

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

ALESSANDRE HATAKA

**CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA E HISTOPATOLOGIA:
VALOR E SIGNIFICADO PARA O DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO
DO CÂNCER DE MAMA EM CADELAS**

TESE DE DOUTORADO

**BOTUCATU - SP
2004**

ALESSANDRE HATAKA

CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA E HISTOPATOLOGIA: VALOR E SIGNIFICADO PARA O DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE MAMA EM CADELAS

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia,
Universidade Estadual Paulista “Julio
de Mesquita Filho” – UNESP, Campus
de Botucatu, para obtenção do Título
de Doutor em Medicina Veterinária,
área de Clínica Veterinária.**

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Noeme Sousa Rocha

**BOTUCATU – SP
2004**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Hataka, Alexandre.

Citologia aspirativa com agulha fina e histopatologia : valor e significado para o diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cadelas / Alexandre Hataka. – 2004.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2004.

Orientadora: Noeme Sousa Rocha

Assunto CAPES: 50500007

1. Câncer em cão - Diagnóstico - Prognóstico

CDD 636.0896993

Palavras-chave: Câncer de mama; Citopatologia: Diagnóstico; Histopatologia; TMN; Prognóstico

**À minha esposa Katy, mais que
companheira, o amor da minha vida.**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Ass. Dra. Noeme Sousa Rocha; mais que orientadora amiga e exemplo de profissionalismo.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu

À Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Marília – UNIMAR

Ao Profs. Drs. Helmuth Kieckhöfer, Celso Sanches Bracciali, Vincenzo de Palma, Fabio Fernando Ribeiro Manhoso, que possibilitaram a realização desta tese.

Ao Prof. Milton Alves Junior, companheiro de trabalho e pós-graduação.

Profa. Dra. Eliane Souto de Abreu da Faculdade de Medicina – UNESP – Botucatu, pela paciência e ensinamentos.

Prof. Dr. Sebastião Marcos Ribeiro de Carvalho, pela realização da análise estatística.

Profa. Dra. Cláudia Sampaio Fonseca Repette, pela colaboração no envio das mamás.

Às médicas veterinárias Camila Dias Porto, Marcela Marcondes Pinto Rodrigues, que auxiliaram na colheita e processamento do material.

Às acadêmicas Marília Morillo Marques, Silvia Letícia Bento Razera, Daniela de Oliveira, pelo auxílio no processamento do material.

Ao técnico Cirilo Francisco dos Santos Neto do laboratório de histologia da UNIMAR, pelo processamento das lâminas.

A todos aqueles que colaboraram de forma direta ou indireta na realização da tese.

HATAKA, A. Citologia aspirativa com agulha fina e histopatologia: valor e significado para o diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cadelas. Botucatu, 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Os tumores de mama representam 50% de todas as neoplasias que acometem as cadelas, com frequência de duas a três vezes maior que a observada na mulher. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar as neoplasias mamárias malignas das cadelas pela citologia aspirativa e histopatologia, para o estagiamento dos tumores e prognóstico dos pacientes. Os cânceres de mama de 32 cadelas foram diagnosticados pela citologia aspirativa e histopatologia. Também foram realizadas colheita de dados epidemiológicos, classificação TNM e análise de sobrevida. Além disso, os resultados obtidos foram comparados com a literatura humana. Foram diagnosticados pela citopatologia e histopatologia; carcinoma complexo (15,63%); carcinoma sólido (15,63%); carcinoma epidermóide (9,37%), fibrossarcoma (9,37%), carcinomas papilares (15,62%), carcinoma de células fusiformes (6,25%), melanoma (6,25%), carcinoma anaplásico (6,25%); carcinossarcoma (3,13%) e carcinoma neuroendócrino (3,13%). A idade e o peso médio foram 9,5 anos e 13,8 kg respectivamente, predominaram os animais sem raça definida, de médio e pequeno porte, com dieta de comida caseira e ração e sem alterações reprodutivas. A classificação TNM revelou a maior parte da amostra como dos estágios III (43,75%) e IV (28,13%). A análise de sobrevida indicou tempo médio de 7,5 meses para o grupo IV e 25 meses para o II. As taxas de sobrevivência para os grupos II, III e IV aos 35 meses foram 67%, 50% e 11% respectivamente. A comparação com dados humanos revela haver correlação entre a morfologia e o comportamento biológico de alguns cânceres. A associação das técnicas diagnósticas utilizadas neste trabalho constituiu fator prognóstico efetivo para cadelas com câncer de mama.

Palavras-chave: Câncer de mama; citopatologia: diagnóstico; histopatologia; TMN; prognóstico.

HATAKA, A. Prognostic value and meaning to diagnosis of fine-needle aspiration and histopathology in female dog mammary cancer. Botucatu, 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Mammary gland tumors comprise 50% of all neoplasms in female dog which occur three times greater than the level reported in women. Tumor staging and patient prognosis with cytopathologic and histopathologic diagnostic of female dog breast cancer were the aims of this paper. 32 malignant breast tumors were both fine-needle aspiration and histopathologically diagnosed. Moreover, the TNM system was applied and epidemiological data was compiled. Human breast tumor information was compared with our results. Complex carcinoma (15.63%), solid carcinoma (15.63%), squamous cell carcinoma (9.37%), fibrosarcoma (9.37%), papillary carcinoma (15.62%), spindle cell carcinoma (6.25%), malignant melanoma (6.25%), anaplastic carcinoma (6.25%), carcinosarcoma (3.13%) and neuroendocrine carcinoma (3.13%) were all diagnosed by cytological and histopathological exams. 9.5 years and 13.8 kg were respectively the average age and weight. The predominant status of the bitches was of small and medium size animals, mongrel breed, fed with pet food and other kinds of food and with normal reproductive functions. The TNM system showed that the major part of the females was in stages III (43.75%) and IV (28.13%). The mean time of survival were 7.5 months to stage IV and 25 months to stage II. The survival rate to stages II, III and IV at 35 months were 67%, 50% and 11% respectively. The results compared to human breast data reveal similar biological behavior and morphology to some tumors in both species. In conclusion effective prognostic factors to breast cancer in female dog were established by the association of the diagnostic techniques used.

Key words: Breast cancer; cytopathology; diagnosis; histopathology; TMN; prognostic.

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
REVISÃO DA LITERATURA	1
Embriologia da Mama da Cadela	1
Anatomia e Histologia da Mama de Cadela	1
Citologia da Mama	4
Histopatologia da Mama	6
Neoplasia mamária	9
Hormônio e Câncer de Mama	10
Obesidade e Câncer de Mama	11
Prognóstico do Câncer de Mama	12
OBJETIVOS	18
MATERIAL E MÉTODO	19
Animais	19
Exame Citopatológico	21
Protocolo para a CAAF das neoplasias mamárias	21
Procedimento da CAAF	21
Classificação Citopatológica dos Tumores Mamários	25
Exame Histopatológico	26
Estagiamento do Câncer de Mama	29
Avaliação histoquímica dos tumores	30
Acompanhamento pós-cirúrgico dos animais	31
FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	32
RESULTADOS	33
Classificação Citológica e Histopatológica das Neoplasias	33
Histoquímica	46
Dados Epidemiológicos dos Cânceres Mamários	52
Estagiamento do Câncer Mamário	55
Análise de Sobrevida dos Animais	57
Tempo de sobrevida	57
Complemento do tempo de sobrevida dos animais com neoplasias malignas	59
Risco acumulado de morte	61
DISCUSSÃO	63
CONCLUSÕES	68
PERSPECTIVAS	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	78
APÊNDICE	83

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Embriologia da Mama da Cadela

No cão as mamas derivam do ectoderma a partir de espessamentos lineares paramedianos denominados cristas mamárias, que se estendem desde a região axilar até a inguinal, sendo evidente por volta do 25^o dia de gestação, quando o embrião tem 14 mm de comprimento. No 30^o 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, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

A mama é a associação de brotos iniciais com o seu próprio ducto. A proliferação do mesênquima que rodeia o broto epitelial eleva várias papilas na superfície corpórea. No final da vida intra-uterina, as projeções epiteliais canalizam-se, formando os ductos lactíferos, ao passo que os brotos originam os ductos pequenos, os alvéolos secretores e as células mioepiteliais. Cada orifício na superfície do mamilo dará origem a um sistema glandular único. Em vista disso, a formação das mamas não é simétrica e ocorrem números desiguais de glândulas (REHMAN, 1978; GARCIA *et al.*, 1991; EVANS, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

1.2. Anatomia e Histologia da Mama de Cadela

Nos cães, as mamas são tipicamente dispostas em alinhamento bilateral que se estendem desde a região torácica ventral à inguinal. Os mamilos indicam a posição das glândulas nos machos e nas fêmeas.

O número de glândulas varia de oito a 12, distribuídas da seguinte forma: quatro torácicas de tamanho menor, quatro abdominais de tamanho médio e duas inguinais ou púbicas de maior tamanho (Figura 1) (GETTY, 1986; EVANS, 1993; PARK & JACOBSON, 1996; DYCE *et al.*, 1996).

A mama é uma glândula sudorípara modificada, túbulo-alveolar composta. Consiste de alvéolos que são o componente epitelial glandular funcional

responsáveis pelo produto de secreção, e de um estroma (BANKS, 1991; BURKITT *et al.*, 1994; SILVERMAN, 1996).

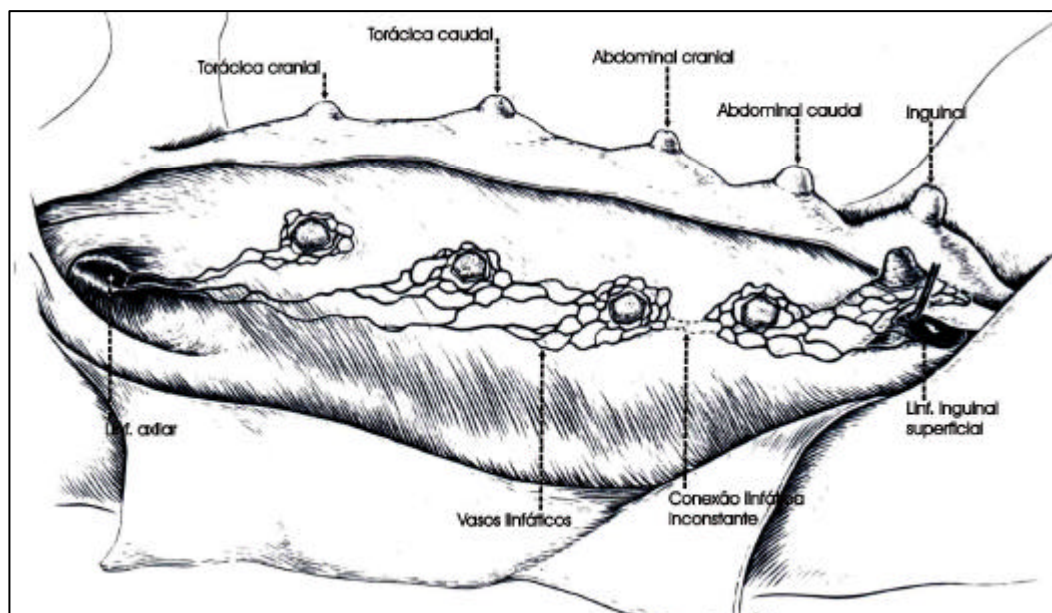


Figura 1. Anatomia topográfica das mamas do cão. Modificado de EVANS (1993).

O agrupamento de alvéolos forma o lóbulo. Células contráteis de natureza mioepitelial envolvem os alvéolos e ductos e estão relacionadas com o reflexo de ejeção do leite (Figura 2) (BANKS, 1991; BURKITT *et al.*, 1994; SILVERMAN, 1996; PARK & JACOBSON, 1996).

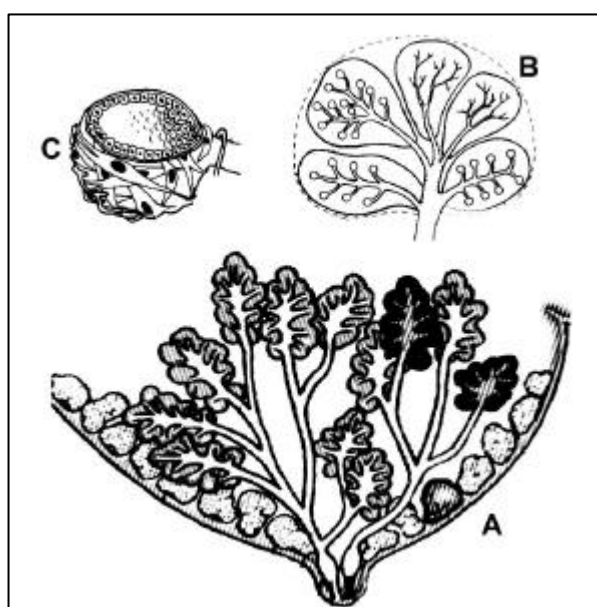


Figura 2. Mama: A) Estrutura da glândula; B) Lóbulos; C) alvéolo.

