto à coloração do material coletado por CAAF, a coloração de Giemsa é utilizada rotineiramente pelo Serviço de Patologia Veterinária de Botucatu e vem apresentando resultados satisfatórios para a leitura, principalmente nos casos de suspeita de neoplasia mamária. Este constitui o método de coloração Romanowsky utilizado originariamente em citologia mamária humana. Paralelamente, a coloração de Shorr tem o propósito de evidenciar os detalhes nucleares (irregularidades da membrana nuclear, detalhes e números de nucléolos) que muitas vezes não estão evidentes na coloração de Giemsa (ZAKHOUR & WELLS, 1999).

De forma semelhante à encontrada na literatura, a identificação do estroma mixóide e células mioepiteliais (21/49) foi importante para o diagnóstico citopatológico dos tumores complexos (CASSALI, 2000). Verificou-se, também, nas amostras citopatológicas que a identificação do estroma mixóide e vacúolos citoplasmáticos puderam ser mais facilmente visualizados empregando a coloração de Giemsa, conforme o descrito por Silverman (1996) e Zakhour e Wells (1999). Entretanto, as alterações nucleares das células foram melhor observadas na coloração de Shorr, essas duas colorações são complementares.

Frequentemente o achado de matriz mixóide, no plano de fundo das amostras citopatológicas, é a chave para a identificação do componente mesenquimal. Esta matriz aparece como metacromática mediante a coloração de Giemsa, e menos distinta, de coloração clara, nas amostras coradas por Shorr (SILVERMAN 1996; CASTELLA *et al.*, 1996). No entanto, alguns critérios de malignidade foram melhor expressados na coloração de Shorr, a qual é menos freqüente na Medicina Veterinária (SHULL & MADDUX, 1999).

De forma semelhante as encontradas na literatura, atribuiu-se a dificuldade em diagnosticar os tumores complexos pelo difícil reconhecimento das células e pela escassez celular nos aspirados (JEBSEN *et al.*, 1991). Além disso, dentre os

aspirados considerados insuficientes ou inadequados, grande parte foi relacionada com tumores muito grandes com amplas áreas de necrose e/ou formações císticas.

Lesões com áreas de necrose são geralmente grandes e contém o material necrótico no centro, recomenda-se a aspiração da periferia da massa, onde as células estarão mais viáveis (ZAKHOUR & WELLS, 1999).

O diagnóstico citológico dos tumores complexos apresenta dificuldades, porque este tumor costuma apresentar normalmente certo grau de atipia. Portanto, o parâmetro nuclear deve ser observado com certa cautela. Com isso, para Löwhagen *et al.* (1997), em qualquer achado sugestivo de tumor complexo no exame citológico, devem prevalecer ocasionais achados que possam ser sugestivos de malignidade. Este tipo de câncer é caracterizado pela presença de células fusocelulares, mioepiteliais, bem como a presença de elementos condróide e ósseo (CASSALI, 2000).

Os tumores complexos são uma entidade tumoral mista altamente controversa tanto em patologia veterinária (NERURKAR *et al.*, 1989; PELETEIRO, 1994), quanto em patologia humana (SCHMITT, 1994; GOBBI *et al.*, 1993).

O termo carcinosarcoma (NERURKAR *et al.*, 1989; ABURTO *et al.*, 1997; KOHLL *et al.*, 1998), tumor misto maligno (STRANDBERG & GOODMAN, 1974; BAKER & LUMSDEN, 1999; ZUCCARI *et al.*, 2001; TATEYAMA *et al.*, 2001), tumor metaplásico (OBERMAN, 1987; SILVERMAN, 1996; GUPTA, 1999; CASSALI, 2000; CATROPPO & LARA, 2001; BARTOW, 2002), carcinoma com metaplasia pseudossarcomatosa (MESA, 1988), entre outros, são as terminologias encontradas na literatura. Muitas vezes representam a mesma entidade neoplásica, mas nem sempre são referidas como as mesmas (CATROPPO & LARA, 2001), com comportamento biológico e implicações terapêuticas distintas (SCHMITT, 1994; GOBBI *et al.*, 1993). Essas confusões seriam evitadas com uma classificação geral e possíveis subclassificações, mesmo porque, há evidências, na literatura, que subtipos morfológicos de tumores complexos apresentam prognósticos diferentes. Em

veterinária não existem trabalhos procurando correlacionar elementos mais específicos destes tumores com o seu comportamento.

No presente estudo optou-se por designar genericamente as neoplasias que apresentaram elementos heterólogos, assim como matriz mixóide, como carcinoma complexo conforme a classificação descrita por Misdorp *et al.* (1999).

De acordo com a classificação anátomo-patológica dos tumores malignos da mama, verifica-se que cada tumor em particular apresenta características próprias e que tumores múltiplos são de diferentes tipos, obrigando a análise de toda a lesão (MISDORP *et al.*, 1999; SHULL & MADDUX, 1999; EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

As amostras citológicas refletem a diversidade morfo/histológica dos tumores. De forma geral os aspirados apresentaram celularidade moderada, mostrando seu achado “clássico” de células malignas em grupos ou aglomerados, assim como células individuais predominantes ou mesmo o predomínio dos aglomerados celulares.

Metade dos aspirados diagnosticados como carcinoma simples apresentaram, aglomerados hipocelulares (50%) e freqüentemente células individuais epiteliais (61%) atípicas entre os aglomerados. Aumento acentuado do núcleo (maior que duas hemácias em tamanho), pleomorfismo moderado (75%), anisocariose moderada (71%), único macronúcleo proeminente (46%), e a ausência de células bipolares com núcleo “nú” foram considerados como critérios determinantes para o diagnóstico de malignidade nos aspirados da glândula mamária (SHULL & MADDUX, 1999; LAYFIELD & DODD, 1996; ABATI *et al.*, 1997; BAKER & LUMSDEN, 1999). O tamanho das hemácias tem sido muito utilizado por vários autores como referência para evidenciar as alterações nucleares (tamanho), sendo este um recurso simples e satisfatório (DABBS & SILVERMAN, 1994; KRIGMAN *et al.*, 1996; LAYFIELD & DODD, 1996).

Tanto nos carcinomas simples, como no complexo, foi possível identificar vacúolos de número e tamanhos variáveis freqüentemente encontrados no citoplasma das células malignas, às vezes deslocando o núcleo para a periferia celular. Em casos de adenocarcinoma de qualquer área, vacúolos de número e

tamanho variáveis são freqüentemente encontrados no citoplasma das células malignas, às vezes deslocando o núcleo para a periferia celular, e tal fato é um achado regular. “Célula em anel de sinete” ou “célula em sinete”, achado comum em carcinomas mamário, trata-se da presença de um grande e único vacúolo que afasta o núcleo completamente para a periferia do citoplasma formando uma pequena protrusão celular onde se encontra o núcleo. No entanto muito cuidado deverá ser tomado para a identificação do núcleo como maligno nestas células, devido à possibilidade de serem benignas (ALLEN *et al.*, 1986; CARVALHO, 1993).

Toda célula tem propriedade fagocitária, mas em células malignas esta atividade se encontra exacerbada, especialmente em células de adenocarcinoma ou em outras células vacuolizadas (CARVALHO, 1993). O fenômeno de canibalismo celular não foi observado neste estudo.

Alguns carcinomas pouco diferenciados apresentam células com pleomorfismo bizarro, incluindo células multinucleadas (SILVERMAN, 1996; BAKER & LUMSDEN, 1999; ZAKHOUR & WELLS, 1999). Em casos de multinucleação (ou mesmo de binucleação) de células comprovadamente malignas, o critério de amoldamento nuclear assumirá um grande valor auxiliar no julgamento da condição tumoral, isto porque o amoldamento nuclear foi observado em tumores invasivos (ZACH, 1972; CARVALHO, 1993).

O animal de número dois (porte grande) reflete o quadro de carcinoma complexo mamário, onde foi possível observar a presença de células multinucleadas tipo osteoclasto (Figura 11), o qual em medicina humana é caracterizado como carcinoma com células gigantes tipo osteoclasto (ATHANASOU *et al.*, 1989; SILVERMAN, 1991; WK, 2001). Ainda que estas células multinucleadas reabsorvam tecido ósseo, estas não apresentam todas as propriedades imunocitoquímicas ou respostas hormonais como verdadeiros osteoclastos (SILVERMAN, 1991). Neste caso, ao exame citológico prevaleceram os aglomerados hipocelulares, com células isoladas, que muitas vezes lembram fibroblastos e também, a presença de células multinucleadas. Contudo, o diagnóstico de malignidade não deve ser baseado apenas na presença de células

multinucleadas, mesmo porque, elas podem estar presentes em processos benignos (SILVERMAN, 1991; CARVALHO, 1993).

Em algumas amostras citológicas foi possível a observação de infiltrado inflamatório mononuclear (histiócitos e linfócitos) e polimorfonuclear (PMN), evidenciando qualquer interação entre estas células e as neoplasias malignas da glândula mamária. A presença de infiltrado inflamatório altera a morfologia natural das células do tecido normal e neoplásico, mascarando muitas vezes o verdadeiro diagnóstico. De qualquer maneira em prováveis atipias decorrentes a processo inflamatório, a relação núcleo: citoplasma geralmente permanece nos limites normais (SILVERMAN, 1991).

As complicações decorrentes ao exame citológico foram raras. No entanto, a formação de hematomas e hemorragias foram freqüentes após as punções. A diminuição destas complicações foi obtida aplicando pressão digital no local da punção, utilizando algodão embebido em álcool iodado (SILVERMAN, 1996).

Recentemente vários estudos sugerem que receptores para progesterona (RAILO *et al.*, 1996), estrógeno (HAMILTON *et al.*, 1977; MacEWEN & WITHROW, 1996; RAILO *et al.*, 1996) e fator de crescimento epidermal (RUTTEMAN *et al.*, 1994), assim como, conteúdo de DNA (CASSALI, 2000) e expressão de oncogene podem servir como novos parâmetros prognósticos para tumores mamários caninos, mas, no entanto, existem algumas dificuldades técnicas em transportar esses exames rotineiramente. Como alternativa, nós demonstramos que a classificação clínica com o exame citopatológico pode ter valor no diagnóstico das neoplasias malignas mamárias em cães.

Em humanos, inúmeros estudos epidemiológicos têm investigado o papel das medidas antropométricas, incluindo peso ou índice de massa corporal, ganho de peso, localização topográfica do tecido adiposo, relacionado com o risco de câncer de mama (TRENTHAM *et al.*, 1997; BALLARD, 1999; McTIERNAN, 2000; GREENWALD *et al.*, 2001). Uma vez presente, o câncer evolui inicialmente em compasso nutricional com o hospedeiro, mas em estágios avançados acaba desnutrindo-o resultando em emagrecimento e perda de peso

(WOLFSHEIMER, 2000). No presente trabalho utilizou-se a presença e ausência de obesidade como indicador da composição corporal.

As formas reativas do oxigênio estão envolvidas em numerosas enfermidades, as quais acredita-se sejam responsáveis pelo dano celular. Agentes pró-oxidantes estão envolvidos nas alterações bioquímicas decorrentes do câncer em células mamárias nas mulheres (CHOPRA & WALLACE, 1998).

Diversos aldeídos são formados durante a peroxidação dos lipídios, sendo que um dos principais compostos encontrados em amostras biológicas é o MDA. Teoricamente a intensidade relativa de formação de aldeídos individuais depende do tipo de substrato e também da dieta. Além disso, quando materiais biológicos são oxidados, MDA é o principal aldeído encontrado, variando de 82% após a oxidação dos PUFA a 80% após a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Desta forma MDA permanece como sendo o mais interessante indicador da peroxidação lipídica (BIRD & DRAPER, 1984; FAVIER, 1994; FAVIER, 1997).

Determinações de MDA têm apresentado excelentes resultados em grande variedade de situações clínicas com estresse oxidativo, inclusive no câncer de mama (ESTERBAUER, 1993; FAVIER *et al.*, 1994; CHOPRA & WALLACE, 1998). Os valores normais de MDA vão depender conforme a técnica utilizada, variando de mais de 4 $\mu\text{mol/l}$ em testes colorimétricos com reatores para o Ácido Tiobarbitúrico (TBA), de 2,5 $\mu\text{mol/l}$ por fluorometria e 0,60 a 1 $\mu\text{mol/l}$ por Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC). Valores normais diferem entre homem e mulher e aumenta com a idade e também durante a gestação. Estas variações talvez não sejam fisiológicas, de qualquer modo, mas antes resultam de defeitos antioxidantes e de aumento do estresse oxidativo observado com a idade e a gestação (FAVIER, 1994).

A presença do estresse oxidativo pode ocorrer pela redução da defesa antioxidante. No caso da peroxidação lipídica o principal antioxidante é o α -tocoferol. Os níveis séricos ou plasmáticos de tocoferol são índices úteis do estado nutricional referente à vitamina E. Podem ser medidos por fluorometria ou por

HPLC, sendo este último método específico, sensível e de rápida execução (DRISKELL *et al.*, 1982; RONCADA, 2000).

Após estresse oxidativo agudo os níveis plasmáticos de tocoferol diminuem, ao mesmo tempo seu produto oxidado, tocoferilquinona aumenta (ESTERBAUER, 1993).

5.2. Caracterização geral da amostra

Já está bem estabelecido que a glândula mamária é o sítio mais comum de neoplasia nas cadelas (KOHLI *et al.*, 1998), e que sua incidência aumenta conforme a idade, mais rapidamente aos 6-7 anos de idade; 82% dos tumores de mama ocorrem entre oito e 13 anos de idade nos caninos (SCHNEIDER *et al.*, 1969; ELSE & HANNANT, 1979; MOULTON, 1990; YAMAGAMI *et al.*, 1996; MacEWEN & WITHROW, 1996; STONE, 1998). De forma semelhante aos trabalhos acima citados, a idade média das cadelas do presente trabalho foi de 9,7 anos até o momento do exame, o que corresponde a cerca de 50 anos na mulher pela tabela de Lebeau (CASSALI, 2000).

A obesidade esteve presente em 83% dos animais dentre os quais prevaleceu também a alimentação mista, com comida caseira e industrial (80%). Entretanto, hiperglicemia e hipercolesterolemia, alterações bioquímicas que acompanham a obesidade, foram observados em 20% e 67% dos animais, respectivamente.

Sabe-se que a obesidade é mais comum no sexo feminino, e que as fêmeas castradas apresentam risco duas vezes maior de desenvolvê-la. Em decorrência da menor concentração de hormônios androgênicos, as fêmeas têm menor taxa metabólica basal que os machos; uma vez castradas, a ausência de todos os hormônios sexuais favorece o balanço energético positivo. Além disso, a presença de estrógenos suprime o apetite em várias espécies e raças de animais, como foi demonstrado em cadelas Beagle (JERICÓ & SCHEFFER, 2002).