A secreção glandular percorre o trajeto ducto intralobular, que é a continuação do alvéolo, ductos lobulares que drenam os lóbulos, ductos intralobares, que ainda estão dentro dos lobos, ductos lobares que drenam a secreção dos lobos, estes terminam no ducto lactífero, que por sua vez libera as secreções para o seio da glândula, daí para o seio da mama, canal da mama e orifício externo (BANKS, 1991; BURKITT *et al.*, 1994; DYCE *et al.*, 1996).

O tecido glandular secretor está presente na gestação, lactação e por até 40 a 50 dias pós desmame, além disso, pode estar presente em doenças, a exemplo da pseudogestação. Afora, os alvéolos e os lóbulos são limitados a um sistema reduzido de ductos e alguns lóbulos restantes. Desse modo, a mama possui elevada quantidade de parênquima e discreto estroma durante a lactação (BANKS, 1991; EVANS, 1993; BURKITT *et al.*, 1994).

O estroma varia conforme a posição na glândula, o conjuntivo intralobular fibroso é escasso e as células mioepiteliais estão presentes associadas aos adenômeros. O interlobular e o interlobar possuem maior quantidade de fibras musculares lisas e de fibras elásticas, especialmente ao redor dos grandes ductos (BANKS, 1991; BURKITT *et al.*, 1994).

Cada ducto papilar ou canal da mama ocupa aproximadamente um terço do mamilo, sendo revestido por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. O epitélio geralmente dispõe-se em dobras, próximo à margem da extremidade do seio. O da mama estende-se do canal para o centro do parênquima da glândula. O epitélio do canal se altera gradualmente até a cisterna do teto, de pavimentoso estratificado a cúbico (EVANS, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

Na porção média da mama há entremeado de fibras musculares lisas e tecido conjuntivo disposto de forma aleatória. A musculatura circular irradia-se a partir do eixo da zona central para o centro entre os canais. A musculatura circunda os canais e se une ou se condensa nos esfíncteres dos canais. Fibras elásticas irradiam-se entre os canais da mama formando extensas redes. Essencialmente, a túnica própria é composta por faixas de tecido conjuntivo frouxo, vasos sangüíneos, musculatura lisa e fibras elásticas.

Cada seio glandular é separado dos vizinhos por septos de tecido conjuntivo e possuem área glandular distinta composta em grande parte de diminutos alvéolos (EVANS, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

A pele que reveste a mama varia em espessura, por vezes pigmentada com regiões glabras ou com pêlos. Constituída de elastina, fibras musculares lisas, vasos sanguíneos, melanócitos, glândulas sebáceas entre outras estruturas (EVANS, 1993).

O número de orifícios sobre a superfície externa do mamilo varia de sete a 22, nos cães. Desse modo, cada orifício possui sistema de ductos independentes associado a cada adenômero glandular (GETTY, 1986; BANKS, 1991; EVANS, 1993; DYCE *et al.*, 1996).

1.3. Citologia da Mama

As informações a seguir foram obtidas a partir da citologia da mama da mulher, visto que, nenhum relato sobre os padrões citológicos na cadela foi encontrado na literatura científica (McKEE, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

A avaliação citológica da mama requer o conhecimento prévio da histologia, porque a partir desse entendimento é possível diagnosticar uma neoplasia (McKEE, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Em um aspirado, as células ductais normais formam discretos folhetos de células coesas, com pouco citoplasma e núcleos uniformes circulares a ovóides, cada um com o tamanho aproximado de um eritrócito. Os limites nucleares são lisos e o padrão de cromatina é vesicular, com trama delicada reticular, melhor visualizada com fixação úmida e coloração Papanicolaou (McKEE, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Os lóbulos são freqüentemente aspirados intactos, e retêm sua estrutura tridimensional. Esse firme grupo de células epiteliais contém núcleos pequenos e escasso citoplasma e, como os ductos estão envoltos por camadas de células mioepiteliais de suporte que podem ser observadas isoladas ao fundo com formas alongadas e fusiformes (McKEE, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Fragmentos de tecido conjuntivo do estroma são comuns nos aspirados e variam de tamanho. Coram-se fracamente e possuem discretos núcleos fusiformes.

Capilares são ocasionalmente observados dentro dos fragmentos de estroma. Agrupamentos de adipócitos são comumente vistos, sendo as células volumosas e claras com núcleo inconspícuo. Existe grande quantidade de glândulas sebáceas na derme, por baixo da aréola, porém são raramente verificadas nos

aspirados. Quando presente, as células contêm pequeno núcleo com citoplasma abundante, finamente vacuolizado (McKEE, 1997; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Os exames citopatológicos podem ser divididos em três grandes grupos: o esfoliativo, o abrasivo e o aspirativo. A citologia esfoliativa consiste no estudo de células que são removidas ou descamam naturalmente de uma superfície. Compreende a citologia cérvico-vaginal, de líquidos de derrames cavitários, escarro, lavado brônquico e do trato gastrointestinal e urina (FONSECA, 1999; EHYA, 2002).

O exame abrasivo pode ser empregado em peças de necropsia, cirúrgicas ou lesões externas em animais vivos, as células são obtidas por meio da abrasão de lâmina de bisturi, espátula ou similar com o tecido a ser avaliado. Este método tem a vantagem de colher grande quantidade de células, sendo utilizado quando a lesão for firme e gere poucas células (COWELL *et al.*, 1999).

A citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) é uma adaptação da citologia esfoliativa, preconizada por Papanicolaou na metade do século XIX. Esta modificação aconteceu nos Estados Unidos, na década de 60. Portanto, não é um procedimento novo, e nos últimos anos tem sido amplamente utilizada por profissionais médico e médico veterinário, com significativa melhoria na preparação e interpretação do material aspirado de várias lesões, inclusive das neoplasias de mama (ROCHA, 1998a; ZUCCARI, 1999; BURINI, 2002; CUSTÓDIO *et al.*, 2003).

As técnicas de diagnóstico por imagem facilitam o alcance da citologia aspirativa para órgãos internos (LARKIN, 1994; DAWSON *et al.*, 1998; KLIJANIENKO *et al.*, 1998; EHYA, 2002).

As vantagens para o procedimento são: diagnóstico rápido e preciso, baixo custo, excelente aceitação por parte do paciente, pode ser realizada no ambulatório, não requer anestesia, faz a diferenciação entre tumores císticos e sólidos, avaliação da parede local no caso de recorrência, morbidade mínima ou inexistente e auxilia estudos (LARKIN, 1994; SILVERMAN, 1996; ROCHA, 1998b; ROCHA, 1998a; CASSALI *et al.*, 1998; MAGALHÃES, 1998; MOTA & OLIVEIRA, 1999, THRALL, 2000; McKEE *et al.*, 2001).

A técnica está bem estabelecida como método de obtenção de células e esfregaços para o diagnóstico das lesões de mama na mulher. Considerado um exame diagnóstico pré-operatório, capaz de reduzir a ansiedade do paciente e quando associada a mamografia e ao exame clínico se torna sensível o bastante para realizar um programa de detecção de câncer com baixos custos e com menor

índice de subdiagnósticos (ARISIO *et al.*, 1998). Vários estudos foram realizados a fim de se determinar a sensibilidade, a especificidade e a eficiência (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, McKEE *et al.*, 2001, YOUNG *et al.*, 2002). A média dos resultados obtidos para a sensibilidade, a especificidade e a eficiência foram 84,0%, 97% e 92,6% respectivamente, demonstrando ser um método diagnóstico efetivo para o diagnóstico do câncer de mama.

1.4. Histopatologia da mama

O exame histopatológico é o método de eleição para identificar as características de uma neoplasia (LIMA & MARTINS, 1992; MOTA & OLIVEIRA, 1999). Fatores prognósticos como o tipo e o grau, necrose tumoral, elastose e invasão vascular são de grande importância para o estudo sobre o comportamento biológico de um tumor e ao mesmo tempo para o prognóstico clínico do paciente (FRANCO, 1997; PHILIBERT *et al.*, 2003).

Na mulher, há muito se procura estabelecer a relação entre os vários tipos histopatológicos das neoplasias malignas da mama e o prognóstico. A distinção entre cada um dos tumores torna-se fundamental quando há necessidade de um maior conhecimento sobre esta enfermidade. Os carcinomas mucinoso, medular e tubular estão entre os de melhor prognóstico, representando cerca de 10% de todos os carcinomas mamários. O carcinoma inflamatório ao contrário, está entre os carcinomas de pior prognóstico, por apresentar como característica histopatológica uma embolização dos linfáticos por células tumorais (FRANCO, 1997).

Quando se analisa a ocorrência das neoplasias mamárias das cadelas se observa que 65% são tumores mistos benignos, 25% são carcinomas e os 10% restantes são hiperplasias, adenomas, tumores mistos malignos e mioepiteliomas. Esses números variam de forma considerável em virtude dos diferentes métodos de classificação dos tumores, especialmente a separação de tumores mistos dos carcinomas (ELSE & HANNANT, 1979; MOULTON, 1990).

A metodologia para se classificar os tumores varia consideravelmente, porém há um consenso geral para as seguintes categorias: adenomas, carcinomas, e tumores mistos benignos e malignos. A variabilidade na classificação ocorre no

uso de outras categorias: os adenomas são confundidos com hiperplasias ou erroneamente diagnosticados como carcinomas; os fibroadenomas têm sido definidos como uma neoplasia separada ou incluída entre os tumores mistos; o termo mioepitelioma tem agora surgido como diagnóstico (MOULTON, 1990; Mac EWEN & WITHROW, 1996).

A Organização Mundial da Saúde, classifica os tumores de mama da cadela em tumores malignos, benignos, não classificados e hiperplasias/ displasias mamárias. As neoplasias malignas são o carcinoma in situ, carcinoma complexo, carcinoma simples com ou subtipos tubulopapilar, sólido e anaplásico; tipos especiais de carcinoma, que agrupam o carcinoma de células fusiformes, o de células escamosas, o mucinoso e o rico em lipídio; sarcomas com o fibrossarcoma, osteossarcoma e outros sarcomas; carcinosarcoma e os carcinomas ou sarcomas em tumor benigno (MISDORP *et al.*, 1999).

Nos tumores benignos estão agrupados os adenomas simples, complexo e basalóide, os fibroadenomas de baixa e alta celularidade, o tumor misto benigno e o papiloma ductal. As hiperplasias/ displasias mamárias na cadela são classificadas como hiperplasia ductal, hiperplasia lobular podendo ser epitelial ou adenose, cistos, ectasia ductal, fibrose local (fibroesclerose) e ginecomastia (MISDORP *et al.*, 1999).

Os tumores de mama, quanto a sua localização, ocorrem em 60% dos casos nas mamas abdominais caudais e inguinais em cadelas. O envolvimento múltiplo das mamas com tumores ocorre em 50% dos casos (MOULTON, 1990).

A histoquímica é utilizada para designar aqueles setores da histologia que permitem a identificação e a localização de compostos químicos específicos nos tecidos e células. Para que o método seja válido é necessário que a reação seja específica e sensível para o composto pesquisado (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

As técnicas histoquímicas de uso rotineiro no diagnóstico de neoplasias de mama na cadela são: Shorr, tricrômico de Masson, Gomori, ácido periódico de Schiff, Von Kossa e azul de toluidina. A coloração de Shorr é uma versão simplificada do Papanicolaou, conferindo os mesmos resultados de detalhe nuclear e citoplasmático. Os componentes basófilos do citoplasma em especial o RNA se coram em tons de verde ou azul, ao passo que os acidófilos ou seja, as proteínas básicas aparecem em vermelho ou rosa (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

O tricrômico de Masson é usado para evidenciar tecido conjuntivo. É útil na evidenciação de pontes intercelulares nos carcinomas espinocelulares pouco diferenciados, distinção entre carcinomas e sarcomas indiferenciados, fibrina no interstício de tecido fibroso, teratomas em geral, sarcomas osteogênicos e condrossarcomas (MICHALANY, 1990).

O método de Gomori é considerado um dos melhores métodos para a impregnação das fibras reticulares em cortes de parafina, as fibras reticulares coram-se em negro. O fundo se cora conforme a coloração de contraste. No exame anatomo-patológico a evidenciação das fibras reticulares têm uso nos casos de tumores de partes moles, sobretudo fibrossarcomas, reticulossarcomas, tumores pouco diferenciados (MICHALANY, 1990).

A reação do ácido periódico de Schiff chama-se PAS, por causa do seu nome de Periodic Acid Schiff, em inglês. Esta técnica é utilizada para a localização precisa de glicogênio e de certas glicoproteínas. Para distinguir o glicogênio das glicoproteínas, usa-se a digestão de cortes em amilase. Assim é que estruturas que perdem a sua coloração em razão da digestão prévia com amilase são consideradas como contendo glicogênio, ao passo que as que não perdem a coloração contém glicoproteínas (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983; MICHALANY, 1990).

O método de Von Kossa se baseia na reação química do nitrato de prata com o fosfato de cálcio, resultando na formação de fosfato de prata que, quando reduzido por revelador fotográfico, forma precipitado negro de prata reduzida, evidenciando assim a presença de fosfato de cálcio no tecido ósseo. Nesta técnica a região óssea calcificada aparece em negro e a não calcificada, tecido osteóide, em vermelho. Os núcleos se coram em azul (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

A técnica de coloração do azul de toluidina na anatomia patológica tem aplicação na pesquisa de mastócitos neoplásicos nos casos dos mastocitomas que ocorrem na derme da glândula mamária. Os núcleos das células são corados em azul e mucopolissacarídeos ácidos e as granulações dos mastócitos em vermelho rubro progressivo e metacromático, isto é, com tons e cores diferentes (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983; MICHALANY, 1990).

O comportamento, a histopatologia, a faixa etária de aparecimento, a presença de receptores para estrógeno e progesterona, os órgãos alvos para metástase, fenótipo antigênico e a morfologia entre o gene BRCA1 são

características semelhantes entre as neoplasias mamárias na mulher e na cadela (ELSE & HANNANT, 1979; CASSALI, 2000; MISDORP, 2002).

1.5. Neoplasia mamária

O aparecimento de um tumor resulta de uma série de fatores diferentes, gerando células que não respondem aos mecanismos naturais de controle. Esse processo da formação de tumor é dividido em etapas distintas, como iniciação, promoção, progressão e manifestação clínica (MacEWEN & WITHROW, 1996; RAW & MORO, 1999; COTRAN *et al.*, 2000).

A hipótese genética do câncer é que a massa tumoral se origine da expansão clonal de uma única célula progenitora que sofreu lesão genética. Esse processo ocorre em virtude da mutação germinal ou somática, ou a introdução de gene alterado por meio de um vírus (RAW & MORO, 1999; COTRAN *et al.*, 2000).

Os oncogenes, ou genes que causam câncer, derivam de proto-oncogenes, isto é, genes que promovem o crescimento e a diferenciação de células normais.

Há três classes de genes normais reguladores: os proto-oncogenes, que promovem o crescimento, os supressores ou antioncogenes e os que regulam a morte celular ou apoptose. Essas classes constituem os principais alvos da lesão genética (MacEWEN & WITHROW, 1996; COTRAN *et al.*, 2000).

A transformação induzida por substâncias químicas metabolizadas no organismo ou no interior de determinadas células produz reagentes que lesam o DNA, como é o caso dos genes mutados BRCA-1, BRCA-2 e p53 nas neoplasias mamárias (RAW & MORO, 1999; HEGG, 2000).

O Bcl-1 é um oncogene que na forma de protooncogene (c-onc) controla a apoptose, quando mutado para *vonc*, perde a propriedade não mais induzindo à morte da célula transformada. Sabe-se que este oncogene está envolvido tanto com o câncer de mama, como em outros cânceres (RAW & MORO, 1999). Os genes de reparo do DNA fazem parte de uma outra classe de genes, os quais restauram o DNA danificado. Qualquer anormalidade nesses genes pode predispor a mutações no genoma e desse modo, à transformação neoplásica (COTRAN *et al.*, 2000).

1.6. Hormônio e Câncer de Mama

O câncer de mama pode ser influenciado por hormônios. A presença de receptores hormonais específicos nos tumores mamários foi demonstrada em vários estudos, porém ainda não são conhecidos os efeitos da terapia hormonal em animais (HAMILTON *et al.*, 1977; MONSON *et al.*, 1977; HAMILTON *et al.*, 1978; INABA *et al.*, 1984; MacEWEN & WITHROW, 1996).

Trabalhos utilizando técnicas de radioimunoensaio em tumores de mama de cadelas constataram que 70% dos tumores benignos e que cerca de 40 a 60% dos malignos possuem receptores para estrógeno ou progesterona. Desse modo, quanto mais maligna a neoplasia menor é a tendência a possuir receptores hormonais (HAMILTON *et al.*, 1977; MONSON *et al.*, 1977; HAMILTON *et al.*, 1978; INABA *et al.*, 1984; PINOTTI, 1991; MacEWEN & WITHROW, 1996). Embora a presença dos receptores tenha sido demonstrada, os níveis séricos dos hormônios 17, β -estradiol e progesterona em cadelas portadoras de neoplasias de mama se apresentaram dentro dos padrões normais, mesmo durante as diferentes fases do ciclo estral (FONSECA, 1999).

O uso de progesterona ou progestinas sintéticas, tais como acetato de clormadinona (CMA) ou acetato de medroxiprogesterona (MPA) induzem em cadelas o desenvolvimento lobuloalveolar total da mama, com hiperplasia dos elementos secretores e mioepiteliais. O estradiol estimula o crescimento ductal (MacEWEN & WITHROW, 1996; BRUUN, 1997).

Cadelas nulíparas ou com pequeno número de partos têm maior incidência de câncer de mama, quando comparadas com animais que tiveram várias crias (STRANDBERG & GOODMAN, 1974).

O risco de aparecimento desse tumor nas cadelas castradas antes do primeiro cio é de 0,05%, 8% após o primeiro e após o segundo o risco aumenta para 26% (SCHNEIDER *et al.*, 1969; MOULTON, 1990; MacEWEN & WITHROW, 1996; MORRIS *et al.*, 1998; BREARLEY, 1999).

Morris *et al.* (1998) estudaram a influência da ovariosalpingohisterectomia em animais portadores de tumores mamários com idade média de nove anos. Os resultados obtidos sugerem que a castração no momento da remoção do tumor não tem efeito significativo na progressão da doença maligna e que uma em cada quatro

cadelas com tumor de mama benigno está sujeita a desenvolver novos nódulos em outras mamas.

1.7. Obesidade e Câncer de Mama

Dieta rica em gordura animal e a obesidade aumentam o risco do aparecimento do câncer de mama no homem e nos roedores. A gordura animal atua muito mais como um promotor do que iniciador da carcinogênese (JOHNSON, 1990; COTRAN *et al.*, 2000). Em cães foi demonstrado que animais magros possuem menor ocorrência de câncer que os obesos. Desse modo, fatores nutricionais podem ter papel no desenvolvimento do tumor de mama (SONNENSCHN, *et al.*, 1991; MacEWEN & WITHROW, 1996; ZUCCARI, 1999).

A obesidade no primeiro ano de vida e ainda um ano antes da realização do diagnóstico tem relação significativa com maior prevalência de displasias e neoplasias de mama nos caninos. A alimentação com comida caseira, com alta ingestão de carne vermelha, especialmente bovina e suína, e baixa ingestão de frango comparadas com o consumo somente de ração também foi relacionada de forma significativa às neoplasias de mama (PEREZ ALENZA, *et al.*, 1998). Outros aspectos como idade avançada ao diagnóstico, crescimento invasivo, com aderência aos tecidos adjacentes, tumores volumosos, ulceração da pele e envolvimento de linfonodos axilares ou inguinais, são parâmetros clínicos associados a menor chance de sobrevivência após a excisão cirúrgica de tumores de mama em cadelas (PEREZ ALENZA, *et al.*, 2000).

Dietas inadequadas têm como conseqüência além do depósito de gordura no tecido subcutâneo, um aumento na conversão dos andrógenos em estrógenos. As dietas hipercalóricas ou hipergordurosas promoveriam o crescimento de bactérias capazes de converter colesterol em estrógenos no intestino grosso (PINOTTI & TEIXEIRA, 2000).

Muitos trabalhos foram conduzidos para avaliar a associação entre ingestão de alimentos ricos em gordura, gordura total e alguns tipos de ácidos graxos com risco de câncer, inclusive o de mama. Contudo, esses achados sugerem que a ligação entre gordura e risco de câncer depende do tipo de gordura consumida, ou até mesmo do total de gordura ingerida (BARTSCH *et al.*, 1999; GREENWALD, 1999; BURINI, 2002).

Os ácidos graxos influenciam diretamente vários passos na carcinogênese por meio de mecanismos que incluem a peroxidação e subsequente lesão do 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 hormônios e fatores de crescimento entre vários outros processos (BARTSCH *et al.*, 1999; GREENWALD, 1999; BURINI, 2002).

1.8. Prognóstico do Câncer de Mama

A prevalência dos tumores mamários considerando-se a raça do animal indica como mais freqüentes a Poodle, Labrador, Setter Inglês, Cocker Spaniel, Setter Irlandês, Retrievers, Pointers, Fox Terrier, Boston Terrier, Yorkshire Terrier, Maltês e Dachshunds (ELSE & HANNANT, 1979; MOULTON, 1990; PELETEIRO, 1994; YAMAGAMI *et al.*, 1996).

MacEwen & Withrow (1996) referem que entre 41 e 53% dos tumores mamários que ocorrem na cadela são considerados malignos.

As neoplasias mamárias são raras em animais com menos de dois anos de idade, porém a incidência começa a aumentar rapidamente a partir dos seis a sete anos de idade, atingindo o máximo ao redor dos 10 anos; 82% dos tumores de mama ocorrem entre oito e 13 anos de idade nos caninos (SCHNEIDER *et al.*, 1969; ELSE & HANNANT, 1979; MOULTON, 1990; MacEWEN & WITHROW, 1996; YAMAGAMI *et al.*, 1996; MISDORP, 2002; FERREIRA & CASSALI, 2003).

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 disseminado para outros órgãos. Esses grupos eram freqüentemente referidos como casos iniciais e avançados (TNM, 1998).

Na espécie humana o estadiamento do câncer tornou-se necessário para se analisar um grupo de pacientes. 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 contribuir com 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 no homem (TNM, 1998).

O sistema TNM trabalha prioritariamente com a classificação por extensão anatômica da doença determinada clínica e histopatologicamente (TNM, 1998) (Tabela 1-5). 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 (cTNM) e a TNM histopatológica (pTNM) (EISENBERG & KOIFMAN, 2000).

A classificação é aplicável somente para carcinomas e deve haver confirmação histológica da doença. A sub-região anatômica de origem deve ser registrada, mas não é considerada na classificação. No caso de tumores múltiplos sincrônicos em uma mama, aquele de maior categoria T deve ser usado para a classificação. Os tumores de mama, bilaterais e sincrônicos, são classificados independentemente, para permitir a divisão dos casos por tipo histológico. Os procedimentos para avaliação das categorias T, N e M são as seguintes:

Categorias T – extensão do tumor primário. No caso da mama deve-se realizar pelo exame físico e pelo diagnóstico por imagem (TNM, 1998).

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 um prognóstico significativamente pior, estando também associados à incidência maior de comprometimento nodal. O tamanho tumoral, junto a outros fatores, particularmente o estado dos linfonodos regionais, pode definir um amplo espectro prognóstico para a orientação sobre o uso de terapia adjuvante (YAMAGAMI *et al.*, 1996; FRANCO, 1997; ABREU & KOIFMAN, 2002).

Categorias N – ausência ou presença e a extensão de metástases em linfonodos regionais. Deve ser determinada por exame físico e diagnóstico por imagem (TNM, 1998).

Este é considerado o mais importante fator prognóstico de câncer de mama. Seu valor reside não apenas na existência ou não de linfonodos acometidos, mas também no número e nível anatômico de acometimento, no tamanho das metástases intranodais e na presença de extensão extranodal. Como a avaliação clínica da axila é de certa forma, pouco apurada, a dissecação axilar e o seu estado

histopatológico ocupam um lugar de destaque em termos prognósticos (YAMAGAMI *et al.*, 1996; FRANCO, 1997).

Na mulher, estudos demonstram relação inversa entre as taxas de sobrevivência e o número de linfonodos axilares acometidos. Os índices de recidiva em 10 anos são de cerca de 75% para pacientes com metástases axilares comparados aos 20 e 25% para pacientes axilas negativas (FRANCO, 1997).

O tamanho da metástase dentro do linfonodo merece também uma atenção especial. A sobrevivência em oito anos cai de 59% em pacientes com micrometástases para 29% em pacientes com envolvimento macroscópico (FRANCO, 1997).