Estudos também apontam maior predisposição à obesidade em alguns subgrupos, como aqueles constituídos por animais adultos e pertencentes a raças

como Labrador, Cairn terrier, Cocker spaniel, Dachshund, Pastores de Sheetland e Beagles (BORGES & NUNES, 1998). Curiosamente, também são considerados mais predispostos à obesidade aqueles animais cujos proprietários são obesos e/ou idosos, e freqüentemente lhes oferecem petiscos ou guloseimas.

O perfil etário dos animais do presente trabalho evidenciou cadelas SRD obesas entre 5 e 16 anos de idade. Jericó e Scheffer (2002) relatam que a partir da idade de dois anos a obesidade torna-se mais freqüente atingindo sua prevalência máxima na faixa etária compreendida entre 5 e 8 anos de idade, declinando suavemente até os 12 anos; a partir daí, decresce abruptamente.

Em cães foi demonstrado que animais magros possuem menor incidência de câncer que os obesos, desse modo fatores nutricionais podem estar envolvidos no desenvolvimento do tumor de mama (MacEWEN & WITHROW, 1996).

Cadelas obesas, no primeiro ano de vida, apresentam risco maior de desenvolvimento de tumores no decorrer da vida (SORENMO, 1998).

Mathé (2000) relata que a vida das pacientes com câncer de mama é independentemente influenciada pelo índice de massa corporal. Por outro lado, outros autores acreditam que fatores como obesidade, o qual pode influenciar no processo de iniciação da carcinogênese mamária, também poderia influenciar no prognóstico, mesmo porque, as mulheres na categoria das não obesas, na maioria dos estudos, apresentaram maior tempo de sobrevida (BIRKIMER, 1988; SENIE *et al.*, 1992; WOLFSHEIMER, 2000).

De acordo com Mathé (2000), obesidade afeta a expressão dos receptores de progesterona e pode agravar o “curso” do câncer de mama. O risco relativo de câncer mamário está diretamente associado com o aumento do consumo de gordura (RAY *et al.*, 2001a).

Estudos com animais têm mostrado que o aumento da ingestão de gordura, durante o estágio de iniciação e promoção tumoral, pode aumentar o desenvolvimento de neoplasias mamárias (RAY *et al.*, 2001a).

A dieta hipergordurosa influencia o desenvolvimento mamário, associadamente à resposta imune, resposta inflamatória e resposta antioxidante mediante distúrbios endócrinos e desregulação metabólica (MacEWEN &

WITHROW, 1996). A insulina é o hormônio mais difícil de ser regulado (MATHÉ, 2000).

Em humanos, dietas inadequadas têm como consequência além do depósito de gordura no tecido subcutâneo, o aumento na conversão dos andrógenos em estrógenos. As dietas hipercalóricas e/ou hipergordurosas promoveriam o crescimento de bactérias capazes de converter colesterol em estrógenos no intestino grosso (PINOTTI & TEIXEIRA, 2000). Uma dieta rica em gorduras, pobre em fibras e em vitaminas pode ser considerada como fator de aumento do risco do câncer de mama (BIRKIMER, 1988).

Muita atenção tem sido dada aos aspectos qualitativos e quantitativos da dieta como promotores do câncer mamário. Ambos, o consumo elevado de alimento e o consumo diminuído de alimento podem afetar a gênese tumoral nos animais de laboratório (WOLFSHEIMER, 2000).

Quanto aos hábitos alimentares, alguns autores identificaram diferenças entre a dieta de animais obesos e a dieta de animais não obesos. Os resultados do presente trabalho apontam predomínio (83%) de obesidade em cães que ingeriam ração industrial associada à comida caseira. A adição de outros alimentos a uma dieta previamente balanceada, como é a ração comercial (industrial), pode aumentar a densidade calórica do alimento. Por vezes, a administração de petiscos ou de substitutos alimentares como forma de interação social e afetiva entre o proprietário e o cão pode levar ao consumo excessivo de nutrientes, de forma a exceder as necessidades energéticas do animal (JERICÓ & SCHEFFER, 2002; STREIFF *et al.*, 2002).

A maioria dos estudos de dieta e câncer de mama tem sido focada no risco de desenvolvimento, mas relativamente poucos têm examinado o efeito da dieta na sobrevida (MacEWEN & WITHROW, 1996). Quando o peso corporal e níveis séricos de colesterol (pré-cirúrgico) são considerados juntos, mulheres obesas e com níveis elevados de colesterol tem redução significativa na sobrevida com relação às mulheres não obesas e com níveis baixos de colesterol (TARTIER *et al.*, 1981; BIRKIMER, 1988; POTISCMAN *et al.*, 1991).

No presente trabalho, 83% dos animais eram obesos e 67% hipercolesterolêmicos. Estudos prévios em humanos, apontam níveis elevados de colesterol total nas pacientes com câncer de mama. Desta forma, sugeriu-se que colesterol total pode aparentemente estimular a proliferação celular, participando na carcinogênese ou ser responsável pelo aumento da incidência de câncer de mama (RAY *et al.*, 2001a). Desta forma, se as concentrações de colesterol podem participar no processo da carcinogênese ou ser responsável pela alta incidência de câncer de mama permanecem desconhecidas.

Um quinto (20%) da amostra apresentou hiperglicemia, o que associado à obesidade e hipercolesterolemia pode sugerir presença de Diabetes insulino resistente (DWYER, 1994; DOSSIER, 1999).

Metade das cadelas eram nulíparas, com pseudogestação em 47% dos casos.

Nas cadelas existem controversias se multi-paridas teriam efeito protetor ou não na incidência de neoplasias mamárias (MOULTON *et al.*, 1970). Vários autores observaram que cadelas nulíparas, ou com ninhadas pequenas têm maior chance de desenvolverem neoplasias da glândula mamária. Alguns autores acreditam que tumores mamários são mais comuns em cadelas nulíparas (STRANDBERG & GOODMAN, 1974). Kohli *et al.* (1998) também relatam a alta incidência de neoplasia mamária em cadelas nulíparas e em animais que tiveram menor número de crias se comparados com cadelas que tiveram muitas crias. No entanto para Morrison (1998) número de filhotes, pseudogestação, ciclo estral anormal não são fatores significantes para tumorigênese mamária.

A relação entre neoplasia mamária e pseudogestação também gera controversias. A pseudogestação é um fenômeno normal do ciclo estral canino, mas em algumas cadelas pode estimular ao aparecimento de sintomas clínicos como secreção excessiva de leite e alterações comportamentais. Durante o metaestro normal, progestágenos causam crescimento alveolar e secreção láctea, junto com a proliferação das células mioepiteliais. No entanto, cadelas com manifestações extremas de pseudogestação deverão também apresentar respostas exacerbadas à progesterona, ou menos provável, altos níveis de progesterona

sérica. Vallance e Capel-Edwards (1971) foram capazes de induzir o crescimento de nódulos mamários administrando altas doses de progesterona. Assim como vários pesquisadores encontraram associação entre pseudogestação e casos clínicos de neoplasia mamária, outros tantos não encontraram efeito significativo da pseudogestação na incidência de neoplasias mamárias. Considera-se também, que o leite retido cronicamente pode conter compostos químicos que têm efeito carcinogênico sobre o epitélio adjacente. Esses agentes podem atuar como indutores e/ou promotores de neoplasia mamária (ZUCCARI *et al.*, 2001). Portanto, neste aspecto, necessitam-se de mais estudos para se estabelecer com precisão o envolvimento da pseudogestação na carcinogênese mamária (ELSE & HANNANT, 1979; MOL *et al.*, 1996).

As lesões foram mais freqüentes nas mamas inguinais (63%), com distribuição semelhante nas cadeias direita (63%) e esquerda (60%), com predominância na região posterior, mais da direita do que na esquerda.

A maior incidência de lesões (benignas ou malignas) ocorre nos últimos pares, 60% nas mamas inguinais. Essa distribuição anatômica pode ser atribuída ao maior volume dessas mamas, visto que há uma relação entre o tamanho glandular e a incidência de tumor (MOULTON, 1990; ZUCCARI *et al.*, 2001).

Prevaleceu a multicentricidade neoplásica com distribuição bilateral, sendo que 57% deles foram menores que 2 cm de diâmetro, e 75% apresentaram aspecto não ulcerado à avaliação macroscópica.

De forma semelhante aos demais mamíferos, a mama da cadela é um órgão par e, como o câncer deste órgão é frequentemente um processo multifocal, não é incomum nestas espécies o desenvolvimento independente de câncer entre as mamas (DONEGAN, 1988).

Câncer de mama bilateral pode ser resultado tanto de metástases ou do desenvolvimento de um segundo carcinoma primário. Nenhum dos critérios disponíveis é válido para fazer esta distinção. No entanto, de acordo com estes critérios, duas ou mais neoplasias malignas podem coexistir de forma primária independente apenas quando (1) cada uma apresentar característica histológica própria, (2) os tumores forem separados e localizados em órgãos diferentes, e (3)

cada um produzir suas próprias metástases. Muitos outros critérios liberais foram usados por outros autores, mas nenhum é totalmente aplicável para o problema do câncer mamário bilateral. A decisão é feita na preponderância das evidências (LEIS & URBAN, 1978).

Crítérios liberais foram aceitos em nosso estudo. Se a neoplasia foi encontrada no interior do parênquima de uma segunda mama no momento do exame, ou em exames subsequentes, e avaliações laboratoriais não revelarem evidências de disseminação, a segunda lesão foi considerada como um câncer primário independente. Devido à variabilidade do crescimento neoplásico e o potencial da existência pré-clínica prolongada, algumas vezes não é possível ter certeza quando e por quanto tempo duas neoplasias coexistem (DONEGAN & SPRATT, 1988).

Sem dúvida, o sinal clínico mais comum do câncer mamário é uma massa presente na mama (DONEGAN, 1988; MISDORP *et al.*, 1999). No presente estudo todas as neoplasias diagnosticadas foram de lesões palpáveis, ou seja, nódulos, o que certamente facilitou a realização do exame citológico.

Não importa o fenotipo expressado pelo tumor, o tamanho deve sempre constar em qualquer trabalho, relato, entre outros, lembrando que os tumores complexos não são exceção desta regra (CATROPPO & LARA, 2001).

Apesar de Moulton (1990) e Kohli *et al.* (1998) afirmarem que a grande maioria dos tumores complexos/mistos mamários atingem dimensões menores que 5 cm, com muitos menores de 1 cm de diâmetro, Shull e Maddux (1999) afirmam que estes tumores complexos podem evoluir para grandes dimensões e virem à ulcerar, mas apresentam baixa expectativa de invasão ou metástase, o mesmo afirma Mesa (1988) que estes tendem a ser grandes (4,7 cm). Kohli *et al.* (1998) relatam que o potencial de malignidade do tumor complexo é provavelmente baixo.

Inúmeros são os trabalhos que relatam correlação positiva entre o tamanho de alguns tumores malignos e o prognóstico (MISDORP *et al.*, 1999; CATROPPO & LARA, 2001; DEVI *et al.*, 2001). A maioria dos tumores malignos tem crescimento mais rápido que os tumores benignos. Entretanto,

alguns cânceres crescem lentamente durante anos e, então, entram em uma fase de crescimento rápido; outros se expandem rapidamente desde o início (COTRAN *et al.*, 2000).

Vários estudos indicam uma relação clara entre o tamanho do tumor e a sobrevida do paciente, mesmo sem o comprometimento de linfonodos regionais. A incidência de recidiva também está relacionada ao tamanho tumoral. Pacientes com tumores maiores apresentam prognóstico significativamente desfavorável, estando também associados a uma maior incidência de comprometimento nodal. O tamanho tumoral, junto a outros fatores, particularmente o status dos linfonodos regionais, pode definir um amplo espectro prognóstico para a orientação sobre o uso de terapia adjuvante (COUTO & NELSON, 1994; STYLO & WOOD, 1996; YAMAGAMI *et al.*, 1996; FRANCO, 1997; MORRISON, 1998).

Apenas um caso foi diagnosticado como carcinoma inflamatório. Esta cadela apresentou uma única massa em forma de botão, ulcerada e com 4 cm de diâmetro na região da linha alba entre as mamas torácica caudal direita e esquerda, que certamente facilitou o diagnóstico. Vale a pena ressaltar que esta é uma afecção extremamente agressiva de caráter clínico-patológico com manifestações cutâneas de hiperemia e edemaciação difusa entre as mamas e que geralmente não apresentam massa dominante (DODD & LAYFIELD, 1996; SILVERMAN, 1996). Da mesma forma que na espécie humana os aspirados neste caso foram marcadamente hipocelulares e com plano de fundo hemorrágico. As células malignas estavam distribuídas em pequenos aglomerados celulares. Ao contrário dos carcinomas mamários convencionais, as células epiteliais individuais dispersas entre os aglomerados não foram observadas neste caso.

Os sinais clínico-patológicos característicos podem iniciar o processo (carcinoma inflamatório primário) ou pode aparecer depois, no decorrer do seu curso (carcinoma inflamatório secundário), sendo este último menos frequente. Os dois tipos carregam o prognóstico grave (DONEGAN, 1988).

O múltiplo envolvimento das mamas com tumores ocorre em 50% dos casos (MOULTON, 1990). A presença de tumores múltiplos não parece alterar o prognóstico nos cães (STONE, 1998).

Ulcerações têm efeito negativo significativo no tempo de sobrevida das cadelas com diagnóstico de tumores malignos (HELLMEN, *et al.*, 1993). No presente estudo, 78% dos tumores apresentaram aspecto não ulcerado.

De acordo com a classificação pelo TNM-clínico, o estágio IIA-IIIIB foi predominante (57%), seguido pelo estágio I com 26% das cadelas. Embora hipoalbuminemia (37%), hipocolesterolemia (37%) e hipoglicemia (27%) tenham sido achados frequentes, nossos resultados não mostraram qualquer diferença significativa dos níveis séricos de colesterol entre os diferentes estágios da doença apresentada pelas pacientes portadoras de câncer mamário, de comum acordo com Mady (2000). Em humanos a associação das anomalias laboratoriais encontradas (hipoalbuminemia, hipocolesterolemia e hipoglicemia) são sugestivas de paciente caquético (WONG *et al.*, 2001).

A demora pela procura de assistência veterinária foi evidente, tendo em vista a prevalência dos tumores no estágio IIA-IIIIB (57%) e 17% no estágio IV. No conceito de neoplasias mamárias, a precocidade do diagnóstico junto a conduta adequada, tem relação direta com o prognóstico (FIGUEROA *et al.*, 1993; BURINI, 2001).