Os linfonodos regionais da cadela são: o cervical superficial, esternal, axilar, axilar acessório e o inguinal superficial. Os linfonodos são classificados dependendo da localização anatômica na mama (GETTY, 1986).

Categorias **M** – ausência ou presença de metástase. Deve ser avaliada por meio de exame físico e diagnóstico por imagem (TNM, 1998).

Sub-regiões Anatômicas: mamilo, porção central, quadrante proximal medial, quadrante distal medial, quadrante proximal lateral, quadrante distal lateral e prolongamento axilar. Qualquer outra metástase em linfonodo é classificada como metástase à distância (M1) (TNM, 1998).

Tabela 1. Classificação clínica TNM - Tumor primário – T

TX	Impossibilidade de avaliação do tumor
T0	Sem evidências de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : carcinoma intraductal ou lobular <i>in situ</i> , ou doença de Paget do mamilo sem tumor
T1	Tumor menor ou igual a dois centímetros T1mic - Microinvasão de 0,1 cm ou menos em sua maior dimensão
T2	Tumor maior que dois centímetros até cinco centímetros
T3	Tumor maior que cinco centímetros
T4	Tumor de qualquer tamanho com extensão direta ao tórax, abdômen ou pele
T4a	Extensão ao tórax ou abdômen
T4b	Edema ou ulceração da pele da mama ou nódulos cutâneos satélites contíguos
T4c	Soma de T4a e T4b
T4d	Carcinoma inflamatório

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

Microinvasão é a extensão de células cancerosas além da membrana basal, alcançando os tecidos adjacentes, sem focos tumorais maiores do que 0,1cm em sua maior dimensão. Quando há focos múltiplos de microinvasão, somente o diâmetro do maior foco é utilizado para classificar a microinvasão. Não deve ser usada a soma dos focos individuais. A presença de múltiplos focos de microinvasão deve ser anotada como se faz com os múltiplos carcinomas invasores (TNM, 1998).

O carcinoma inflamatório de mama é caracterizado por um enrijecimento difuso e intenso da pele com borda erisipelóide, geralmente sem massa subjacente. Se a biópsia de pele for negativa e não existir tumor primário localizado mensurável, um carcinoma clinicamente inflamatório (cT4d) é classificado patologicamente como pTX. A retração da pele, do mamilo ou outras alterações cutâneas, exceto aquelas incluídas em T4b e T4d, podem ocorrer em T1, T2 ou T3, sem alterar a classificação (TNM, 1998).

Tabela 2. Classificação clínica TNM – Linfonodos Regionais – N

NX	Linfonodos regionais não avaliados
N0	Ausência de metástases
N1	Metástases para linfonodos homolaterais móveis
N2	Metástases para linfonodos ipsilaterais fixos

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

Tabela 3. Classificação clínica TNM – Metástase – M

MX	Não avaliada
M0	Ausência de metástases
M1	Metástase (incluir metástase em linfonodos regionais)

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

A classificação histopatológica requer o exame do carcinoma primário sem tumor macroscópico nas margens de ressecção. Um caso pode ser classificado como pT se houver somente tumor microscópico em uma margem. As categorias pT correspondem às categorias T. Ao se classificar a categoria pT, o tamanho do tumor é a medida do componente invasivo. Se há um grande componente *in situ* (por exemplo 4 cm) e um pequeno componente invasor (por exemplo 0,5 cm), o tumor é codificado como pT1. A classificação histopatológica requer a ressecção e o exame dos linfonodos regionais (TNM, 1998).

Tabela 4. Classificação patológica TNM – Linfonodos Regionais – pN

pNX	Linfonodos regionais não avaliados
pN0	Ausência de metástases
pN1	Metástases para linfonodos homolaterais móveis
pN1a	Somente micro-metástases (até 0,2 cm)
pN1b	Metástases maiores de 0,2 cm
pN2	Metástases para linfonodos ipsilaterais fixos

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

As categorias pM correspondem às categorias M.

Tabela 5. Classificação clínica TNM – Metástase – pM

pMX	Não avaliada
pM0	Ausência de metástases
pM1	Metástase (incluir metástase em linfonodos regionais)

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

Graduação Histopatológica

O grau reflete a semelhança das células do tumor ao do tecido original. Esta avaliação pode ser feita pelo grau celular geral ou pelo grau nuclear. A classificação geral ou celular leva em conta o grau de neoformação tubular, o pleomorfismo nuclear e a quantidade de figuras de mitoses. A classificação de grau I a IV é proporcional a indiferenciação do tumor, refletindo assim uma crescente piora no prognóstico. O grau nuclear é baseado na aparência do núcleo, não levando em consideração o padrão de crescimento do tumor. Aparentemente quanto mais indiferenciado o tumor maior será a resposta à quimioterapia e menor o conteúdo de receptores hormonais. A avaliação quando feita por patologista experiente, se mostra um método auxiliar de grande valor em doença mamária (YAMAGAMI *et al.*, 1996; FRANCO, 1997)

Na mulher, a mortalidade em cinco anos no estágio I é de 15%, chegando a 90% nos casos estagiados como IV (PINOTTI & TEIXEIRA, 2000).

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 da neoplasia é pior na presença de necrose (FRANCO, 1997).

Quando encontrada em grande quantidade a elastose sugere uma forma extrema de diferenciação tecidual, associada geralmente a um bom prognóstico.

Parece existir também uma relação entre esse tipo de achado com tumores bem diferenciados e ricos em receptores estrogênicos (FRANCO, 1997).

A invasão dos vasos sanguíneos ou linfáticos por células tumorais é a evidência de disseminação. A presença de células malignas nos vasos linfáticos tem importância no prognóstico, mesmo nos casos de axila negativa (YAMAGAMI *et al.*, 1996; FRANCO, 1997)

Tabela 6. Graduação histopatológica

GX	O grau de diferenciação não pode ser avaliado
G1	Bem diferenciado
G2	Moderadamente diferenciado
G3	Pouco diferenciado
G4	Indiferenciado

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

Grupamento por Estagiamento

Tabela 7. Estagiamento das neoplasias mamárias em cadelas.

Estágios	TNM
Estágio 0	Tis, N0, M0
Estágio I	T1 ¹ , N0, M0
Estágio II	
Estágio IIA	T0, N1, M0 T1 ¹ , N1*, M0 T2, N0, M0
Estágio IIB	T2, N1, M0 T3, N0, M0
Estágio III	
Estágio IIIA	T0, N2, M0 T1 ¹ , N2, M0 T2, N2, M0 T3, N1, N2, M0
Estágio IIIB	T4, qualquer N, M0 Qualquer T, N2, M0
Estágio IV	Qualquer T, qualquer N, M1

¹ T1 inclui o T1mic

* O prognóstico de pacientes com pN1a é semelhante ao de pN0.

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais

O presente trabalho tem como escopo diagnosticar as neoplasias mamárias malignas das cadelas por meio das técnicas citopatológica e histopatológica, realizar o estadiamento dos tumores e correlacionar com o prognóstico do paciente.

2.2. Específicos

Utilizar a classificação TNM nas neoplasias de mama malignas da cadela para o estadiamento clínico do paciente.

Correlacionar a classificação histopatológica dos tumores de mama da mulher e da cadela.

Caracterizar estruturalmente os cânceres de mama na cadela por meio de técnicas histoquímicas.

Verificar aspectos epidemiológicos do câncer de mama na cadela na região de Marília - SP.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Animais:

Foram utilizadas 128 cadelas, portadoras de alterações tumorais nas glândulas mamárias, provenientes da rotina do Hospital Veterinário Dr. Vicente Borelli da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade de Marília - UNIMAR – Marília – SP, durante os anos de 1999 a 2003 (Figura 3).

Os critérios para inclusão de animais no estudo foram: preenchimento completo do protocolo para CAAF de mama em cadelas (Anexo 1), diagnóstico citopatológico positivo para neoplasia maligna em mama, realização da cirurgia, encaminhamento da peça cirúrgica ao Setor de Patologia Animal, obtenção do diagnóstico anatomo-patológico e acompanhamento pós-cirúrgico periódico do paciente.

Dos 128 animais foram excluídos 96 por não obedecer os critérios acima, portanto, o presente estudo foi realizado utilizando-se 32 cadelas portadoras de neoplasias malignas de mama.

O resultado positivo para câncer de mama foi dado a partir dos diagnósticos obtidos dos exames cito e histopatológico, e o “padrão ouro” de análise foi o exame anatomo-patológico (VASSALO, 2003).



Figura 3. Cadela portadora de neoplasia em mama torácica cranial direita.

A classificação do porte físico dos animais obedeceu as normas do manual da Confederação do Brasil Kennel Clube, no qual o porte é obtido a partir medida da altura entre o solo e a cernelha, com o animal em posição, apoiado sobre os quatro membros. Animais com até 35 cm foram classificados como de pequeno porte, de 36 a 46 cm médio porte e acima de 46 cm de porte grande (CBKC, 1987).

A condição corporal foi avaliada segundo os critérios da Hill's (1999) pela visualização do estado geral do animal durante o exame físico. As cadelas foram classificadas como magras, normais e obesas. O animal magro tinha as costelas facilmente palpáveis, sem cobertura de tecido adiposo, ossos proeminentes na base da cauda, gordura entre pele e ossos mínima ou ausente. Curvatura do abdômen acentuada e silhueta da cintura acentuadas em vista latero-lateral e dorso-ventral respectivamente (Figura 4).

Cadelas normais possuíam costelas facilmente palpáveis, com pouca cobertura de gordura, base da cauda com contorno suave e ossos palpáveis com fina camada de tecido adiposo. Curvatura o abdômen e silhueta da cintura, proporcionais em vista latero-lateral e dorso-ventral respectivamente (HILL'S, 1999).

As obesas tinham costelas e base da cauda dificilmente palpáveis, com moderada ou espessa cobertura de gordura. Base da cauda ligeiramente abaulada ou abaulada. Em vista latero-lateral o tecido adiposo sobressaía o abdômen e não havia curvatura abdominal ou cintura. Porção traseira alargada de forma leve ou marcante em visão dorso-ventral (HILL'S, 1999).

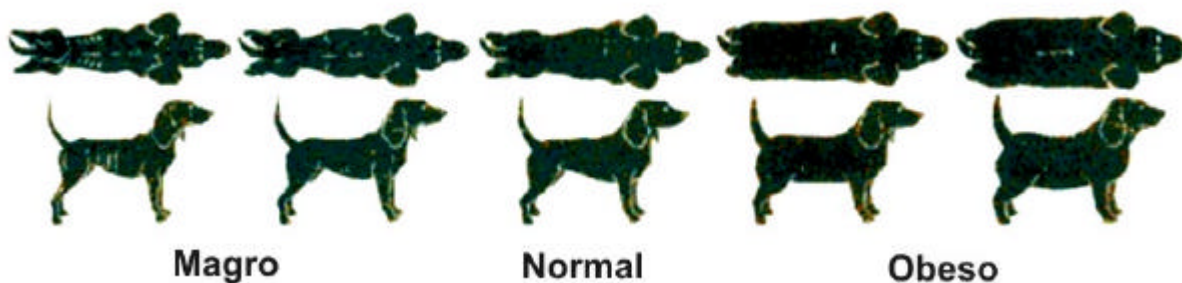


Figura 4. Classificação da condição corpórea dos caninos (HILL'S, 1999).

3.2. Exame Citopatológico

3.2.1. Protocolo para a CAAF das neoplasias mamárias

A requisição da CAAF foi dividida em três partes: formulário de solicitação, exame físico e diagnóstico citopatológico.

O formulário de solicitação contém perguntas referentes à identificação do animal, condição corpórea, história clínica, história reprodutiva e alimentação.

A parte do exame físico possui dois diagramas, um representando as mamas numa vista ventral e o outro na lateral, para que o examinador possa localizar as lesões tumorais da mama e ter no momento da análise do protocolo uma idéia bidimensional do tumor. Os linfonodos regionais também foram representados nos desenhos. Cada mama do esquema foi dividida em quatro quadrantes tomando-se como o centro dos quadrantes o mamilo e para a individualização de cada uma das mamas foi traçada uma linha imaginária na perpendicular no meio do trajeto entre um mamilo e outro, a fim de facilitar a localização do tumor e o preenchimento da requisição.

No exame físico ainda existe o dimensionamento do tumor para o estadiamento TNM, consistência, padrão de crescimento, presença ou não de secreção nas mamas, edema de membros e de linfonodos.

O diagnóstico citopatológico indica ainda, qual das mamas foi puncionada, o tipo de material obtido e o diagnóstico propriamente dito (Anexo 1).

3.2.2. Procedimento da CAAF

O material utilizado na CAAF foi: agulhas hipodérmicas descartáveis de 13x4,5 mm para lesões menores que um centímetro de diâmetro, de 30x7 mm e 30x8 mm para nódulos maiores que um centímetro; seringas descartáveis de 10 mL, citoaspirador de Valeri, lâminas histológicas 26x76 mm com extremidades lisas e foscas, recipientes porta lâminas com álcool etílico absoluto e álcool metílico P.A. (metanol), lápis preto nº 2 para identificar as lâminas e solução anti-séptica.

Após montar o sistema citoaspirador, seringa e agulha o exame foi realizado da seguinte forma: anti-sepsia da pele com álcool-iodado, fixação do

nódulo entre dois dedos estendendo a pele que o reveste, de modo a diminuir a dor e ter maior firmeza.

A agulha foi introduzida na lesão, realizada pressão negativa puxando-se todo o gatilho do citoaspirador promovendo a tração máxima do êmbolo da seringa, originando um vácuo no sistema possibilitando a aspiração do material para o interior da agulha (Figura 5 A e B).

A seguir a agulha foi movimentada em várias direções em forma de “leque” sem, no entanto, retirá-la do nódulo, evitando que o ar penetrasse e mantendo-se a pressão negativa (Figura 5 C).

O êmbolo da seringa foi liberado enquanto a agulha ainda estava dentro do nódulo, e espontaneamente retornou à posição de repouso devido à pressão. Feito isso, a agulha pôde ser então removida do nódulo (Figura 5 D e E).

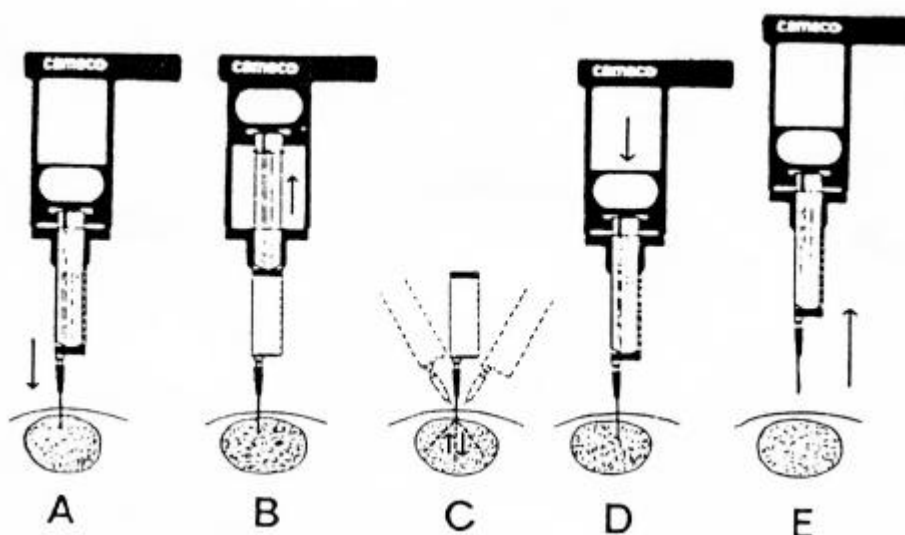


Figura 5. Técnica da citologia aspirativa por agulha fina. A – punção do nódulo; B - aspiração; C - movimentação da agulha em “leque” dentro do nódulo; D – liberação do gatilho e E – retirada da agulha do nódulo.

A agulha foi desconectada da seringa e o êmbolo puxado para se colocar ar na seringa (Figura 6 a b). A agulha foi novamente conectada na seringa e o êmbolo empurrado de forma a expelir o material aspirado sobre uma lâmina histológica de extremidade fosca previamente limpa, desengordurada e identificada. O bisel da agulha foi posicionado sempre voltado para baixo e próximo à lâmina (Figura 6 c).

O material foi depositado em um único local, com a finalidade de formar um pequeno botão, caso houvesse muito material esse foi distribuído em outras lâminas, a fim de se promover um esfregaço de boa qualidade (Figura 6 c) (COWELL *et al.*, 1999; THRALL, 2000).

O material da lâmina foi rapidamente distendido colocando-se uma lâmina de vidro lisa de forma perpendicular sobre o material depositado na primeira e com um movimento único e rápido uma lâmina foi deslocada sobre a outra em sentidos opostos (Figura 6 d).

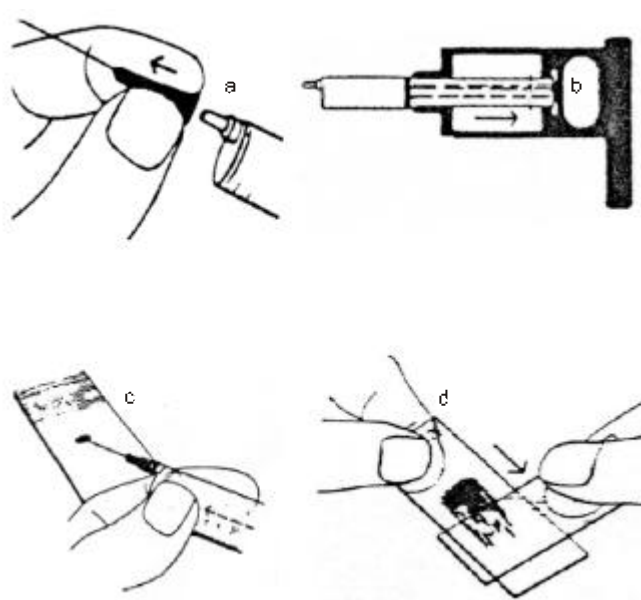


Figura 6 Técnica de realização do exame citológico. a – retirar agulha da seringa; b – aspiração de ar na seringa; c – reacoplamento da agulha e deposição de material na lâmina e d – realização do esfregaço.



Figura 7. CAAF no tumor de mama em cadela. Momento da aspiração.

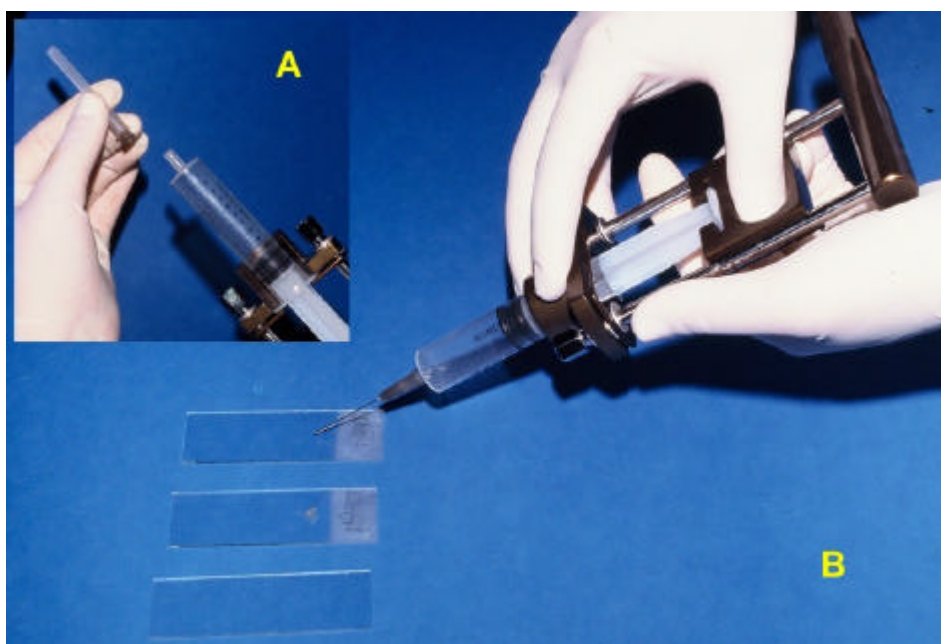


Figura 8 Processamento do material após a CAAF do tumor de mama. Momento em que a agulha é reconectada à seringa com ar (A), e durante a ejeção do material nas lâminas histológicas (B).

Após a punção de cada tumor foram produzidas oito lâminas do material obtido pela CAAF. Caso o material da primeira punção não fosse suficiente para a confecção de todos os esfregaços, nova punção foi realizada em outro local da lesão.

Após a realização dos esfregaços, as lâminas destinadas à coloração de Giemsa permaneceram à temperatura ambiente por cinco minutos e, em seguida, foram fixadas em metanol 100% por no mínimo cinco minutos para depois serem coradas.

As lâminas a serem coradas pela técnica de Shorr foram fixadas em álcool etílico absoluto imediatamente à realização do esfregaço (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

Quatro lâminas foram mantidas não coradas no álcool etílico absoluto caso houvesse a necessidade da realização de colorações especiais.

As lâminas coradas e “montadas” foram observadas ao microscópio de luz para a realização da classificação e do diagnóstico citopatológico.

3.2.3. Classificação Citopatológica dos Tumores Mamários

As lâminas obtidas pela CAAF e coradas pelas técnicas de Giemsa ou Shorr foram analisadas ao microscópio de luz nas seguintes objetivas: 10x para a verificação da qualidade da coloração e do material obtido, isto é coloração homogênea, espessura do esfregaço, disposição e integridade celular, entre outros; 20x para avaliação da expressão morfológica das células, e por fim, 40x para a análise das características morfológicas individuais das células; cromatina nuclear, nucléolos, pseudo-inclusão nuclear, vacuolização intracitoplasmática e limites e formas das membranas nuclear e citoplasmática.

Toda extensão do esfregaço foi percorrida para que o padrão celular fosse avaliado, utilizando-se como base para a classificação citopatológica dos tumores mamários as referências de Carvalho, (1993); Dabbs & Silverman, (1994); Silverman, (1996); Zakhour & Wells, (1999).

Os resultados dos exames citopatológicos foram anotados nos protocolos para CAAF das neoplasias mamárias (Anexo 1), para posteriormente poderem ser relacionados com os resultados dos exames histopatológicos.

3.3. Exame Histopatológico

As mamas com diagnóstico citopatológico de câncer, submetidas a nodulectomias, mastectomias parciais ou radicais foram encaminhadas ao Setor de Patologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade de Marília - UNIMAR para análise anatomo-patológica.

O processamento das peças cirúrgicas teve como base uma modificação do protocolo de estudo anatomo-patológico de peças cirúrgicas de mama proposto por Gobbi *et al.* (1993) (Anexo 2) e também as normas do Manual de Padronização de Laudos Histopatológicos da Sociedade Brasileira de Patologia (BACCHI *et al.*, 1995).

Imediatamente após a cirurgia as mamas foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, desidratadas, diafanizadas, banhadas e incluídas em parafina histológica, procedendo-se ao corte com cinco micrômetros. Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina e montados entre lâmina e lamínula. As lâminas dos fragmentos neoplásicos das mamas foram analisadas ao microscópio de luz para ser feita a classificação histopatológica das lesões.

A classificação dos tipos de tumores mamários utilizou como base as normas da Organização Mundial da Saúde (OMS) para os tumores e displasias da glândula mamária de cães e gatos (Tabela 6) (MISDORP *et al.*, 1999).

De forma paralela, as mesmas lâminas histopatológicas foram analisadas pelo método usado na medicina humana, segundo a classificação de Rosen & Oberman (1993) (Tabela 7).

Tabela 6. Câncer de Mama - Classificação histopatológica - OMS (MISDORP et al., 1999).

Carcinomas	Composição Celular
Carcinoma <i>in situ</i> (não infiltrante)	-
Carcinoma Complexo	Complexo ^a
Carcinoma Tubulopapilar	Simples ^b
Carcinoma Sólido	Simples
Carcinoma Anaplásico	Simples
Carcinoma de Células Fusiformes	-
Carcinoma de Células Escamosas	-
Carcinoma Mucinoso	-
Carcinoma rico em lipídeos	-
Sarcomas	
Fibrossarcoma	-
Osteossarcoma	-
Outros sarcomas	-
Carcinossarcoma (Tumor Misto Maligno)	Complexo
Carcinoma ou sarcoma em tumor benigno	-

a: neoplasia composta por mais de um tipo celular (epitelial secretora e mioepitelial).

b: neoplasia composta por apenas um tipo celular (epitelial secretora ou mioepitelial).

Tabela 7. Câncer de Mama - Classificação histopatológica - OMS (Rosen & Oberman, 1993).