Por definição, câncer de mama no estágio III não inclui pacientes com evidências de metástases à distância, entretanto os resultados obtidos nos tratamentos local e regional nas pacientes humanas indicam que a maioria dos casos apresenta micrometástases ocultas à distância no momento da avaliação (DONEGAN, 1988).

Cerca de $\frac{1}{4}$ das pacientes estavam no estadiamento clínico I. As pacientes portadoras de câncer mamário no estágio I apresentam grandes possibilidades de cura por meio da remoção cirúrgica, no entanto podem eventualmente desenvolver a forma disseminada e vir a óbito, defendendo as evidências *in vitro* que câncer de mama pode se disseminar antes de ser detectado clinicamente (SEEGER & ALLEGRA, 1988).

O perfil anormal das proteínas séricas pode ser identificado com os vários tipos de processos patológicos. Fundamentalmente, a diminuição da albumina pode ser atribuída a sua perda ou falha na sua síntese (DICHI & BURINI, 1991;

KANECO, 1997). Dependendo do estágio da doença, ela pode estar associada com normoalbuminemia ou hipoalbuminemia, esta última caracterizando os processos inflamatórios intensos ou neoplásicos acompanhados de desnutrição (DICHI & BURINI, 1991; RUBIN & FARBER, 2002). No presente trabalho a hipoalbuminemia esteve presente em 37% da amostra, o que associado à hipocolesterolemia e hipoglicemia caracteriza processo de desnutrição protéico-energética crônico ou caquexia, típico de pacientes terminais (TRACEY & CERAMY, 1993; WONG *et al.*, 2001).

Câncer é uma importante causa de hipoglicemia em cães adultos. Neste experimento atingiu 27% das cadelas. São vários os tecidos dependentes de glicose como substrato energético. O sistema nervoso central (SNC) depende quase que inteiramente da utilização de glicose para energia (SCHELP & BURINI, 1995), os sinais clínicos para hipoglicemia são tipicamente referentes a distúrbios do SNC e incluem letargia, ataxia entre outros. Esses sinais clínicos variam conforme a intensidade da hipoglicemia (KANECO, 1997). Outros tecidos dependentes de glicose são as células sangüíneas, medular renal, retina, pele e gonadas. Em condições patológicas há aumento do consumo de glicose pelo tecido cicatricial e pelo tumor. Em ambos há maior produção de lactato, mostrando uso não oxidativo da glicose por essas células (WONG *et al.*, 2001).

As concentrações sangüíneas de glicose retornam rapidamente a níveis normais após a completa remoção cirúrgica do tumor, e os sinais clínicos associados à hipoglicemia desaparecem (KANECO, 1997).

Cerca de 37% dos animais eram hipocolesterolêmicos, o que usualmente é associado à gravidade do tumor e/ou piora nutricional do paciente (RUBIN & FARBER, 2002).

As alterações encontradas de hipovitaminose E (70%) e elevação do MDA (47%) foram alarmantes. Em estudos com mulheres portadoras de câncer mamário, também foram relatados aumentos dos níveis de MDA plasmáticos (SEVEN *et al.*, 1998; RAY *et al.*, 2001a). Isto sugere que o processo da peroxidação lipídica pode estar envolvido na carcinogênese mamária. Em casos de câncer mamário detectaram-se aumento da peroxidação lipídica e da produção de

radicais livres de oxigênio (H_2O_2), diminuição da catalase e aumento da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) (RAY *et al.*, 2001a).

No presente estudo, os níveis plasmáticos de vitamina E se encontraram em valores diminuídos. Os estudos existentes na literatura sugerem resultados bastante flutuantes da vitamina E nas pacientes com câncer de mama (STOLL, 1998; McKEOWN, 1999). Assim, Seven *et al.* (1998) relatam níveis significativamente altos de vitamina E nos casos com câncer de mama que no grupo com lesões benignas. Por outro lado, Ray *et al.* (2001a) relataram diminuição significativa dos níveis de vitamina E nos casos com câncer de mama. Alguns autores relatam diminuição no risco de desenvolver câncer de mama com o aumento da ingestão de vitamina E (GREENWALD & McDONALD, 1997; RAY *et al.*, 2001a), enquanto outros não encontraram qualquer associação significativa entre a ingestão de vitamina E com o risco de câncer de mama.

Células de câncer de mama da linhagem (MCF-7) tratadas com α -tocoferol apresentaram efeito citotóxico seletivo no crescimento de células tumorais de humanos (*in vitro*) o que explicaria o possível efeito protetor *in vivo* da vitamina E (RAY *et al.*, 2001a).

Estudos têm comparado os níveis de vitamina E de tecido adiposo retirado de pacientes portadoras de câncer mamário com aqueles retirados do grupo controle. Estes estudos demonstraram que o câncer de mama está associado aos níveis baixos de vitamina E no tecido adiposo mamário. Em contraste, os níveis de vitamina E no sangue, têm mostrado aumento com o avanço da doença. A causa desta elevação é desconhecida (SEVEN *et al.*, 1998; STOLL, 1998). No presente experimento prevaleceram os níveis plasmáticos reduzidos de α -tocoferol e elevados de MDA, evidenciando estado peroxidativo com redução do principal antioxidante lipossolúvel (HALLIWELL, 1996; FAVIER, 1997).

Prevaleceu o carcinoma mamário (53%), presença de necrose (73%) e de infiltrado inflamatório (79%), com células polimorfonucleares (61%) totalizando as lesões ulceradas, células histiocíticas (79%) freqüentes em lesões não ulceradas ou células linfocíticas (16%).

Apesar da maior frequência dos carcinomas, foi encontrada proporção similar (28 x 21) entre os tipos de tumores (simples x complexo). Entretanto, na literatura pode-se encontrar uma disparidade de dados no que se refere à prevalência dos tumores complexos. Talvez isto possa ser explicado, em parte, pela dificuldade encontrada por alguns patologistas em proceder ao diagnóstico diferencial entre as neoplasias da mama da cadela, possivelmente devido a falta de uniformidade nos critérios de distinção entre os dois tipos de lesões, sobretudo no caso de tumores do tipo complexo (PELETEIRO, 1994).

Conforme descrito na literatura, e também observado no presente estudo, a neoplasia maligna mais freqüente foi o carcinoma. No entanto, recentemente têm sido relatado com freqüência a maior incidência de tumores complexos da mama nas cadelas (MOULTON, 1990; CASSALI, 2000).

Na maioria dos tumores, as células malignas são continuamente removidas pelos neutrófilos e pelos macrófagos. No entanto, provavelmente removem apenas as células mortas, devido ao crescimento rápido em um ambiente de recursos nutricionais limitados. Nos tumores de menor malignidade, todavia, as células inflamatórias invasoras podem ter efeito benéfico ao inibir a expansão do tumor. Além disso, neoplasias malignas induzem resposta inflamatória crônica que não está relacionada com necrose ou infecção do tumor (TRACEY & CERAMY, 1993; RUBIN & FARBER, 2002).

Estudos *in vitro* demonstraram que os macrófagos e os neutrófilos são ambos tóxicos para as células tumorais e podem destruí-las. Quando em contato, os macrófagos inserem processos citoplasmáticos nas células tumorais e transferem enzimas lisossômicas ao citoplasma. As células cancerosas possuem vias de catabolismo de peróxidos reduzidas (catalase e glutatión), o que as torna altamente susceptíveis à injúria oxidativa pelos macrófagos (RUBIN & FARBER, 2002).

Embora em teoria tenham sido sugeridos efeitos benéficos da participação dos neutrófilos na morte de células dos tumores estabelecidos, os neutrófilos podem, na realidade, promover a carcinogênese nas lesões inflamatórias crônicas. Os metabólitos com oxigênio reativo produzido pela “explosão respiratória” dos

neutrófilos são comprovadamente mutagênicos e podem promover o crescimento do tumor (COTRAN *et al.*, 2000).

O fator de necrose tumoral (TNF) é um protótipo de uma família de fatores antitumorais secretados por macrófagos causando necrose nos tumores matando as células neoplásicas (WOLFSHEIMER, 2000).

A resposta imunológica ao câncer de mama é uma função da antigenicidade do órgão alvo e a imunocompetência do paciente. Boas respostas defensivas ao câncer são indicativas de bom prognóstico (LEIS, 1978; RUTTEN *et al.*, 1990). As células do infiltrado inflamatório no tumor de mama têm sido consideradas como o índice da reação imune entre a relação tumor-hospedeiro. Em humanos diversas conclusões têm sido relatadas com relação ao significado prognóstico entre a sobrevivência da paciente e a intensidade de infiltrado linfocítico no tumor, sendo para alguns autores indicativo de um prognóstico favorável (MESA, 1988).

Estudo realizado por Giorno (1983), utilizando técnica de imunoistoquímica, mostra que os linfócitos T, em especial os linfócitos CD8 ou supressor/citotóxico, são as primeiras células mononucleares a se apresentar em carcinomas mamários. Nosso estudo demonstrou a presença de infiltrado linfocítico em 40% dos casos, no entanto, não foi possível a subtipagem deste tipo celular por não terem sido realizadas técnicas específicas. Contudo, se esta população de células é importante para a patogênese desta afecção ou se representam diferentes respostas dos hospedeiros com o objetivo de alterar o crescimento neoplásico, ainda continua desconhecido.

A presença de histiócitos também foi achado comum nas neoplasias, principalmente nos que apresentaram ulcerações. Além disso, para Silverman (1996) e Sirgi *et al.* (1996) histiócitos atípicos poderiam facilmente induzir a um diagnóstico falso-positivo para malignidade, devido a sua similaridade morfológica com as células tumorais.

A síndrome paraneoplásica inclui um grupo diverso de anormalidades que estão associadas com câncer. Elas não têm relação com o tamanho, localização, metástases ou atividades fisiológicas do tecido de origem. A alteração

paraneoplásica pode aparecer e preceder a detecção clínica de um tumor, semanas, meses ou anos (MORRISON, 1998). Estas síndromes são causadas pela produção e liberação na circulação de hormônios de tumores endócrinos ou outros polipeptídeos de tumores não endócrinos que causam efeitos clínicos inapropriados (KANEKO, 1997).

Em alguns tumores malignos, o crescimento celular se estende além do crescimento da irrigação vascular de suporte, o que causa necrose isquêmica, nestes focos hemorragia e calcificação são comuns. A necrose pode estar acompanhada da diminuição do tamanho do tumor, mas as células malignas em rápida divisão logo repõem a perda (MOULTON, 1990).

A presença de necrose, nos tecidos tumorais, denota grande velocidade de crescimento das células neoplásicas, significando clinicamente tumores mais anaplásicos e com maior capacidade de embolização e metastatização, desse modo o prognóstico é pior associada à presença de necrose (SILVERMAN, 1991; MacEWEN & WITHROW, 1996; FRANCO, 1997).

Houve prevalência de aglomerados hipocelulares no tumor complexo e de aglomerados hiper celulares ou de celularidade moderada nos carcinomas. Das células individuais presentes entre os aglomerados, a forma epitelial foi freqüente no carcinoma e a forma mista (estroma, mioepitélio e adipócito) nos tumores complexos. A ausência de células multinucleadas foi prevaiente (76%) particularmente no carcinoma (92%).

Lesões fibrosas como alguns carcinomas lobulares ou carcinoma esquisito a aspiração geralmente é dolorosa e a amostra freqüentemente é hipocelular (SILVERMAN, 1996; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Uma das características mais importantes das células malignas é a tendência para perder a coesão com as células vizinhas. Esta diminuição do poder de adesão, representando uma mudança na membrana citoplasmática, se manifesta como a capacidade dos tumores malignos se espalharem por invasão do tecido, pela implantação em novas superfícies ou pela metástase para novos locais pelos vasos linfáticos ou sangüíneos (RESTUCCI *et al.*, 1997; TAKEICHI, 1997; SAUER *et al.*, 2001). Com isso, Zakhour e Wells (1999) explorando a correlação

entre prognóstico e aspectos morfológicos celulares, confirmaram que as amostras de tecido mamário que apresentam predomínio de células individuais está associado com aumento da incidência de metástase à distância. Sauer *et al.* (2001) acredita que uma disfunção no sistema de adesão intercelular pode ser responsável pela dissociação celular vista nos aspirados citológicos.

Tem sido proposto que a presença de células tumorais entre o tecido adiposo pode ser um indicativo de invasão ao estroma local. No entanto, há relato que a presença de células epiteliais, mesmo quando dispersas, entre gotículas de gordura ou mesmo entre fragmentos intactos de tecido fibro-adiposo não são indicadores seguros de invasão nos aspirados da mama e de fato devem representar artefatos mecânicos decorrentes da aspiração (MAYGARDEN *et al.*, 1997; SHIN & SNEIGE, 1998; McKEE *et al.*, 2001).

Estudo envolvendo análise semiquantitativa de critérios citomorfológicos de lesões proliferativas benignas e de carcinomas, demonstrou que os aspectos de malignidade foram: dissociação celular, aglomerados com celularidade baixa, núcleo com mais de 16 μ , membrana nuclear irregular, anisocariose e necrose (SILVERMAN, 1996). Shull e Maddux (1999) também encontraram as variações nucleares (tamanho) e macronúcleo proeminente como critérios significantes de malignidade, porém a baixa coesão intercelular não ajudou a diferenciar tumores benignos de malignos.

As amostras citológicas de carcinoma complexo vão variar dependendo da amostra dominante que compõe a neoplasia (CASTELLA *et al.*, 1996).

Houve predomínio da necrose celular (72%) em relação a sua ausência, com detecção microscópica de secreção (láctea) celular (70%), pleomorfismo moderado (67%), anisocariose moderada (65%), núcleo (80%) e membrana nuclear uniformes (70%); com nucléolo único proeminente ligeiramente mais freqüente (54%) do que os nucléolos múltiplos.

A maioria dos tecidos tem populações celulares uniformes em sua aparência e tamanho. Em condições malignas esta uniformidade é frequentemente perdida (SILVERMAN, 1991; MORRISON, 1998; BAKER & LUMSDEN, 1999; SHULL & MADDUX, 1999; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Muitas populações celulares de neoplasias malignas apresentam múltiplos nucléolos proeminentes com variações em sua forma e tamanho entre as células. No entanto, muitos tecidos normais também apresentam células com nucléolo único e/ou múltiplos proeminentes (MORRISON, 1998).

Nucléolos grandes e irregulares são observados com maior frequência em sarcomas que em carcinomas, e mais comumente em células malignas de grande tamanho que em pequenas (CARVALHO, 1993; BAKER & LUMSDEN, 1999).