CARCINOMAS	CARCINOMAS
Carcinomas Não Infiltrativos	Carcinomas com apresentação clínica incomum
Carcinoma Intraductal	Carcinoma Inflamatório
Carcinoma Intraductal com Doença de Paget	Carcinoma na gravidez e na lactação
Carcinoma Lobular <i>in situ</i>	Carcinoma oculto com metástase em linfonodos axilares
Carcinomas Infiltrativos	Carcinoma em mama ectópica
Carcinoma ductal infiltrativo	Carcinoma em homens
Carcinoma ductal infiltrativo com Doença de Paget	Carcinoma em crianças
Carcinoma ductal infiltrativo com componente intraductal predominante	Neoplasias Mistas de Tecido Conjuntivo e Epiteliais (Fibroepitelial)
Carcinoma lobular infiltrativo	Cistossarcoma de filodes
Carcinoma medular	SARCOMAS
Carcinoma mucinoso	Angiossarcoma
Carcinoma papilífero infiltrativo	Fibrossarcoma
Carcinoma tubular	Leiomiossarcoma
Carcinoma adenóide cístico	Condrossarcoma
Carcinoma secretório (juvenil)	Osteossarcoma
Carcinoma apócrino	Hemangiopericitoma
Carcinoma com metaplasia	Dermatofibrossarcoma protuberans
Carcinoma com células gigantes semelhantes a osteoclastos	
Carcinoma cístico hipersecretor com infiltração	
Carcinoma com diferenciação endócrina	
Carcinoma rico em glicogênio	
Carcinoma rico em lipídio	
Carcinoma cribriforme infiltrativo	

Os dados obtidos foram relacionados a fim de se verificar a possibilidade do uso de uma única forma de classificação cito e histopatológica para os tumores mamários.

Nos animais com envolvimento multicêntrico das mamas; ou seja, com mais de uma glândula mamária acometida por neoplasias; prevaleceu o diagnóstico do câncer de maior malignidade.

3.4. Estadiamento do Câncer de Mama

O estágio dos tumores de mama do presente estudo, foi avaliado por uma modificação do Sistema TNM convencional (1998) (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Classificação TNM adaptada para neoplasias mamárias em cadelas.

Tumor primário – T	
TX	Impossibilidade de avaliação do tumor
T0	Sem evidências de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : carcinoma intraductal ou lobular <i>in situ</i> , ou doença de Paget do mamilo sem tumor
T1	Tumor menor ou igual a dois centímetros
T2	Tumor maior que dois centímetros até cinco centímetros
T3	Tumor maior que cinco centímetros
T4	Tumor de qualquer tamanho com extensão direta ao tórax, abdômen ou pele
T4a	Extensão à parede torácica ou abdominal
T4b	Edema ou ulceração da pele da mama ou nódulos cutâneos satélites contíguos
T4c	Soma de T4a e T4b
T4d	Carcinoma inflamatório
Linfonodos regionais – pN*	
PNX	Linfonodos regionais não avaliados
pN0	Ausência de metástases
pN1	Metástases para linfonodos homolaterais móveis
pN1a	Somente micro-metástases (até 0,2 cm)
pN1b	Metástases maiores de 0,2 cm
N2	Metástases para linfonodos ipsilaterais fixos
Metástases – M	
MX	Não avaliada
M0	Ausência de metástases
M1	Metástase (incluir metástase em linfonodos regionais)

* Classificação anatomo-patológica.

Modificado de MacEWEN & WITHROW, 1996; TNM, 1998 e HEGG, 2000.

Tabela 9. Estadiamento das neoplasias mamárias em cadelas.

Estágios	TNM
Estágio 0	Tis, N0, M0
Estágio I	T1, N0, M0
Estágio II	
Estágio IIA	T0, N1, M0 T1, N1*, M0 T2, N0, M0
Estágio IIB	T2, N1, M0 T3, N0, M0
Estágio III	
Estágio IIIA	T0, N2, M0 T1, N2, M0 T2, N2, M0 T3, N1, N2, M0
Estágio IIIB	T4, qualquer N, M0 Qualquer T, N3, M0
Estágio IV	Qualquer T, qualquer N, M1

* O prognóstico de pacientes com pN1a é semelhante ao de pN0.
SHERMAN & HOSSFELD, 1993; HEGG, 2000.

3.5 Avaliação histoquímica dos tumores

As técnicas histoquímicas utilizadas neste trabalho tiveram como objetivo caracterizar a estrutura dos tumores de mama da cadela. As seguintes técnicas de coloração foram utilizadas:

Shorr histológico

Tricrômico de Masson

Método de Gomori para fibras reticulares

Técnica do Ácido Periódico de Schiff (PAS) para polissacarídeos

Método de Von Kossa

Técnica de Grimelius para grânulos argentafins

Fontana Masson para melanina

Azul de Toluidina

3.6. Acompanhamento pós-cirúrgico dos animais

As cadelas submetidas a nodulectomias, mastectomias parciais ou radicais foram monitoradas após a cirurgia a fim de se realizar o acompanhamento do estado de saúde desses animais.

O acompanhamento pós-cirúrgico foi feito por meio de contatos telefônicos mensais com os proprietários a fim de se questionar qual a evolução clínico-cirúrgica dos pacientes. Caso houvesse alguma queixa, o proprietário foi orientado a encaminhar o animal ao hospital veterinário para a realização de exame clínico de rotina. O tempo máximo de observação foi de 35 meses após a cirurgia.

No caso de óbito foi solicitada ao proprietário a permissão para a realização da necropsia. Este foi orientado, no dia da cirurgia, a informar o momento exato do acontecimento para que se pudesse determinar a *causa mortis*.

4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

Devido à natureza das variáveis, as mesmas foram resumidas por meio de médias, desvios-padrão, mediana, tabelas e gráficos.

Para estimar a probabilidade de sobrevida dos animais em estudo no respectivo intervalo de tempo designado, utilizou-se o método de Kaplan-Meier, dividindo-se os animais em três grupos - Grupo 1 = Estágio IIA + IIB, Grupo 2 = Estágio IIIA + IIIB e Grupo 3 = Estágio IV, os quais foram formados após o diagnóstico e classificação dos animais de acordo com o respectivo estágio, por meio do método modificado de Hegg (2000). Possíveis diferenças nas curvas de sobrevivência foram testadas por meio do teste de logarítmicos de escores (*log rank*) (Armitage & Berry, 1997).

Para a verificação da associação entre a disposição dos tumores segundo o lado, como também para número de tumores segundo a posição das mamas (craniais ou caudais), não foi necessária a utilização de testes estatísticos em razão da evidência dos achados.

Adotou-se em todos os testes, o nível de significância de 5% de probabilidade para a rejeição da hipótese de nulidade.

5. RESULTADOS

5.1. Classificação Citológica e Histopatológica das Neoplasias

Os esfregaços obtidos das neoplasias malignas pela citologia aspirativa com agulha fina (CAAF), após serem corados pelas técnicas de Giemsa e Shorr foram classificados em: carcinomas, neoplasia maligna de origem mesenquimal ou sarcomas, carcinoma epidermóide, melanoma melanótico e mastocitoma de grau III (CARVALHO, 1993; SILVERMAN, 1996; ZAKHOUR & WELLS, 1999).

Os diagnósticos histopatológicos das 32 neoplasias malignas de maior relevância, segundo a classificação de Rosen & Oberman (1993) e Misdorp et al., (1999), podem ser observados na sua totalidade no Apêndice 1 e de forma sumarizada na Tabela 10, no qual os resultados estão dispostos na forma de frequência e porcentagem, respectivamente.

Das 32 neoplasias analisadas, sete (21,88%) apresentaram-se como carcinoma metaplásico segundo a classificação humana e o diagnóstico correspondente na classificação veterinária foi carcinoma complexo contando com cinco casos (15,63%) (Figuras 10 e 11). A diferença entre o número de diagnósticos nas duas nomenclaturas ocorreu pelo fato de dois casos de carcinoma metaplásico segundo Rosen & Oberman (1993), não corresponderem ao diagnóstico de carcinoma complexo segundo Misdorp et al., (1999). Desse modo, no primeiro observou-se além do componente epitelial maligno pouco diferenciado, metaplasia escamosa, sendo este então contabilizado como carcinoma anaplásico. E no outro, o diagnóstico foi carcinosarcoma na nomenclatura veterinária por haver componente epitelial e mesenquimal malignos (Tabela 10).

O diagnóstico de carcinoma ductal infiltrativo utilizado na medicina humana contou com cinco casos (15,63%), que foi o mesmo número encontrado na classificação veterinária cujo tumor correspondente foi o carcinoma sólido infiltrativo (Figuras 12 e 13).

O carcinoma epidermóide; fibrossarcoma e carcinomas papilíferos intraductal (*in situ*) contaram cada uma com três casos (9,37%), tendo a mesma designação tanto na classificação veterinária como na humana (Figuras 14 - 17).

O carcinoma papilífero infiltrativo somou dois casos (6,25%) (Figuras 18 e 19). O carcinoma mioepitelial de acordo com a classificação humana e de células

fusiformes, segundo a veterinária, contaram cada um com dois casos (6,25%) (Figuras 20-21). Melanoma melanótico e osteossarcoma contaram respectivamente com dois casos (6,25%) cada, sendo a mesma terminologia em ambas as classificações (Figuras 22 e 25).

Das neoplasias examinadas, foi constatado um caso (3,13%) de carcinoma com diferenciação neuro-endócrina, conforme a classificação humana; cuja terminologia também foi adotada para a veterinária (Figuras 26 e 27). Também foi constatado um caso (3,13%) de carcinoma inflamatório (carcinoma ductal invasivo de alto grau de malignidade – Figuras 28 e 29) e um (3,13%) de angiossarcoma (Figuras 30 e 31) utilizando-se a classificação humana; sendo esses tumores chamados de carcinoma anaplásico com dois casos (6,25%) e hemangiossarcoma com um caso (3,13%) baseando-se na nomenclatura veterinária.

Ainda foi possível o diagnóstico de um caso (3,13%) de carcinossarcoma empregando-se a classificação de Misdorp et al., (1999), estando este caso inserido no total de sete casos de carcinoma metaplásico pela classificação de Rosen & Oberman (1993), conforme referido acima (Tabelas 10 e Apêndice 1).

Tabela 10. Frequência de diagnóstico dos 32 casos de neoplasias mamárias das cadelas estudadas

Classificação Humana	Freq. (%)*	Classificação Veterinária	Freq. (%)
Ca** Metaplásico	7 (21,88)	Ca. Complexo	5 (15,63)
Ca. Ductal Infiltrativo	5 (15,63)	Ca. Sólido Infiltrativo	5 (15,63)
Ca Epidermóide Ductal	3 (9,37)	Ca Epidermóide	3 (9,37)
Fibrossarcoma	3 (9,37)	Fibrossarcoma	3 (9,37)
Ca Papilífero Intraductal	3 (9,37)	Ca Papilar <i>In Situ</i>	3 (9,37)
Ca Papilífero Infiltrativo	2 (6,25)	Ca Papilar Infiltrativo	2 (6,25)
Ca. Mioepitelial	2 (6,25)	Ca. de Células Fusiformes	2 (6,25)
Melanoma Melanótico	2 (6,25)	Melanoma Melanótico	2 (6,25)
Osteossarcoma	2 (6,25)	Osteossarcoma	2 (6,25)
Ca. Inflamatório	1 (3,13)	Ca. Anaplásico	2 (6,25)
Ca. Neuroendócrino	1 (3,13)	Ca. Neuroendócrino	1 (3,13)
Angiossarcoma	1 (3,13)	Hemangiossarcoma	1 (3,13)
		Carcinossarcoma	1 (3,13)

* - Frequência em porcentagem; ** - Ca. – Carcinoma

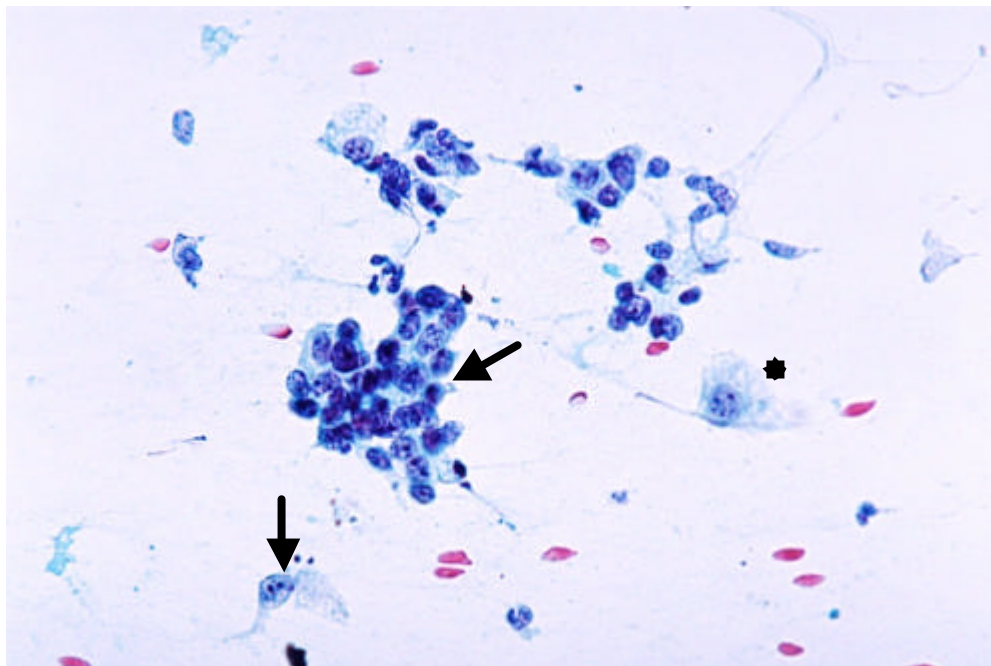


Figura 10. CAAF: cadela, SRD, 10 anos, mama abdominal caudal esquerda. Carcinoma. Notar o pleomorfismo celular, nucléolos evidentes (seta) e a anisocitose (*). Shorr, objetiva de 40x.