Os núcleos de células de adenocarcinomas não apresentam variações de grande monta em seus contornos, além disso, estas alterações de contorno nuclear podem também estar presentes em núcleos benignos, especialmente quando processos inflamatórios e/ou irritativos se encontrarem evidentes (DUNNE & GOING, 2001). No entanto, anisocariose acentuada, ou seja, tumores indiferenciados apresentam pior prognóstico (LEIS, 1978).

Gigantismo nuclear ou cariomegalia, embora seja um critério de malignidade de importância muito relativa, possui, algumas vezes, valor auxiliar na identificação de certos tumores quando outros critérios mais precisos estiverem presentes (CARVALHO, 1993).

A multinucleação não pode ser considerada como real indicação de câncer, a não ser que outros critérios, de primordial importância, estejam presentes em pelo menos um dos núcleos da célula em estudo. É um fenômeno encontrado com grande frequência em células benignas, indicando divisão nuclear sem divisão citoplasmática (CARVALHO, 1993). Contudo, para Shull e Maddux (1999) amoldamento nuclear e células multinucleadas anormais não diferenciaram lesões benignas de malignas.

A pelagem simples (100%), nuliparidade (80%) e pseudogestação (60%) discriminaram os animais de pequeno porte (100%), a coloração mista os de porte médio.

O carcinoma mamário foi prevalente nos animais de pequeno porte (80%) e o tumor complexo associado ao carcinoma nos animais médios e grandes (50%). Hipoalbuminemia (60%) e hipocolesterolemia (50%) foram mais frequentes nos animais grandes.

A associação de tipo e estágio do câncer e estado clínico, nutricional e metabólico do paciente ao tamanho do seu porte corpóreo é ainda inexistente, o que dificulta qualquer análise comparativa à literatura.

O estadiamento tumoral mais avançado (IV = 17%) foi mais freqüente nos animais mais idosos (12 anos), não obesos, portadores do tumor complexo, com hipoglicemia, hipoalbuminemia e MDA elevado. Esses dados caracterizam os pacientes críticos terminais portadores de câncer (WONG *et al.*, 2001).

Nos estágios terminais da doença neoplásica, os animais desenvolvem anorexia, perda de peso e se tornam letárgicos. No entanto, nem toda perda de peso nos pacientes com câncer se deve à anorexia, sendo parte da perda associada a fatores humorais, sendo o principal deles o fator de necrose tumoral (TNF) secretado pelas células tumorais ou pelos macrófagos (indiretamente afetados pelo neoplasma) (TRACEY & CERAMY, 1993; WOLFSHEIMER, 2000).

Tumor complexo com elementos heterólogos (tecido cartilaginoso ou ósseo) tem sido descrito por apresentar um curso mais agressivo por alguns autores (CATROPPO & LARA, 2001), mas não por todos (STRANDBERG & GOODMAN, 1974; BAKER & LUMSDEN, 1999). Para Monlux *et al.* (1977), o aparecimento de cartilagem, tecido osteóide e osso constituem o último estágio relacionado a estas alterações teciduais, e ainda, enfatiza que a terminologia de cartilagem e osso heterotópico são melhores empregadas nestas condições, por serem alterações proliferativas e não neoplásicas. De forma semelhante, embora apresentem evidências histo/morfológicas de malignidade têm comportamento benigno (CASSALI, 2000). No entanto, as células que apresentam estas evidências morfológicas malignas que compõem tais lesões muitas vezes são capazes de metastatizar (NERURKAR *et al.*, 1989; ZEZZA NETO, 1997).

As pacientes com tumores apresentando áreas pseudosarcomatosas têm prognóstico pior que aqueles com componente epitelial somente, devido ao comportamento mais agressivo desta neoplasia (MESA, 1988). Oito animais vieram a óbito ou pela solicitação de eutanásia pelo proprietário ou devido à morte natural decorrente ao estágio avançado da doença. Destes animais, seis eram portadoras de tumores com componentes heterólogos (cartilagem e osso),

sugerindo desta forma seu potencial maligno. Contribuem para esta alta mortalidade é o avançado estadiamento da doença no momento em que as mulheres e as cadelas são submetidas ao primeiro tratamento. Em geral, 50% dos casos são diagnosticados em estágios avançados, III e IV (FIGUEROA *et al.*, 1993; BRASIL, 1998).

O estadiamento menos grave (I = 26%) foi comum aos animais mais jovens (8 anos), obesos, com colesterol e α -tocoferol reduzidos. Esses dados caracterizam a forma menos degastante (consuntiva) da doença, associada ao pequeno comprometimento nutricional, resistência insulínica e menor defesa antioxidante.

O estadiamento IIA–IIIB, esteve associado a metade (50%) dos carcinomas, obesidade, hiperglicemia (83%), hipoalbuminemia (55%), hipocolesterolemia (64%), hipovitaminose E (62%) e níveis elevados de MDA (57%). Esses resultados relacionam esse estadiamento tanto às características bioquímicas de pacientes menos grave quanto aos mais graves.

O carcinoma foi o tumor mais associado à obesidade (43%), nuliparidade (80%) e pseudogestação (64%). Foi comum à hiperglicemia (83%) e hipovitaminose E (48%). O carcinoma associado ao tumor complexo foi comum aos animais hipoglicêmicos (63%), hipoalbuminêmicos (55%) e hipocolesterolêmicos (55%). A prevalência do MDA elevado do carcinoma (43%) não foi alterada pela associação dos tumores.

As pacientes com câncer foram diferenciadas de outras com forma benigna por apresentarem menor peroxidação lipídica (avaliada pelo TBARS plasmático) e maiores níveis dos agentes antioxidantes: vitamina E e GSH (SEVEN *et al.*, 1998). No presente caso, a associação dos tumores mostrou maior agressividade ao estado bioquímico metabólico dos pacientes.

Os animais de pequeno porte e a presença de carcinoma estiveram associados entre si e com o tipo de pelagem simples, nuliparidade, pseudogestação, obesidade, hiperglicemia e hipovitaminose E.

Os animais de porte médio e grande estiveram mais associados à combinação do tumor complexo com carcinoma e estes a hipoglicemia, hipoalbuminemia e hipocolesterolemia.

Obesidade e hiperglicemia são características de resistência insulínica comuns aos tumores (DWYER, 1994) enquanto hipovitaminose E pode ser por deficiência dietética, má absorção (diarréia) ou maior utilização (MORRIS & ROGERS, 2000). No presente caso não houve evidências de menor ingestão ou maior excreção, prevalecendo a hipótese de maior utilização de α -tocoferol.

Hipoglicemia, hipoalbuminemia e hipocolesterolemia são vistos conjuntamente nas fases terminais do câncer, cursando com caquexia (WOLFSHEIMER, 2000; WONG *et al.*, 2001). Este tipo de hipoglicemia geralmente ocorre nos estágios finais de neoplasia disseminada, mas também podem surgir precocemente como parte da síndrome clínica inicial. Os sinais clínicos de hipoglicemia estão diretamente relacionados aos efeitos neuroglicopênicos e adrenérgicos e incluem a inquietação, fraqueza, tremores e episódios de colapsos e convulsões (KANECO, 1997). Aliás, os 17% de pacientes em estágio avançado (IV) apresentaram essas características de não serem obesos, serem os mais idosos e mostrarem hipoglicemia e hipoalbuminemia. Adicionalmente, apresentaram níveis elevados de MDA caracterizando a maior peroxidação lipídica. Esse quadro de hipoalbuminemia, hipocolesterolemia e elevação do MDA também foi visto no estadiamento IIA-IIIB, desta 47% associados à obesidade e 83% à hiperglicemia e também 62% à hipovitaminose E. Por outro lado, a neoplasia no seu estadio menos grave (I) também apresentou hipovitaminose E, hipocolesterolemia e obesidade, desta vez em animais mais jovens.

Assim, hipoalbuminemia, hipocolesterolemia, hipovitaminose E e MDA elevado constituíram achados comuns a todos os tipos de tumor e estadiamento clínico. Obesidade e hiperglicemia foram frequentes no carcinoma e estadios I e IIA-IIIB, hipoglicemia e ausência de obesidade foram vistos nos animais mais senis e estadios mais graves (IV e IIA-IIIB) e na presença associada de tumores.

No aspecto nutricional a maior massa corporal (obesidade) vista nos animais mais jovens mostrou predomínio pró-oxidante com redução de vitamina antioxidante mas associada a um menor grau de desnutrição protéico-energética. Por outro lado o estadio mais avançado, que acometeu os animais mais idosos mostrou além da atividade pró-oxidante, grande acometimento protéico-energético com perda de massa corporal e hipoalbuminemia.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, nas condições em que foi realizado o experimento, permite as seguintes conclusões:

- Houve prevalência de carcinoma sobre o tumor complexo e do estadio clínico IIA-IIIB nos portadores de ambos os tipos de tumores com localização predominantemente inguinal.
- Houve concordância dos critérios clínicos, citopatológicos e bioquímicos pró-oxidantes, no diagnóstico da gravidade da doença, mas houve concordância apenas dos critérios clínico e bioquímico (de desnutrição protéica – caquexia) para estadios mais graves.
- Do ponto de vista bioquímico a associação de tumores não alterou a magnitude do estado pró-oxidante, mas reverteu a resistência insulínica prevalecente no carcinoma (obesidade e hiperglicemia) para hipoglicemia, hipocolesterolemia e hipoalbuminemia sugestivos de desnutrição protéica-caquexia.
- Demonstrou-se a necessidade da inclusão do porte dos animais dentre os critérios interpretativos da gravidade clínica, bioquímica e citopatológica do câncer mamário em cadelas SRD.

***CONSIDERAÇÕES
FINAIS***

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A amostragem da lesão foi eficaz no diagnóstico citopatológico sem complicações para o paciente.
- Notou-se necessidade de amostragem mais representativa dos diversos estadiamentos clínicos para melhor análise associativa desse critério com os demais estudados (citopatológico e bioquímico).
- Notou-se necessidade de indicadores de composição corporal para melhor interpretação do excesso de peso (obesidade) associadamente a hipoalbuminemia, e com isso excluir a presença de edema (anasarca).
- O prosseguimento natural dessa linha investigativa seria o aprofundamento dos estudos sobre o papel do estresse oxidativo associando-o a indicadores de proliferação e apoptose celulares das células neoplásicas da mama. Além da participação dos fatores nutricionais na modulação deste tipo de neoplasia.

ANEXOS

8. ANEXOS

Anexo 2 - FICHA DE EXAME CLÍNICO E ANATOMO-PATOLÓGICO

Data: ____/____/____.

Proprietário: _____.

Endereço: _____ Fone: _____.

RG: _____

Pesquisa. nº: _____

IDENTIFICAÇÃO

Espécie: _____

Pelagem: ☐ Simples

Raça: _____

☐ Dupla

Sexo: _____

Coloração: ☐ Sólida

Idade: _____

☐ Mista: _____

Peso: _____

EXAME CLÍNICO

Porte: ☐ Pequeno (até 35cm) _____Condição corporal: ☐ Magro☐ Médio (36-46cm) _____☐ Ideal☐ Grande (acima de 46cm) _____☐ ObesoAlimentação: ☐ RaçãoCios Regulares: ☐ Sim☐ Comida caseira☐ Não☐ Ração e comida caseira☐ Outros: _____Teve cria: ☐ Sim, nº _____ ☐ NãoAborto: ☐ Sim, nº _____☐ NãoPseudogestação: ☐ Regulares☐ Intermitentes☐ NãoAnticoncepcional: ☐ Sim, Qual: _____☐ NãoSecreção vaginal: ☐ Sim☐ Não

Outras doenças: _____

Mamas acometidas:

Obs: _____

Características do(s) tumor(es):

⇒ Tamanho:

⇒ Consistência:

⇒ Coloração:

Tempo de evolução do tumor:

História familiar de tumor de mama:

Edema de Membros: ☐ Sim, Qual(is): _____
☐ NãoLinfonodos Aumentados: ☐ Sim, Qual(is): _____
☐ Não**EXAME LABORATORIAL**

Glicose: _____.

Albumina: _____.

Colesterol: _____.

EXAME BIOQUÍMICOVitamina E (α -tocoferol): _____.

Malondialdeído (MDA): _____.

Anexo 1 - PROTOCOLO CITOPATOLÓGICO

RG: _____ DATA: ____/____/____.
Pesquisa n: _____.

CAAF: cadeia mamária ESQUERDA: ☐ M1; ☐ M2; ☐ M3; ☐ M4; ☐ M5
cadeia mamária DIREITA: ☐ M1; ☐ M2; ☐ M3; ☐ M4; ☐ M5

Características da neoplasia: ☐ Integra Tamanho: ☐ < 2 cm
☐ Ulcerada ☐ > 2 até 5 cm
☐ Cística ☐ > 5 cm _____

Material: ☐ Representativo Celularidade: ☐ Epitelial
☐ Não representativo ☐ Mesenquimal

Aglomerados: ☐ Ausente Células individuais: ☐ Ausentes
☐ Celularidade baixa ☐ Cels. Epiteliais
☐ Celularidade moderada ☐ Cels. Mesenquimais
☐ Celularidade alta ☐ Mista

Infiltrado inflamatório: ☐ Ausente ☐ Histiócito Cels. Gigantes: ☐ Presente
☐ Linfócitos ☐ Ausente
☐ Neutrófilos
☐ Plasmócitos

Necrose: ☐ Presente Lactação: ☐ Presente Metaplasia: ☐ Ausente
☐ Ausente ☐ Ausente ☐ Óssea
Mucina: ☐ Presente ☐ Cartilaginosa
☐ Ausente ☐ Escamosa

Pleomorfismo: ☐ Discreto Núcleo: ☐ vesicular Anisocariose: ☐ Discreta
☐ Moderado ☐ uniforme ☐ Moderada
☐ Acentuado ☐ Acentuada
Membrana nuclear ☐ irregular
☐ uniforme

Núcleo: ☐ Ausente Mitoses: ☐ Presente Endotélio vasc.: ☐ Presente
☐ Único macronúcleo ☐ Ausente ☐ Ausentes
☐ Múltiplos macronúcleos ☐ Fibrovasc.
☐ Único micronúcleo
☐ Múltiplos micronúcleos

CONCLUSÃO: _____

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- ABATI, A., ABELE, J. BACUS, S.S., *et al.* The uniform approach to breast. Fine needle aspiration biopsy. **Diagn. Cytopathol.**, v. 16, p. 295-311, 1997.
- ABDALLA, D.S.P. Antioxidantes: conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. **Ars Cvrandi**, v.26, p.141-64, 1993.
- ABURTO, F.E. *et al.* Histogenesis of mixed tumours in the canine mammary gland. **Veterinaria Mexico**, v. 28, p. 317-24, 1997.
- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J. *et al.* **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 1294p.
- ALLEN, S.W., PRASSE, K.W., MAHAFFEY, E.A. Cytologic differentiation of benign from malignant canine mamary tumors. **Vet. Pathol.**, v. 23, p. 649-55, 1986.
- ALLRED, D.C. *et al.* Prognostic and predictive factors in breast cancer by imunohistochemical analysis. **Mod. Pathol.**, v.11, p.155-68, 1998.
- ALVES, V.A.F., *et al.* Controle de qualidade interno em citopatologia ginecológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA, 22, 1999, Curitiba. **Hand-out ...** Curitiba, 1999. 32p. (MR/CF 06).
- AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER (AJCC). **Manual for staging for breast carcinoma**, 3.ed. 1989.
- ARCHER, M. Molecular studies on the role of dietary fat and cholesterol in breast cancer induction. **Nutrition**, v. 13, p. 75-7, 1997.
- ARGYLE, D.J. The mammary gland. In: SIMPSON, G., ENGLAND, G., HARVEY, N. Manual of small animal reproduction and neonatology. **British Small Animal Vet. Assoc.**, p. 56-7, 1998.
- ARISIO, R., CUCCORESE, C., ACCINELLI, G., *et al.* Role of fine-needle aspiration biopsy in breast lesions: analisis of a series of 4.110 cases. **Diagn. Cytopathol.**, v. 18, p.462-7, 1998.

¹ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da UNESP**. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas. BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

- ARNAUD, J. *et al.* Simultaneous determination of retinol, alfa-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. Biomed. Appl.**, v.572, p.103-16, 1991.
- ARUOMA, O.I. Free radicals and food. **Chem. Britain**, v. 29, p.210-4, 1993.
- ATHANASOU, N., WELLS, C.A., FERGUSON, D.J., *et al.* The origin and nature of stromal osteoclast-like multinucleated giant cells in breast carcinoma: implications for tumour osteolysis and macrophage behaviour. **Br. J. Cancer**, v. 59, p. 491-8, 1989.
- BAGGA, D., CAPONE, S., WANG, H.J., *et al.* Dietary modulation of n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids ratios in patients with breast cancer. **Natl. Cancer Inst.**, v. 89, p. 1123-31, 1997.
- BAKER, J.K. *et al.* Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic and in acid in blood plasma samples. **J. Liq. Chromatogr.**, v.6, p.1319-32, 1989.
- BAKER, R., LUMSDEN, J.H. Principles of cytological evolution. In: _____. **Color atlas of cytology of dog and cat**. St. Louis: Mosby, 1999. p. 3-5.
- BALLARD, B.R. Energy balance, anthropometry, and cancer. In: HEBER, D., BLACK BURN, G.L., GO, V.L.W. **Nutricional oncology**. San Diego: Academic Press, 1999. p.137-51.
- BANKS, W.J. Sistema tegumentar: glândula mamária. In: _____. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 20, p.391-424.
- BARCELLOS, J.M. Citopatologia mamária. In: MONTORO, A.F. **Mastologia**. São Paulo: Savier, 1984. p. 43-9.
- BARROWS, G.H., ANDERSON, T.J., LAMB, J.L. *et al.* Fine needle aspiration of breast cancer: relationship of clinical factors to cytology results in 689 primary malignancies. **Cancer**, v. 88, p. 1493-8, 1986.
- BARTOW, S.A. A mama. In: RUBIN, E., FARBER, J.L. **Patologia**. 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 19, p. 994-1013.
- BARTSCH, H., NAIR, J., OWEN, R.W. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. **Carcinogenesis**, v. 20, p.2209-18, 1999.

- BEECHER, G.R. Phytonutrients role in metabolism: effects on resistance to degenerative processes. **Nutr. Ver.**, v. 57, p.S3-S6, 1999.
- BIBBO, M. **Comprehensive cytopathology**. Philadelphia: Saunders, 1991. 1101p.
- BIRCHARD, S.J. Manejo do paciente. In: BIRCHARD, S.J., SHERDING, R.G. **Manual Saunders de clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p.1-13.
- BIRD, R.P., DRAPPER, H.H. Comparative studies on different methods of malondehyde determination. **Methods Enzymol.**, v. 105, p. 299-305, 1984.
- BIRKIMER, S.J. Nutricion and breast disease. In: DONEGAN, W.L., SPRATT, J.S. **Cancer of the breast**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1988. cap.5, p.74-104.
- BLAMEY, R., ELSTON, C. The diagnosis of breast cancer. In: BLAMEY, R.W. **Complications in the management of breast disease**. Oxford: Saunders, 1986. cap.1, p.1-7.
- BLOOM, W., FAWCETT, D.W. Mammary gland. In: _____. **Text Book of Histology**. Philadelphia: W B Saunders, 1986. p.901-12.
- BORGES, NUNES. Nutrição e manejo alimentar de cães. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, n.23, p.5-103, 1998.
- BOTTLES, K., MILLER, T.R., COHEN, M.B., *et al.* Fine needle aspiration biopsy: has its time comes? **Am. J. Med.**, v. 81, p. 525-31, 1986.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer/ INCA. Coordenação de Programas de Controle do Câncer/ Pro-Onco. **Câncer no Brasil: dados de registro de base populacional**. Rio de Janeiro: INCA/ Pro-Onco, 1991. 35p. Disponível em: <[http:// www. cancerdemama.org](http://www.cancerdemama.org)>. Acesso em: 10 jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. União Internacional Contra o Câncer. **TNM: classificação dos tumores malignos**. 5.ed., Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer – INCA, 1998. p.128-36.
- BRIGGS, G. M. Alimentação. In: _____. **Nutrição**. Pesquisa purina
- BRUENGER, F.W. *et al.* Occurrence of mammary tumors in Beagles given radium-226. **Radiat. Res.**, v.138, p.423-34, 1994.

- BURINI, C.H.P., ROCHA, N.S., HATAKA, A. TNM clínico das neoplasias malignas mamárias em cadelas. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 2001, Pirassununga. **Anais ...** Pirassununga: USP, 2001. p. 180.
- BURKITT, H.G., YOUNG, B., HEATH, J.W. **Wheater histologia funcional**. 3.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1994. p.362-5.
- BURTON, G.W. Vitamin E: molecular and biological function. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 53, p. 251-62, 1994.
- BYERS, T.E. Nutrition and cancer: ten lessons from the 20th century. **Nutrition**, v.16, p. 561-3, 2000.
- CARROL, K.K. Obesity as a risk for certain types of cancer. **Lipids**, v. 33, p. 1055-9, 1998.
- CARVALHO, G. Glândula mamária. In: _____. **A citologia no diagnóstico do câncer e das lesões pré-cancerosas**. São Paulo: Atheneu, 1993. p.114-20.
- CASSALI, G.D. **Estudo morfológico, imunoistoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela- aspectos comparativos com neoplasias da mama humana**. Belo Horizonte, 2000. 80p. Tese (Doutorado)- Escola de Veterinária, Universidade Federal da Minas Gerais.
- CASTELLA, E., GÓMEZ-PLAZA, M.C., URBAN, A., *et al.* Fine needle aspiration biopsy of metaplastic carcinoma of the breast: report of a case with abundant myxoid ground substance. **Diagn. Cytopathol.**, v. 14, p. 325-7, 1996.
- CATROPPO, J.F., LARA, J.F. Metastatic metaplastic carcinoma of the breast (MCB): an uncharacteristic pattern of presentation with clinicopathologic correlation. **Diagn. Cytopathol.**, v. 25, p.285-91, 2001.
- CHAPELON, C.F., NIRAVONG, M., JOSEPH, R.R. Diet and breast cancer, review of the epidemiologic literature. **Cancer Detect. Prev.**, v. 21, p. 426-40, 1997.
- CHARLEUX, J. Beta-carotene, vitamin C and vitamin E: the protective micronutrients. **Nutr. Rev.**, v. 54, p. S190-S4, 1996.

- CHOPRA, S., WALLACE, H.M. Induction of spermidine/spermine N1-acetyltransferase in human cancer cells in response to increased production of reactive oxygen species. **Biochem. Pharmacol.**, v.55, p.1119-23, 1998.
- COFFEY, D.S. Similarities of prostate and breast câncer: evolution, diet and estrogens. **Urology**, v. 57, suppl 4A, p. 31-8, 2001.
- CONFEDERAÇÃO DO BRASIL KENNEL CLUBE (CBKC). **Manual de estrutura e dinâmica do cão**. s.l, 1987. p.113.
- COTRAN, R.S., KUMAR, V., COLLINS, T. Neoplasia. In: _____. **Robbins: patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 8, p. 233-295.
- COUTO, C.G., NELSON, R.W. Distúrbios da Glândula mamária. In: _____. **Fundamentos de medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1994. cap.57, p.490-1.
- DABBS, D.J., SILVERMAN, J.F. Prognostic factors from the fine needle aspirate: breast carcinoma nuclear grade. **Diagn. Cytopathol.**, v. 10, p. 203-8, 1994.
- DEBORAH, E. Breast cancer: a global perspective. **J. Clin. Oncology**, v. 19, p 101S-5S, 2001.
- deDECKERE, E.A.M. Possible beneficial effect of fish and fish n-3 polyunsaturated fatty acids in breast and colorectal cancer. **Eur. J. Cancer Prev.**, v.8, p.213-21, 1999.
- DEVI, K.R., KURUVILA, S., MESA, M.M. Pathological prognostic factors in breast carcinoma. **Vet. Pathol.**, v.38, p. 703-9, 2001.
- DICHI, I., BURINI, R.C. Metabolismo e regulação dos níveis plasmáticos de albumina. **Cadernos de nutrição (SBAN)**, v. 3, p. 99-127, 1991.
- DODD, L.G., LAYFIELD, L.J. Fine needle aspiration of inflammatory carcinoma of the breast. **Diagn. Cytopathol.**, v. 15, p. 363-6, 1996.
- DOLL, R., PETO, R. The causes of cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 66, p.1191, 1981.
- DONEGAN, W.L. Diagnosis. In: DONEGAN, W.L., SPRATT, J.S. **Cancer of the breast**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1988. cap. 6, p.125-166.

- DONEGAN, W.L., SPRATT, J.S. Multiple primary cancers in mammary and extramammary sites and cancers metastatic to the breast. In: _____. **Cancer of the breast**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1988. cap. 22, p.632-47.
- DONNAY, I. *et al.* Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mamary tissues from dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v.56, p.1188-94, 1995.
- DOSSIER, S. Diabetes and obesity. **Biomed. Pharmacother.**, v. 53, p. 452-70, 1999.
- DRISKELL, W.J., NEESE, J.W., BRYANT, C.C., et al. Measurement of vitamin E in human serum by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 231, p. 439-44, 1982.
- DUNNE, B., GOING, J.J. Scoring nuclear pleomorfism in breast cancer. **Histopathology**, v.39, p.259-65, 2001.
- DWYER, J.T. Medical evaluation and classification of obesity. In: BLACKBURN, G.L., KANDERS, B.S. **Obesity pathophysiology, psychology and treatment**. New York: Chapman & Hall, 1994. cap.2, p.2-38.
- DYCE, K.M., SACK, W.O., WENSING, C.J.G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1996. p.289-91.
- EISENBERG, A.L.A., KOIFMAN, S. Aspectos gerais dos adenocarcinomas de mama, estadiamento e classificação histopatológica com descrição dos principais tipos. **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 46, p.63-77, 2000.
- ELLEDGE, R.M., ALLRED, D.C. The p53 tumor suppressor gene in breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.**, v. 32, p. 39-47, 1994.
- ELLING, H., UNGEMACH, F.R. Simultaneous occurrence of receptors for the estradiol, progesterone and dihydrotestosterone in canine mammary tumors. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v.105, p.231-7, 1983.
- ELSE, R.W., HANNANT, D. Some epidemiological aspects of mammary neoplasia in the bitch. **Vet. Rec.**, v.104, p.296-304, 1979.
- ELSTON, C.W. Patologia mamária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA, 22, 1999, Curitiba. **Hand-out ...** Curitiba, 1999, 32p. (MR/CF 22).

- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.57, p.779-86, 1993.
- EVANS, C.R., PIERREPOINT, C.G. Tissue-steroid interactions in canine hormone-dependent tumours. **Vet. Rec.**, v.13, p.464-7, 1975.
- EVANS, H.E., CHRISTENSEN, G.C. The reproductive organs. In: EVANS, H. E. **Miller's anatomy of the dog**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1993. p.504-58.
- EVANS, H.E., LAHUNTA, A.M. Glândula mamária. In: _____. **Guia para a dissecação do cão**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.102-3.
- EYA, H. Citopatologia. In: RUBIN, E., FARBER, J.L. **Patologia**. 3.ed., cap.30, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1512-1529, 2002.
- FARAH, S.B. **DNA: segredos e mistérios**. São Paulo: Sarvier, 1997. 276p.
- FAVIER, A. *et al.* Antioxidant status and lipid peroxidation in patients infected with HIV. **Chem. Biol. Inter.**, v.91, p.165-80, 1994.
- FAVIER, A. Biological indicators of oxidative stress in humans. **AOCS**, v. 58, p. 57-80, 1994.
- FAVIER, A. Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. **Ann. Biol. Clin.**, v.55, p.9-16, 1997.
- FERNANDES, M.M.G. **Estudo da patologia dos tumores mamários caninos através de técnicas de imunohistoquímica e citometria estática**. Cidade do Porto, 1996. 93 p. Dissertação (Mestrado de Oncologia) – Faculdade de Medicina do Porto.
- FIGUEROA, J.A., YEL, D., McGUIRE, W.L. Prognostic indicators in early breast cancer. **Am. J. Med. Sci.**, v. 305, p. 172-82, 1993.
- FOSSUM, T.W. *et al.* Surgery of the female reproductive. In: _____. **Small animal surgery**. Saint Louis: Mosby, 1997. p.538-52.
- FRANCO, J.M. **Mastologia: formação do especialista**. São Paulo: Atheneu, 1997. p.167-70.
- FRANKEL, E.N. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, v. 61, p. 1908-17, 1984.