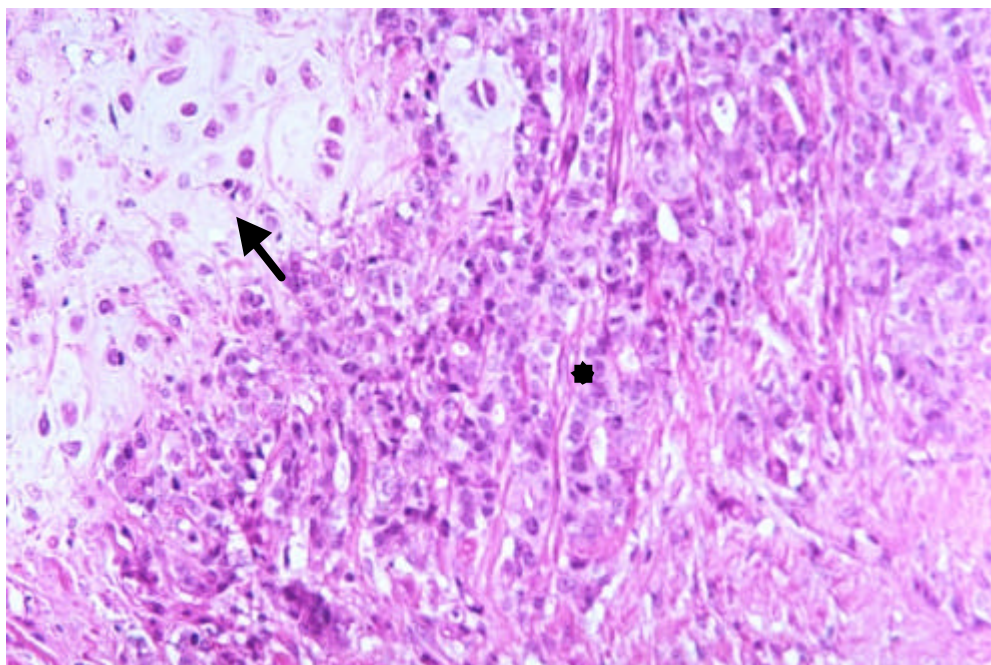


Figura 11. Cadela, SRD, 10 anos, mama abdominal caudal esquerda. Carcinoma metaplásico. Notar a metaplasia cartilaginosa (seta) em meio às células epiteliais organizadas em estruturas ductais (*). HE, objetiva de 40x.

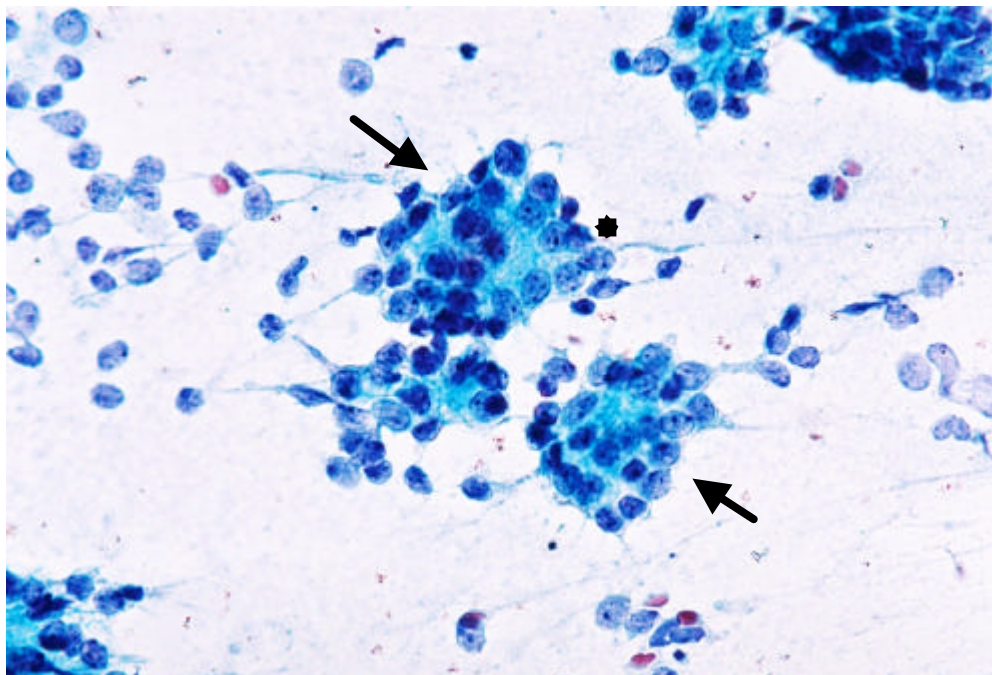


Figura 12. CAAF: cadela, SRD, 13 anos, mama torácica caudal esquerda. Carcinoma. Verificar a estrutura acinar (seta) e cromatina grosseira (*). Shorr, objetiva de 40x.

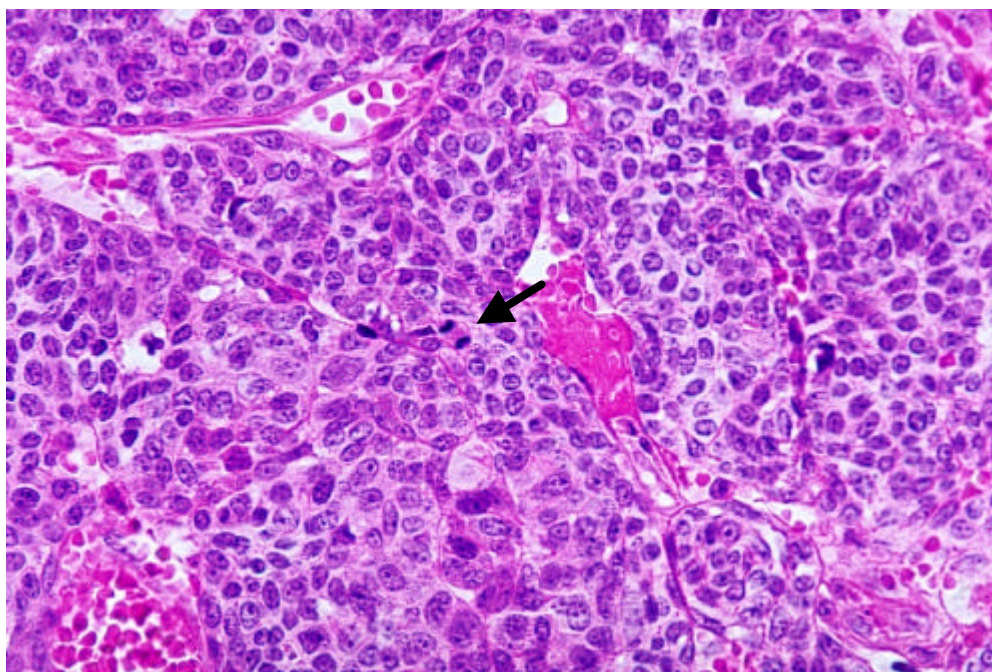


Figura 13. Cadela, SRD, 13 anos, mama torácica caudal esquerda. Carcinoma ductal infiltrativo. Observar o padrão monótono das células e figura de mitose (seta). HE, objetiva de 40x.

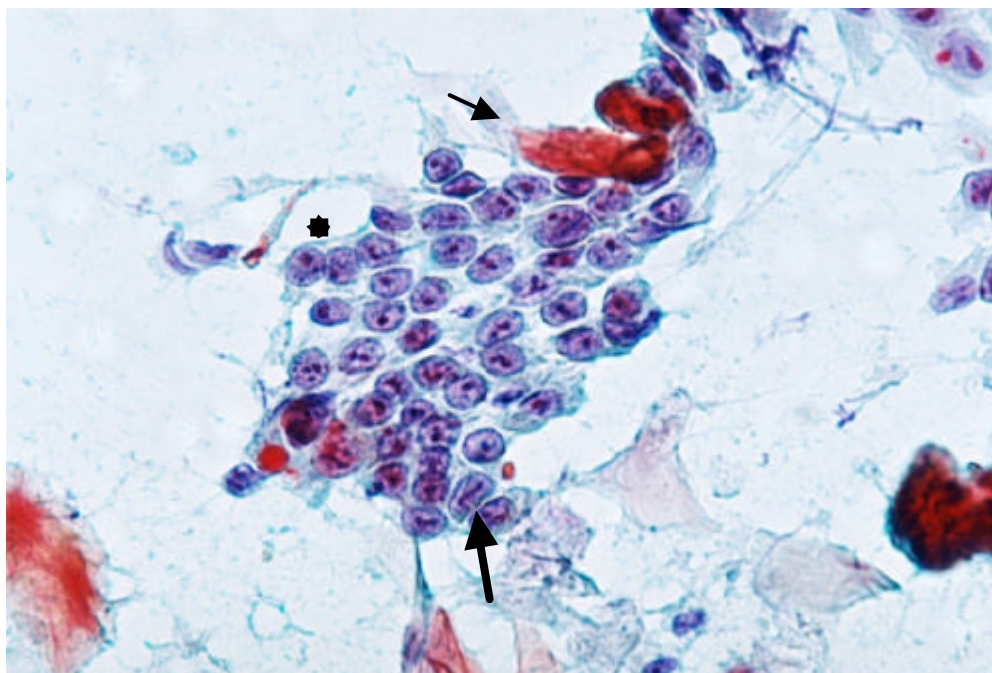


Figura 14. CAAF: cadela, SRD, 6 anos, mama abdominal caudal direita. Carcinoma epidermóide ductal. As células lembram a camada espinhosa com cromatina em forma de ranhura (seta) nucléolo evidente (*) e presença de escamas de ceratina (seta fina). Shorr, objetiva de 40x.

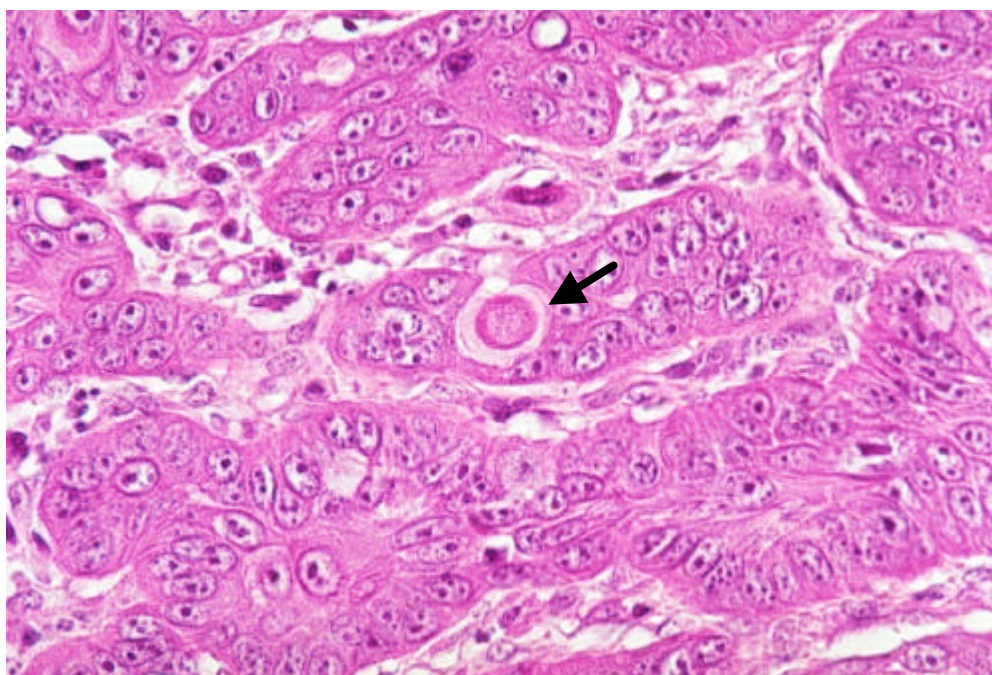


Figura 15. Cadela, SRD, 6 anos, mama abdominal caudal direita. Carcinoma epidermóide ductal queratinizado. Padrão celular do exame citopatológico e a presença de pérola córnea (seta). HE, objetiva de 40x.