- FREEMAN, L.M., MICHEL, K.E. Evaluation of raw food diets for dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.218, p. 705-9, 2001.
- FREI, B. Reactive oxygens species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. **Am. J. Med.**, v. 97, p.S5-13, 1994.
- GALIZIA, M.S., WAITZBERG, D.L. Mecanismos de ação dos radicais livres e antioxidantes. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v.16, p.79-89, 2001.
- GANDINI, S., MERZENICH, H., ROBERTSON, C. *et al.* Meta analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. **Eur. J. Cancer**, v. 36, p.636-46, 2000.
- GARCIA, S.M.L., JECKEL NETO, E., FERNÁNDEZ, C.G. **Embriologia**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1991. p.135.
- GATENBY, R.A., FRIEDEN, B.R. Application of information theory and extreme physical information to carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 62, p. 3675-84, 2002.
- GETTY, R. Órgãos genitais femininos. In: _____. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. v.2, p.1489-93.
- GIORNO, R. Mononuclear cells in malignant and benign human breast tissue. **Arch. Pathol. Lab. Méd.**, v.107, p. 415-7, 1983.
- GOBBI, H., RIBEIRO, G.J.C., LOUREIRO, F.J. Modelo de protocolo informatizável para estudo anátomo-patológico de peças cirúrgicas de mama. **J. Anatomopatol.**, v. 8, p.14-6, 1993.
- GOEPFERT, T.M., ADIGUN, Y.E., ZHONG, L., *et al.* Centrosome amplification and overexpression of aurora a are early events in rat mammary carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 15, p.4115-22, 2002.
- GOUVÊA, A.P. **Punção aspirativa com agulha fina da mama: avaliação da acuidade do método e das características citológicas em casos de carcinoma, fibroadenoma e lesões benignas não neoplásicas**. Belo Horizonte, 1996. 99p. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade Federal de Minas Gerais.

- GREENWALD, P., McDONALD, S.S. Cancer prevention: the roles of diet and chemoprevention 5. **Cancer Control**, v. 4, p. 118-27, 1997.
- GREENWALD, P. Role of dietary fat in the causation of breast cancer: point. **Cancer Epidemiol. Biomark Prev.**, v. 8, p.3-7, 1999.
- GREENWALD, P., CLIFFORD, C.K., MILNER, J.A. Diet and cancer prevention. **Eur. J. Cancer**, v. 37, p. 948-65, 2001.
- GRIFFITHS, G.L., LUMSDEN, J.H., VALLI, V.E.O., *et al.* Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 13, p. 13-7, 1984.
- GUPTA, R.K. Cytodiagnostic patterns of metaplastic breast carcinoma in aspiration samples: a study of 14 cases. **Diagn. Cytopathol.**, v. 20, p. 10-2, 1999.
- GURGEL, M.S.C. *et al.* Influência da história familiar na evolução do câncer de mama. **Rev. Bras. Mastol.**, v.7, p.51-7, 1997.
- GUTTERIDGE, J.M.C., HALLIWELL, B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. **Trends in Biomedical Sciences**, v.15, p.129-35, 1990.
- HAJDU, J. *et al.* The value and limitations of aspiration cytology in the diagnosis of primary tumors: a symposium. **Acta Cytol.**, v. 33, p. 741-90, 1989.
- HALL, J.A. Potencial adverse of long term consumption of (n-3) fatty acids. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.18, p. 879-895, 1996.
- HALLIWELL, B. Antioxidant in human health and disease. **Ann. Rev. Nutr.**, v.16, p.33-50, 1996.
- HAMILTON, J.M. *et al.* Oestrogen receptors in canine mammary tumours. **Vet. Rec.**, v.101, p.258-60, 1977.
- HAMILTON, J.M., KNIGHT, P.J., BEEVERS, J. Serum prolactin concentrations in canine mammary cancer. **Vet. Rec.**, v.102, p.127-8, 1978.
- HAMMOND, S., KEYHANI-ROFAGHA, S., O'TOOLE, R.V. Statistical analysis of fine needle aspiration cytology of the breast – A review of 678 cases plus 4,265 cases from the literature. **Acta Cytol.**, v.31, p.276-80, 1987.

- HARPER, E.J., ALBLAS, J. Supplementation of dietary tocopherol increases plasma values outside the normal ranges. **FASEB. J.**, v. 13, p.A564, 1999.
- HARRIS, W.S. n-3 Fatty acids and lipoproteins: comparison of results from human and animal studies. **Lipids**, v. 31, p.243-52, 1996.
- HARVEY, J. Glândulas mamárias. In: BOJRAB, M. J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1996. p.425-30.
- HATHCOCK, J.N. Vitamins and minerals: efficacy and safety. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 66, p. 427-37, 1997.
- HEATON, P.R. *et al.* Role of dietary antioxidants to protect against DNA damage in adult dogs. **J. Nutr.**, v. 132, p. 1720S-4S, 2002.
- HELLMEN, E., *et al.* Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. **Vet. Pathol.**, v. 30, p. 20-7, 1993.
- HILL'S. Prevenção da obesidade. In: _____. **Os alimentos mais saudáveis para cães e gatos**. São Paulo, 1999. (Folder).
- HINDER, R.A., STEIN, H.J. Oxygen derived free radicals. **Arch. Surg.**, v. 126, p. 104-5, 1991.
- HOLMES, M.D., HUNTER, D.J., COLDITZ, G.A., *et al.* Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. **J. Am. Med. Assoc.**, v.281, p.914-20, 1999.
- HOWE, G.R., HIROHATA, T., HISLOP, T.G., *et al.* Dietary factors and risk of breast cancer; combined analysis of 12 case control studies. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 82, p. 561-9, 1990.
- HUANG, H.Y., HELZLSOUER, K.J., APPEL, L.J. The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: results from a randomized controlled trial. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 9, p. 647-52, 2000.
- IMAGAWA, W. *et al.* Control of mammary gland development. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. **The physiology of reproduction**. 2.ed. New York: Raven, 1994. p.1033-63.
- INABA, T. *et al.* Estrogen and progesterone receptors and progesterone metabolism in canine mammary tumours. **Jpn. J. Vet. Sci**, v.46, p.797-803, 1984.

- ISLABÃO, N. Vitamina E. In: _____. **Vitaminas: seu metabolismo no homem e nos animais domésticos**. 2.ed. São Paulo: Nobel, 1977. p. 61-82.
- JEBSEN, P.W., HAGMAR, B., NESLAND, J. Metaplastic breast carcinoma: a diag problem in fine needle aspiration biopsy. **Acta Cytol.**, v.35, p.396-402, 1991.
- JERICÓ, M.M., SCHEFFER, K.C. Aspectos epidemiológicos dos cães obesos na cidade de São Paulo. **Clin. Vet.**, n.37, p. 25-9, 2002.
- JOHNSTON, S.D. Reproductive systems oncology. In: SCATTER, D. **Text book of small animal surgery**. Philadelphia: Saunders Company, 1993. v. 2, p. 2177-200.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. A célula cancerosa. In: _____. **Biologia celular e molecular**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam, 2000. p.292-301.
- KANECO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press. 1997. cap. 5, p. 117-38,
- KARP, J.E., BRODER, S. Molecular foundations of cancer: new targets for intervention. **Nat. Med.**, v.4, p.309-20, 1995.
- KEEBLER, C.M., SOMRAK, T.M. **The manual of cytotechnology**. 7.ed. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1993. 464p.
- KNERT, P. Serum vitamin E level and risk of female cancers. **Int. J. Epidemiol.**, v. 17, p. 281-6, 1988.
- KOHLI, R.N., SAIYARI, M., NADDAF, H., *et al.* Malignant mixed mammary tumour of unusually large size in a bitch. **India Vet. J.**, v.75, p. 113-116, 1998.
- KOLONEL, L.N. Fat and cancer: the epidemiological evidence in perspective. **Nutrition**, v. 13, p. 75-7, 1997.
- KOSS, L.G. **Diagnostic cytology and its histopathologic bases**. 2.ed. Philadelphia: Lippincott, 1972. 632p.
- KOTLER, D.P. Antioxidant therapy and HIV infection. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.67, p.7-9, 1998.

- KRIGMAN, H. R., IGLEHART, J. D., COAGAN, A. C., *et al.* Fine needle aspiration of low grade adenosquamous carcinoma of the breast. **Diagn. Cytopathol.**, v.14, n. 4, 1996.
- LAGADIC, M. *et al.* Tumeurs mammaires de la chienne: criteres du pronostic histologic et intérêt d'un grading. **Rec. Med. Vet.**, v.166, p.1035-42, 1990.
- LAI, C., SHIELDS, P.G. The role of interindividual variation in human carcinogenesis. **J. Nutr.**, v. 129, p. 532S-55S, 1999.
- LAMEU, E. Mecanismos de lesão celular pelos radicais livres no paciente crítico. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v.16, p.90-4, 2001.
- LAYFIELD, L.J., DODD, L.G. Cytologically low grade malignances: an important interpretative pitfall responsible for false negative diagnosis in fine needle aspiration of the breast. **Diagn. Cytopathol.**, v.15, p. 250-9, 1996.
- LEE, K.R., FOSTER, R.S., PAPILLO, J.L. Fine needle aspiration of the breast: importance of the aspirator. **Acta Cytol.**, v.31, p. 281-4, 1987.
- LEIS, H.P., URBAN, J.A. The other breast. In: GALLAGER, H.S., LEIS, H.P., SNYDERMAN, R.K., *et al.* **The breast**. Saint Louis: Mosby. 1978. cap. 40, p. 487-96.
- LESLIE, K.O., HOWARD, P. Oncogenes and antioncogenes in human breast carcinoma. **Pathol. Annu.**, v. 27, p. 321, 1992.
- LESTER, S.C., COTRAN, R.S. A mama. In: COTRAN, R.S., KUMAR, V., COLLINS, T. **Robbins: patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. cap. 25, p. 979-1002.
- LIPPMAN, M.E. Investigação de massas da mama em homens e mulheres. In: FAUCI, J., *et al.* **Harrison medicina interna**. 14.ed., Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1998. cap.64, p.385-388.
- LODISH, H., BERK, A., ZIPURSKY, S.L., *et al.* Cancer. In: _____. **Biologia celular e molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. cap.24, p.1054-84.
- LOWHAGEN, T., TANI, E.M., SKOOG, L. Salivary glands and rare head and neck lesions In: BIBBO, M. **Comprehensive cytopathology**, 2.ed., Philadelphia: Saunders, 1997. p.649-71.

- LYNCH, H.T. *et al.* Epidemiology and risk factors. **Clin. Obstet. Gynecol.**, v.32, p.750-60, 1989.
- MacEWEN, E.G., WITHROW, J.S. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: Saunders, 1996. p. 356-72.
- MACLEOD, A.G. **Cytology**. Michigan: Upjohn, 1981. 113p.
- MADY, E.A. Association between estradiol, estrogen receptors, total lipids, triglycerides and cholesterol in patients with benign and malignant breast tumors. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v.75, p. 323-8, 2000.
- MALAFA, M.P., NEITZEL, L.T. Vitamin E succinate promotes breast cancer tumor dormancy 2. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1485, p. 129-44, 2000.
- MANSOUR, E.G., RAVDIN, P.M. DRESSLER, L. Prognostic factors in early breast carcinoma. **Cancer Suppl.**, v. 74, p. 381-400, 1994.
- MANZEL, O. Immunohistochemical demonstration of receptors for oestrogens and progesterone in tissue sections from dogs, including mammary neoplasms. **Tierarztl. Hochschule.**, v. 98, 98p., 1995.
- MARTELLI, G., PILOTTI, S. Diagnostic efficiency of physical examination, mammography, fine needle aspiration cytology (triple test) in solid breast lumps: an analysis of 1708 consecutive cases. **Tumori**, v.76, p. 476-9, 1990.
- MARTIN, P.M. *et al.* Animal models for hormone-dependent human breast cancer: relationship between steroid receptor profiles in canine and feline mammary tumors and survival rate cancer. **Chemother. Pharmacol.**, v.12, p.13-7, 1984.
- MATHÉ, G. Obesity not only holds cardiovascular disease, it also hold tumors. **Biomed. Pharmacother.**, v.54, p. 67-8, 2000.
- MAYGARDEN, S.J., BROCK, M.S., NOTVOTNY, D.B. An epithelial cells in fat or connective tissue a reliable indicator of tumor invasion in fine-needle aspiration of the breast? **Diagn. Cytopathol.**, v.16, p.137-42, 1997.
- MAYNARD, L.A., LOOSLI, J.K. As vitaminas. In: _____. **Nutrição animal**. Rio de Janeiro: USAID, 1966, cap.8, p. 202-282.
- McKEE, G.T. **Citopatologia**. São Paulo: Arts Médicas, 1997. 361p.

- McKEE, G.T., TAMBOURET, R.H., FINKELSTEIN, D. Fine needle aspiration cytology of the breast: invasive versus in situ carcinoma. **Diagn. Cytopathol.**, v. 25, p. 73-7, 2001.
- McKEOWN, N. Antioxidants and breast cancer. **Nutr. Rev.**, v.57, p.321-4, 1999.
- McTIERNAN, A. Associations between energy balance and body mass index and risk of breast carcinoma in woman from diverse racial and ethnic backgrounds in the U.S. **Cancer**, v. 88, p. 1248-55, 2000.
- MELAMED, M.R., HUTCHINSON, M.L., KAUFMAN, E.A., *et al.* Evaluation of costs and benefits of advances in cytologic technology. **Acta Cytol.**, v.42, n.1, p. 69-75, 1998.
- MENDONÇA, M. *et al.* Receptores hormonais. **J. Bras. Ginecol.**, v.102, p.233-9, 1992.
- MESA, C.M.P., Gross and microscopic pathology. In: DONEGAN, W.L., SPRATT, J.S. **Cancer of the breast**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1988. cap. 6, p. 125-66.
- MILLER, W.R. Oestrogens and breast cancer: biological considerations. **Br. Med. Bull.**, v.47, p.470-83, 1991.
- MISDORP, W. Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effects of progestins. **Vet. Q.**, v. 10, p. 26-33, 1988.
- MISDORP, W., ELSE, R.W., HELLMÉN, E., *et al.* Definitions and explanatory notes. In: _____. **WHO histological classification of mammary tumors of the dog and cat**. Washington: Armed Forces Institute of Pathology. 1999. cap. 3, p. 18-27.
- MOL, J.A., GARDEREN, E.V., RUTTEMAN, G.R., *et al.* New insights in the molecular mechanism of progestin-induced proliferation of mammary epithelium: induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. **J. of Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 57, p. 67-71, 1996.
- MONLUX, A.W. *et al.* Classification of epithelial canine mammary tumors in a defined population. **Vet. Pathol.**, v.14, p.194-217, 1977.

- MONSON, K.R., MALBICA, J.O., HUBBEN, K. Determination of estrogen receptors in canine mammary tumors. **Am. J. Vet. Res.**, v.38, p. 1937-9, 1977.
- MORRIS, J. S. *et al.* Effect of ovariectomy in bitches with mammary neoplasms. **Vet. Rec.**, v. 142, p. 656-8, 1998.
- MORRIS, J.G., ROGERS, Q.R. Nutrition of healthy dogs and cats in various stages of adult life. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Text book of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 5.ed., cap.19, Philadelphia: Saunders, p.70-72, 2000.
- MORRISON, W.B. Paraneoplastic syndromes and the tumors that cause them. In: _____. **Cancer in dogs and cats**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. cap. 50, p.763-78.
- MOULTON, J.E., TAYLOR, D.O.N., DORN, C.R., *et al.* Canine mammary tumors. **Pathol. Vet.**, v. 7, p. 289-320, 1970.
- MOULTON, J.E. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Tumors in domestic animals**. 3.ed. Los Angeles: University of California Press, 1990. cap.12, p.518-52.
- NERURKAR, V.R. *et al.* Comparative pathology of canine mammary tumours. **J. Comp. Pathol.**, v.101, p.389-97, 1989.
- NIELSEN, J.B. *et al.* Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. **Clin. Chem.**, v.43, p.1209-14, 1997.
- NIELSEN, K.S. Alimento e combustível. In: _____. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5.ed., São Paulo: Santos, 1999, cap. 4, p.129-68.
- NIKI, E., YAMAMOTO, Y., KOMURO, E., *et al.* Membrane damage due to lipid oxidation. **Am. J. Clin. Nutr.** v.53, p.201-5, 1991.
- OBERLEY, T.D. Oxidative damage and câncer. **Am. J. Pathol.**, v. 160, p. 403-8, 2002.
- OBERMAN, H.A. Metaplastic carcinoma of the breast: a clinicopathologic study of 27 patients. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 11, p. 918-29, 1987.
- O'BRIEN, D.J. Spatial and temporal comparison of selected cancers in dogs and humans, Michigan, USA, 1964-1994. **Prev. Vet. Med.**, v. 47, p.187-204, 2000.

- O'KEEFE, D.A. Tumores do sistema genital e glândulas mamárias. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4.ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 2, p. 2344-51.
- O'NEIL, S., CASTELLI, M., GATTUSO, P., *et al.* Fine-needle aspiration of 697 palpable breast lesions with histopathologic correlation. **Surgery**, v.122, p. 824-8, 1997.
- PALOMBINI, L., FULCINITI, F., VETRANI, A., *et al.* Fine-needle aspiration biopsies of breast masses: a critical analysis of 1956 cases in 8 years (1976-1984). **Cancer**, v. 61, p.2273-7, 1988.
- PARK, C.S., JACOBSON, N.L. Glândula mamária e lactação. In: _____. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap. 37, p.645-59.
- PELETEIRO, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v. 89, n.509, p.10-29, 1994.
- PERES, J.A. **Classificação morfológica e avaliação da dependência hormonal da neoplasia mamária em cadelas**. Botucatu, 2000. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- PINOTTI, J.A. Métodos diagnósticos em mastologia: exame clínico. In: _____. **Compêndio de mastologia**. São Paulo: Manole, 1991. cap. 3, p.21-35.
- PINOTTI, J.A., TEIXEIRA, L.C. Câncer de mama: Importância, epidemiologia e fatores de risco. In: _____. **Tratado de ginecologia**. 3.ed., São Paulo: Roca, 2000. v.3, cap. 180, p.2019-22.
- PORTER, N.A., WAGNER, C.R. Phospholipid antoxidation. **Adv. Free Radic. Biol. Med.**, v. 2, p.283-323, 1986.
- RABL, H., KHOSHSORUR, G., HAUSER, H., *et al.* Diminished production of malondialdehyde after carotid artery surgery as a result of vitamin administration. **Med. Sci. Res.**, v. 24, p.777-80, 1996.
- RAHAL, S.C. *et al.*, 1995. Uso da fluoresceína na identificação dos vasos linfáticos superficiais das glândulas mamárias em cadelas. **Ciênc. Rural**, v. 25, p. 251-4, 1995.

- RAILO, M., NORDLING, S., KROGERUS, L., *et al.* Preoperative assessment of proliferative activity and hormonal receptor status in carcinoma of the breast: a comparison of needle aspiration and needle-core biopsies to the surgical specimen. **Diagn. Cytopathol.**, v.15, n. 3, 1996.
- RALF, R.C. *et al.* Biologia dos tumores. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4.ed. São Paulo: Manole, 1997. v.2, cap.72, p.665-75.
- RAW, I., MORO, A.M. Câncer: oncogenes e antioncogenes. In: _____. **Biologia molecular**. São Paulo: Roca, 1999. cap.8, p.75-93.
- RAY, G.N., SHAHID, M., HUSAIN, S.A. Role of lipids, lipoproteins and vitamins in women with breast cancer. **Clin. Biochem.**, v. 34, p. 71-6, 2001a.
- RAY, G.N., SHAHID, M., HUSAIN, S.A. Effect of nitric oxide and malondialdehyde on sister-chromatid exchanges in breast cancer. **Br. J. Biomed. Sci.**, v.58, p.169-76, 2001b.
- REHMAN, I. Embryology and anatomy of the breast. In: _____. **The breast**. Saint Louis: The C. V. Mosby Company, 1978. p.3-5.
- RESTUCCI, B. *et al.* E-cadherin expression in normal and neoplastic canine mammary gland. **J. Comp. Pathol.**, v.116, p.191-202, 1997.
- ROBINSON, I.A., McKEE, G., NICHOLSON, A., *et al.* Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas. **Lancet**, v. 343, p. 947-9, 1994.
- ROCHA, P.D.S., NADKARNI, N.S., MENEZES, S. Fine needle aspiration biopsy of breast lesions and histopathologic correlation – an analysis of 837 cases in four years. **Acta Cytol.**, v.41, p.705-12, 1997.
- ROCHA, N.S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, n.75, p.14-6, 1998.
- RONCADA, M.J. Vitaminas lipossolúveis. In: OLIVEIRA, J.E.D., MARCHINI, J.S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2000. cap.10, p. 167-189.
- ROSS, M.H. *et al.* Sistema genital feminino. In: _____. **Histologia: texto e atlas**. 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1993. cap.22, p.649-709.

- RUBIN, E., FARBER, J.L. Neoplasia. In: _____. **Patologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. cap.5, p. 152-209.
- RUNGSIPAT, A. *et al.* Immunohistochemical analysis of c-yes and c-erbB-2 oncogene products and p 53 tumor suppressor protein in canine mammary tumors. **J. Vet. Med. Sci.**, v.61, p.27-32, 1999.
- RUTTEMAN, G.R. *et al.* Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in non-affected and tumorous mammary tissue of female dogs. **Breast Cancer Res. Treat.**, v. 30, p. 139-146, 1994.
- RUTTEN, V.P.M.G., MISDORP, W., GAUTHIER, A., *et al.* Immunological aspects of mammary tumors in dogs and cats: a survey including own studies and pertinent literature. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 26, p. 211-25, 1990.
- SANT'ANA, L.S., MANCINI FILHO, J. Mecanismos da proteção oxidativa na utilização de antioxidantes *in vivo* em músculos de animais. **Cad. Nutr.**, v.10, p.48-63, 1995.
- SAUER, T., BOUDJEMA, G., JEBSEN, P.W. *et al.* Immunocytochemical expression of E-cadherin on fine needle aspirates from breast carcinomas correlate with the cell dissociation pattern seen on smears. **Diagn. Cytopathol**, v. 25, p.382-8, 2001.
- SCHELP, A.O., BURINI, R.C. Controle do fornecimento e da utilização de substratos energéticos no encéfalo. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 53, p. 690-7, 1995.
- SCHMITT, F.C. Prognóstico do cancro da mama: avaliação ao impacto de novos métodos face aos factores prognósticos tradicionais. **Arq. Med.**, v. 8, p.319-24, 1994.
- SCHNEIDER, R. *et al.* Factores influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **J. Nat. Cancer Inst.**, v.43, p.1249-61, 1969.
- SCHNEIDER, R. Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. **Cancer**, v. 26, p.419-26, 1970.

- SEEGER, J., ALLEGRA, J.C. Chemotherapy of breast cancer. In: DONEGAN, W.L., SPRATT, J.S. **Cancer of the breast**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 1988. cap., p. 475-91.
- SENIE, R.T., ROSEN, P.P., RHODES, P., *et al.* Obesity at diagnosis of breast carcinoma influences duration of disease free survival. **Am. Int. Med.**, v. 116, p. 26-32, 1992.
- SEVEN, A. *et al.* Breast cancer and benign breast disease patients evaluated in relation to oxidatives. **Cancer Biochem. Biophys.**, v. 16, p. 333-45, 1998.
- SHAPIRA, D.V., KUMA, N.B., LYMAN, H. Obesity, body fat distribution and sex hormones in breast cancer patients. **Cancer**, v. 67, p. 2215-18, 1991.
- SHIN, H.J.C., SNEIGE, N. Is a diagnosis of infiltrating versus in situ ductal carcinoma of the breast possible in fine needle aspiration specimens? **Cancer**, v. 84, p. 186-91, 1998.
- SHULL, R.M., MADDUX, J.M. Subcutaneous glandular tissue: the mammary glands. In: COWELL, R.L., *et al.* **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2.ed. St. Louis: Mosby, 1999. cap.7, p.88-96.
- SILVERMAN, J.F., LANNIN, D.R., O'BRIEN, K., *et al.* The triage role of fine needle aspiration biopsy of palpable breast mass: diagnostic accuracy and cost effectiveness. **Acta Cytol.**, v. 31, p. 731-6, 1987.
- SILVERMAN, J.F. Breast. In: BIBBO, M. **Comprehensive cytopathology**. Philadelphia: Saunders, 1991. cap. 27, p.703-70.
- SILVERMAN, J.F. Breast. In: _____. **Comprehensive cytopathology**, 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1996. p. 703-70.
- SIMON, D. *et al.* Mammary tumours in the dog: frequency and course. **Prakt. Tierarzt.**, v.77, p.771-82, 1996.
- SIMONSEN, M., VAN'T VEER, P., STRAIN, J.J., *et al.* Adipose tissue omega 3 and omega 6 fatty acid content and breast cancer in the EURAMIC study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 147, p. 342-52, 1998.
- SINHA, R., CAPORASO, N. Diet, genetic susceptibility and human cancer etiology. **J. Nutr.**, v. 129, p. 556S-9S, 1999.

- SIRGI, K.E., SNEIGE, N., FANNING, T.V., *et al.* Fine needle aspirates of granular cell lesions of the breast: report of three cases, with emphasis on differential diagnosis and utility of immunostaining for CD68 (KP1). **Diagn. Cytopathol.**, v. 15, p. 403-8, 1996.
- SOARES, J.A.G., SILVA, P.A.R. Castração precoce em cães e gatos. **Clín. Vet.**, v.3, p.34-40, 1998.
- SOLTER, P. Citologia veterinária na rotina diagnóstica. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO: CITOLOGIA E BIOQUÍMICA, Curitiba, 1999. **Programa ...** Curitiba: UFPR, 1999. p. 2, 4.
- SONNESCHEIN, E.G. A case control study of nutritional factors and spontaneous breast cancer in pet dogs. **Dissertation Abstracts Internacional**, v. 49, p. 2152, 1988.
- SONNESCHEIN, E.G., GLICKMAN, L.T., GOLDSCHMIDT, M.H., *et al.* Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 133, p. 694-703. 1991.
- SORENMO, K. Na update on canine mammary gland tumors. In: _____. ACVIM Forum, 16, 1998, S. L. **Proceedings ...** s.l. , 1998. p.387-8.
- STOLL, B.A. Obesity, social class and western diet: a link to breast cancer prognosis. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 1293-95, 1996a.
- STOLL, B.A. Obesity and breast cancer. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 20, p. 389-92, 1996b.
- STOLL, B.A. Breast cancer and the western diet: role of fatty acids and antioxidant vitamins. **Eur. J. Cancer**, v. 34, p. 1852-56, 1998.
- STONE, E.A. Neoplasias da glândula mamária. In: BIRCHARD, S.J., SHERDING, R.G. **Manual Saunders de clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p.234-7.
- STRANDBERG, J.D., GOODMAN, D.G. Animal model of human disease: canine mammary neoplasia. **Am. J. Pathol.**, v.75, p.225-8, 1974.
- STREIFF, E.L. *et al.* A comparison of the nutritional adequacy of home-prepared and commercial diet for dogs. **J. Nutr.**, v. 132, p. 1688S-700S, 2002.

- STYLO, T.M., WOOD, W.C. Quimioterapia coadjuvante na paciente com câncer da mama e gânglios negativos. In: LOPES, M.L. **Clínicas cirúrgicas da América do Norte**. Rio de Janeiro: Interlivros Edições, 1996. v.2, p.337-51.
- TAKEICHI, M. Funcional correlations between all adhesive properties and some cell surface proteins. **J. Cell. Biol.**, v. 75, p. 464-74, 1997.
- TARTIER, P.J., PAPATESTAS, A.E., IOANNOVICH, J., *et al.* Cholesterol and obesity as prognostic factors in breast cancer. **Cancer**, v. 47, p. 2222-7, 1981.
- TATEYAMA, S. *et al.* Expresión of bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumors. **Cancer Invest.**, v. 19, 692-7, 2001.
- TEICH, N.M. Oncogenes and cancer. In: FRANKS, L.M., TEICH, N.M. **Introduction to the celular and molecular biology of cancer**, 3.ed., New York: Oxford, 1997, p.175-93.
- TEIXIDOR, H.S., WOJTASEK, D.A., REICHES, E.M., *et al.* Fine-needle aspiration of breast biopsy specimens: correlation of histologic and cytologic findings. **Radiology**, v.184, n.1, p.55-8, 1992.
- TRACEY, K.J., CERAMI, A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. **Ann. Rev. Cell. Biol.**, v.9, p.317-43, 1993.
- TRENTHAM, D.A., NEWCOMB, P.A., STORER, B.E., *et al.* Body size and risk of breast cancer. **Am. J. Epidemiol.**, v. 145, p.1011-19, 1997.
- TSUTSUMI, S., GUPTA, S.K., HOGAN, V., *et al.* Activation of small GTPase Rho is required for autocrine motility factor signaling. **Cancer Research**, v. 62, p. 4484-90, 2002.
- TYLER, R.D. *et al.* Introduction. In: COWELL, R.L., *et al.* **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2.ed. St. Louis: Mosby, 1999. cap.1, p.1-19.
- UNIÃO INTERNACIONAL CONTRA O CÂNCER (UICC) – TNM classificação dos tumores. 5.ed. Rio de Janeiro, **Instituto Nacional de Câncer**. 1998. p. 128-36.
- VALAVAARA, R. Reliability of estrogen receptors in predicting response to antiestrogens. **Oncology**, v.11, p.14-8, 1997.

- VALLANCE, D. K., CAPEL-EDWARDS, K. **Br. Med. J.**, v. 24, p. .221, 1971.
- WANDER, R.C., HALL, J.A., GRADIN, J.L., *et al.* The ratio of dietary (n-6) to (n-3) fatty acids influences immune system function, eicosanoid metabolism, lipid peroxidation and vitamin E status in aged dogs. **Am. Soc. Nutr. Sci.**, v. 127, p. 1198-1205, 1997.
- WATERFALL, A.H., SINGH, G., FRY, J.R., *et al.* Detection of the lipid peroxidation product malonaldehyde in rat brain in vivo. **Neuroscience Letters**, v. 200, p.69-72, 1995.
- WATRACH, A.M. *et al.* Induction of oncornavirus-like particules in cell line of canine mammary gland carcinoma. **Br. J. Cancer**, v.38, p.639-42, 1978.
- WEISS, L. Cell and tissue biology. In: _____. **A text book of histology**. 6.ed. Baltimore: Urban & Sehwarzenberg, 1988. p. 881-98.
- WEDEKING, K.J., ZICKER, S., LOWRY, S., *et al.* Antioxidant status of adult beagles is affected by dietary antioxidant intake. **J. Nutr.**, v. 132, p.1658S-60S, 2002.
- WILCOCK, B.P. Neoplastic diseases of skin and mammary gland. In: JUBB, K.V.F. *et al.* **Pathology of domestic animals**. 4.ed. California: Academic Press, 1993. p.706-38.
- WITHROW, S.J., MacEWEN, G. Canine mamary tumors. In: _____. **Small animal clinical oncology**. Philadelphia:Saunders, 1996. p.356-72.
- WK, N.G. Fine needle aspiration oxtology of invasive cribiform carcinoma of the breast with osteoclast likegiant cells: a case report. **Diagn. Cytopathol.**, v. 25, p. 73-7, 2001.
- WOLFSHEIMER, K.J. Obesity. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Text book of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 5.ed., Philadelphia: Saunders. 2000. cap. 19, p.70-72.
- WONG, P.W., ENRIQUEZ, A., BARRERA, R. Nutritional support in critically ill patients with cancer. **Crit. Care Clinic**, v. 17, p. 743-67, 2001.
- YABIKU, R.M. Radicais, rebeldes e livros. **Cães e Gatos**, v. 14, p.24-7, 1999.

- YAMAGAMI, T., KOBAYASHI, T., TAKAHASHI, K., *et al.* Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 58, p. 1079-83, 1996.
- YAMAMOTO, T., ODA, K., MIYAZAKI, K., *et al.* P73 is highly expressed in myoepithelial cells and in carcinomas with metaplasia. **Diagn. Cytopathol.**, v.23, p. 151-5, 2000.
- YOON, D.S., WERTZO, R.P., ZHOU, N., *et al.* Variable levels of chromosomal instability and mitotic spindle checkpoint defects in breast cancer. **Am. J. Pathol.**, v. 161, p. 391-7, 2002.
- YOSHIDA, W.B. Radicais livres na síndrome da isquemia e reperfusão. **Cir. Vasc. Angiol.**, v.12, p.82-95, 1996.
- ZACH, J. Generalidades. In: _____. **Citología práctica para internistas**. Barcelona: Salvat, 1972, p.1-5.
- ZAKHOUR, H., WELLS, C. The value of fine needle aspiration. In: _____. **Diagnostic cytopathology of the breast**. London: Churchill Livingstone, 1999. p.1-7.
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Upper Saddle River:Prentice-Hall, 1996, 718 p.
- ZEZZA NETO, L. Presença de tecido mixomatoso, cartilágneo e ósseo em adenocarcinomas mamários. In: _____. **Tumores mamários malignos na cadela**. Marília: Arte e Ciência, 1997. p. 67-76.
- ZHANG, S., HUNTER, D.J., FORMAN, M.R., *et al.* Dietary carotenoids, and vitamin A, C, E, and risk of breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 91, p. 547-56, 1999.
- ZUCCARI, D.A.P.C. **Contribuição ao estudo imunoistoquímico dos tumores mamários em cadelas**. Jaboticabal, 1999. 121p. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- ZUCCARI, D.A.P.C., SANTANA, A.E., ROCHA, N.S. Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas – revisão. **Clín. Vet.**, n.32, p. 50-4, 2001.

APÊNDICE

10. APÊNDICE

Apêndice 1 - Características clínico-antropométricas das cadelas de porte grande portadora de câncer mamário.

Animal	Idade	Pelagem	Coloração	Classificação corporal	Peso kg
1	11	Simples	Sólida	Peso ideal	21,7
2	12	Simples	Sólida	Obeso	26,0
3	13,4	Dupla	Mista	Obeso	33,2
4	8	Simples	Sólida	Obeso	29,2
5	11	Dupla	Sólida	Obeso	18,5
6	8	Simples	Sólida	Obeso	22,9
7	10,6	Dupla	Sólida	Obeso	21,0
8	7,1	Simples	Mista	Obeso	20,9
9	8	Dupla	Mista	Obeso	40,5
10	11	Dupla	Mista	Obeso	22,0

Apêndice 2 - Características reprodutivas das cadelas de porte grande portadora de câncer mamário.

Animal	Crias	Castrada	Cios regulares	Pseudo gestação	Contraceptivo	Secreção vaginal	Aborto
1	+	-	+	-	-	-	-
2	-	-	+	+	-	-	-
3	+	-	+	-	-	-	-
4	+	-	+	+	-	-	-
5	+	-	+	-	+	-	+
6	+	-	+	+	-	-	-
7	+	-	+	-	+	-	-
8	+	+	+	+	+	-	-
9	-	+	+	+	-	-	-
10	-	+	+	-	-	-	-

+*- Positivo

- *- Negativo

Apêndice 3 - Classificação das cadelas de porte grande conforme a distribuição e localização da neoplasia mamária.

Animal	Mama direita					Mama esquerda				
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o
1				+	+					+
2	+	+	+	+	+		+			+
3			+	+	+			+	+	
4			+	+					+	+
5			+	+					+	
6					+			+	+	+
7										+
8					+					
9				+					+	+
10					+				+	+

+*- Positivo

Apêndice 4 - Estadiamento clínico das cadelas de porte grande portadora de câncer mamário utilizando os critérios da OMS pelo sistema TNM clínico (EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

Animal	Estadiamento clínico
1	II B
2	IV
3	IIB
4	I
5	IIIB
6	I
7	IIB
8	IIA
9	I
10	IIB

Apêndice 5 - Resultados laboratoriais das cadelas de porte grande portadora de câncer mamário.

Animal	Glicose (mg/dl)	Albumina (g/dl)	Colesterol (mg/dl)
1	85	1,0	109
2	40	2,1	189
3	62	2,1	127
4	91	2,5	90
5	97	2,5	196
6	87	3,0	159
7	63	1,8	271
8	94	2,9	109
9	88	2,6	154
10	114	3,0	106

Apêndice 6 - Resultados bioquímicos das cadelas de porte grande portadora de câncer mamário.

Animal	a -tocoferol (Vit.E) mmol/L	Malondialdeído (MDA) mmol/L
1	19,5	1,0
2	29,2	2,0
3	9,3	6,87
4	12,04	0,81
5	5,55	0,11
6	8,07	2,29
7	9,38	0,74
8	5,37	0,81
9	5,56	0,42
10	10,12	1,86

Apêndice 7 - Características clínico-antropométricas das cadelas de porte médio portadora de câncer mamário.

Animal	Idade	Pelagem	Coloração	Classificação corporal	Peso kg
11	11,6	Simples	Mista	Obeso	11,7
12	10	Simples	Mista	Magro	11,5
13	15	Dupla	Mista	Obeso	18,0
14	6	Simples	Mista	Obeso	10,5
15	9	Simples	Mista	Ideal	12,0
16	7	Dupla	Mista	Obeso	16,0
17	12	Simples	Mista	Obeso	10,0
18	10	Simples	Sólida	Ideal	-
19	10	Simples	Mista	Obeso	12,0
20	10,4	Simples	Mista	Obeso	10,2

Apêndice 8 - Características reprodutivas das cadelas de porte médio portadora de câncer mamário.

Animal	Crias	Castrada	Cios regulares	Pseudo gestação	Contraceptivo	Secreção vaginal	Aborto
11	-*	+	+	-	-	-	-
12	+	-	+	-	+	-	-
13	+	-	+	-	+	-	+
14	+	-	-	-	+	-	-
15	-	-	+	-	+	-	-
16	+	-	+	+	-	-	-
17	+	-	-	+	-	-	-
18	-	-	+	-	-	-	-
19	+	-	+	-	+	-	-
20	-	-	+	+	-	-	-

+*- Positivo

-*- Negativo

Apêndice 9 - Classificação das cadelas de porte médio conforme a distribuição e localização da neoplasia mamária.

Animal	Mama direita					Mama esquerda				
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o
11		+	+	+	+			+	+	+
12				+	+			+	+	+
13		+	+	+	+		+	+	+	+
14	+			+	+				+	+
15		+	+	+	+		+	+	+	+
16		+	+							
17					+	+	+	+		+
18			+		+					
19			+	+				+	+	
20										+

+*- Positivo

Apêndice 10 - Estadiamento clínico das cadelas de porte médio portadora de câncer mamário utilizando os critérios da OMS pelo sistema TNM clínico (EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

Animal	Estadiamento clínico
11	IIIB
12	IV
13	IIIA
14	IIB
15	IIIB
16	I
17	IV
18	IIIB
19	IV
20	I

Apêndice 11 - Resultados laboratoriais das cadelas de porte médio portadoras de câncer mamário.

Animal	Glicose (mg/dl)	Albumina (g/dl)	Colesterol (mg/dl)
11	64	3,1	236
12	64	1,7	109
13	100	2,6	184
14	96	2,4	105
15	132	2,9	286
16	67	2,7	238
17	22	2,0	221
18	133	2,6	213
19	100	2,9	260
20	114	3,3	286

Apêndice 12 - Resultados bioquímicos das cadelas de porte médio portadora de câncer mamário.

Animal	a -tocoferol (Vit. E) mmol/L	Malondialdeído (MDA) mmol/L
11	14,2	1,87
12	23,76	3,2
13	12,13	2,47
14	8,03	0,12
15	5,31	0,14
16	15,15	0,46
17	3,6	1,91
18	27,42	0,20
19	12,4	0,77
20	22,02	7,96

Apêndice 13 - Características clínico-antropométricas das cadelas de porte pequeno portadora de câncer mamário.

Animal	Idade	Pelagem	Coloração	Classificação corporal	Peso kg
21	6	Simples	Mista	Obeso	8,7
22	8	Simples	Mista	Obeso	7,0
23	5	Simples	Mista	Obeso	10,0
24	8	Simples	Sólida	Obeso	10,5
25	8	Simples	Sólida	Obeso	12,0
26	16	Simples	Mista	Ideal	-
27	10	Simples	Mista	Obeso	3,3
28	9	Simples	Mista	Obeso	7,0
29	12	Simples	Mista	Obeso	12,0
30	8	Simples	Mista	Obeso	8,0

Apêndice 14 - Características reprodutivas das cadelas de porte pequeno portadora de câncer mamário.

Animal	Crias	Castrada	Cios Regulares	Pseudo Gestação	Contraceptivo	Secreção vaginal	Aborto
21	-*	+	+	+	-	-	-
22	-	-	+	+	-	-	-
23	-	-	+	+	-	-	-
24	-	+	+	+	-	-	-
25	+	-	+	-	-	+	+
26	-	-	+	+	-	-	-
27	-	-	+	-	-	-	-
28	-	-	+	-	+	-	-
29	+	-	+	-	-	+	-
30	-	-	+	+	-	-	-

+*- Positivo

-*- Negativo

Apêndice 15 - Classificação das cadelas de porte pequeno conforme a distribuição e localização da neoplasia mamária.

Animal	Mama direita					Mama esquerda				
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o
21					+					
22		+					+			
23		+		+	+				+	
24										+
25				+			+			+
26		+							+	+
27	+									
28		+	+	+	+			+	+	+
29	+	+		+	+		+		+	
30			+	+	+					

+*- Positivo

Apêndice 16 - Estadiamento clínico das cadelas de porte pequeno portadora de câncer mamário utilizando os critérios da OMS pelo sistema TNM clínico (EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

Animal	Estadiamento clínico
21	I
22	IIIB
23	IIIB
24	I
25	IIA
26	IV
27	I
28	IIIB
29	IIB
30	IIB

Apêndice 17 - Resultados laboratoriais das cadelas de porte pequeno portadora de câncer mamário.

Animal	Glicose (mg/dl)	Albumina (g/dl)	Colesterol (mg/dl)
21	66	3,2	181
22	98	2,9	198
23	92	2,0	133
24	78	2,7	73
25	84	1,9	90
26	73	3,3	188
27	88	2,8	134
28	123	2,9	139
29	104	2,7	249
30	112	3,0	305

Apêndice 18- Resultados bioquímicos das cadelas de porte pequeno portadora de câncer mamário.

Animal	a -tocoferol (Vit. E) mmol/l	Malondialdeído (MDA) mmol/l
21	21,34	0,17
22	20,2	2,08
23	15,4	0,41
24	6,70	0,14
25	6,20	0,52
26	10,8	1,11
27	25,70	0,25
28	11,8	5,78
29	17,8	2,14
30	7,87	1,62

Apêndice 19 - Diagnóstico citopatológico nas cadelas de porte grande.

Animal	Ca*	Tumor complexo	Ca + tumor complexo
1	-	-	+
2	-	-	+
3	-	-	+
4	-*	-	+
5	+	-	-
6	+	-	-
7	-	+	-
8	+	-	-
9	+	-	-
10	-	-	+

Ca*- Carcinoma mamário

+*- Positivo

-*- Negativo

Apêndice 20 - Diagnóstico citopatológico nas cadelas de porte médio.

Animal	Ca* mamário	Tumor complexo	Ca + tumor complexo
11	-	-*	+
12	-	+	-
13	-	-	+
14	-	-	+
15	+	-	-
16	-	-	+
17	-	-	+
18	+	-	-
19	+	-	-
20	+	-	-

Ca*- Carcinoma mamário

+*- Positivo

-*- Negativo

Apêndice 21 - Diagnóstico citopatológico nas cadelas de porte pequeno.

Animal	Ca* mamário	Tumor complexo	Ca + tumor complexo
21	+	-	-
22	+	-	-
23	-	+	-
24	+	-	-
25	+	-	-
26	+	-	-
27	+	-	-
28	+	-	-
29	-	+	-
30	+	-	-

Ca*- Carcinoma mamário

+- Positivo

-*- Negativo