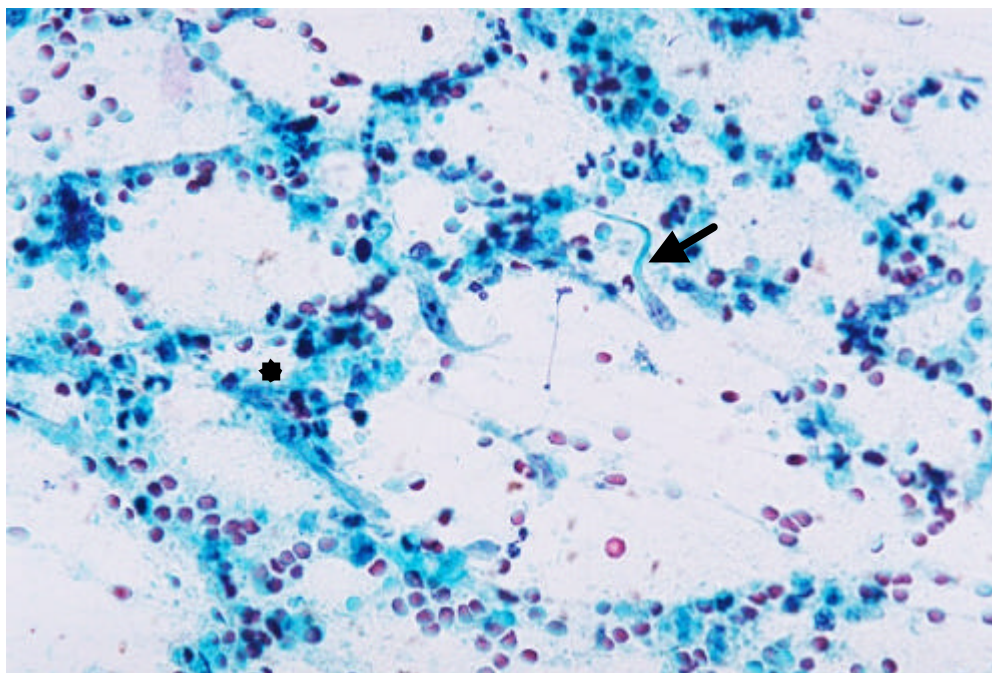


Figura 16. CAAF: cadela, SRD, 15 anos, mama torácica caudal direita. Neoplasia maligna de origem mesenquimal. Notar células fusiformes com nucléolos evidentes e citoplasma fibrilar (seta) e o fundo necrótico (*). Shorr, objetiva de 20x.

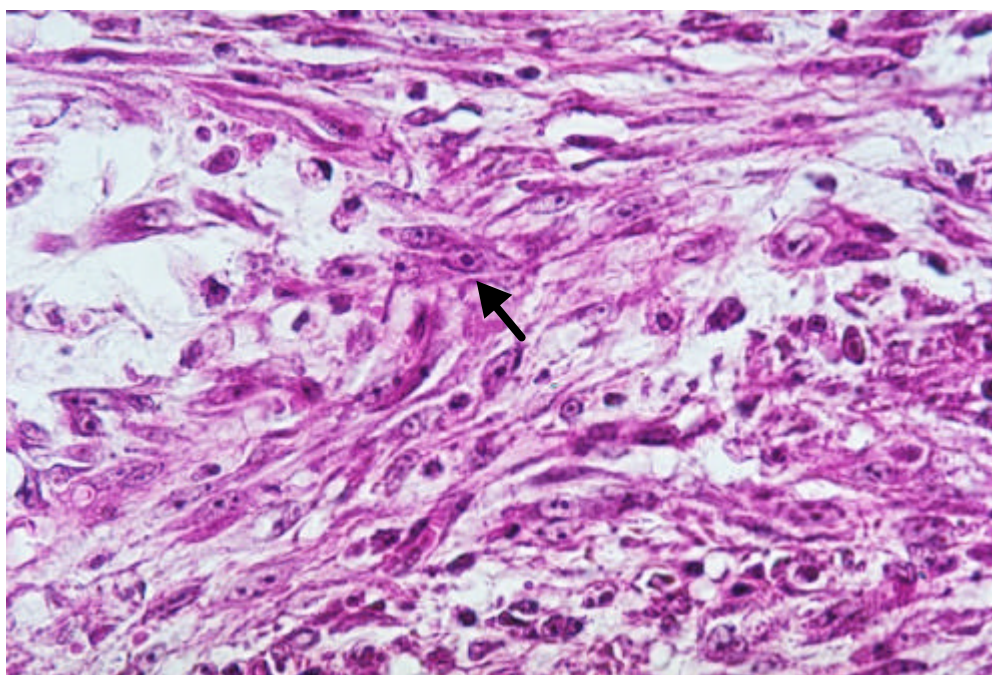


Figura 17. Cadela, SRD, 15 anos, mama torácica caudal direita. Fibrossarcoma. Verificar as células fusiformes semelhantes as do exame de CAAF (seta). HE, objetiva de 40x.

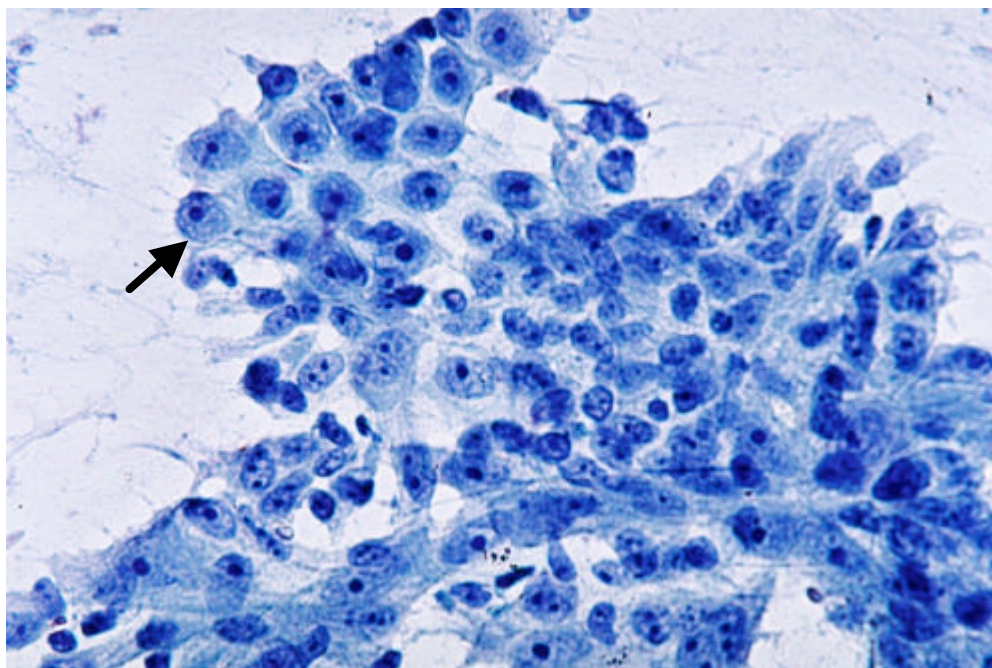


Figura 18. CAAF: cadela, SRD, 8 anos, mama abdominal cranial direita. Carcinoma. Aglomerado hipercelular; nucléolos evidentes, anisocitose, anisocariose e cromatina grosseira (seta). Shorr, objetiva de 40x.

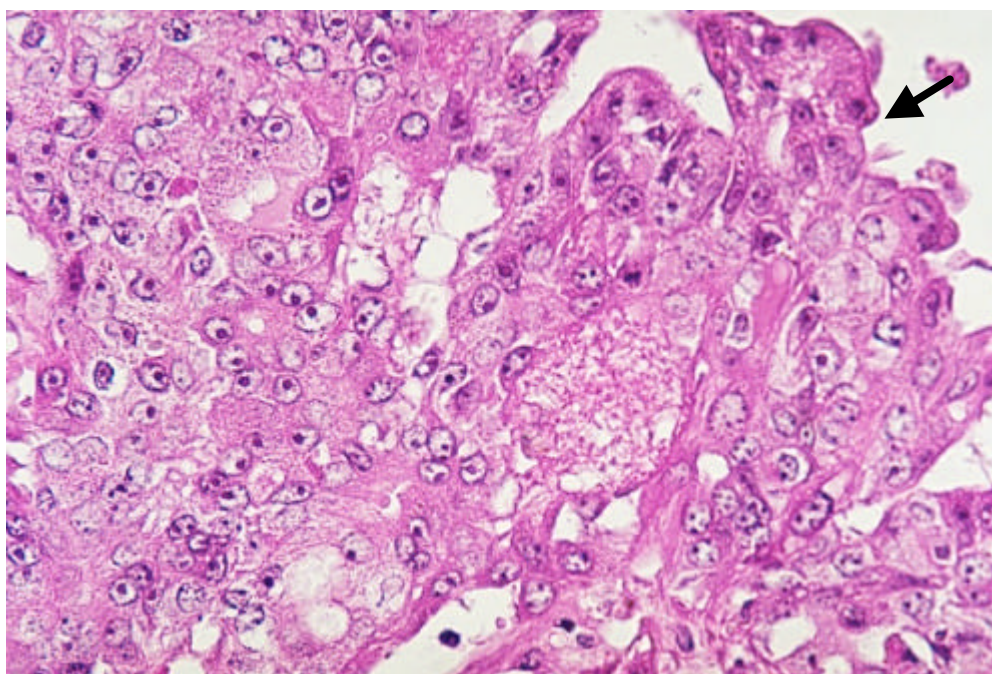


Figura 19. Cadela, SRD, 8 anos, mama abdominal cranial direita. Carcinoma papilífero infiltrativo. Perda da organização celular na formação papilar (seta). HE, objetiva de 40x.

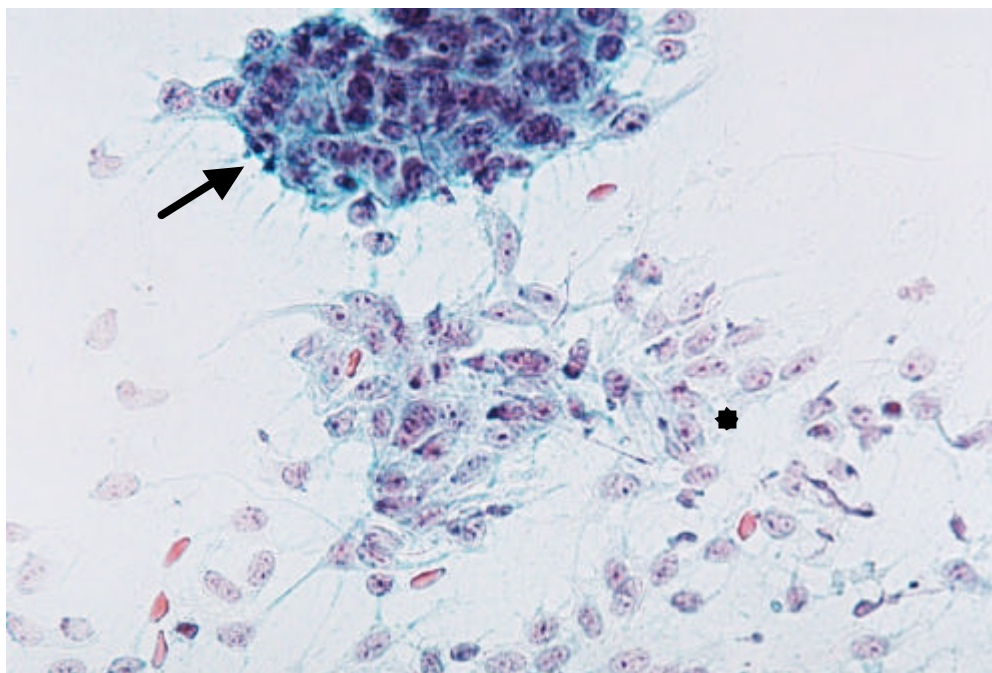


Figura 20. CAAF: cadela, Pastor Belga, 10 anos, mama abdominal cranial direita. Carcinoma. Nota-se duas morfologias distintas; células epiteliais coesas (seta) e mioepiteliais soltas (*); ambas com cromatina “salpicada”. Shorr, objetiva de 40x.

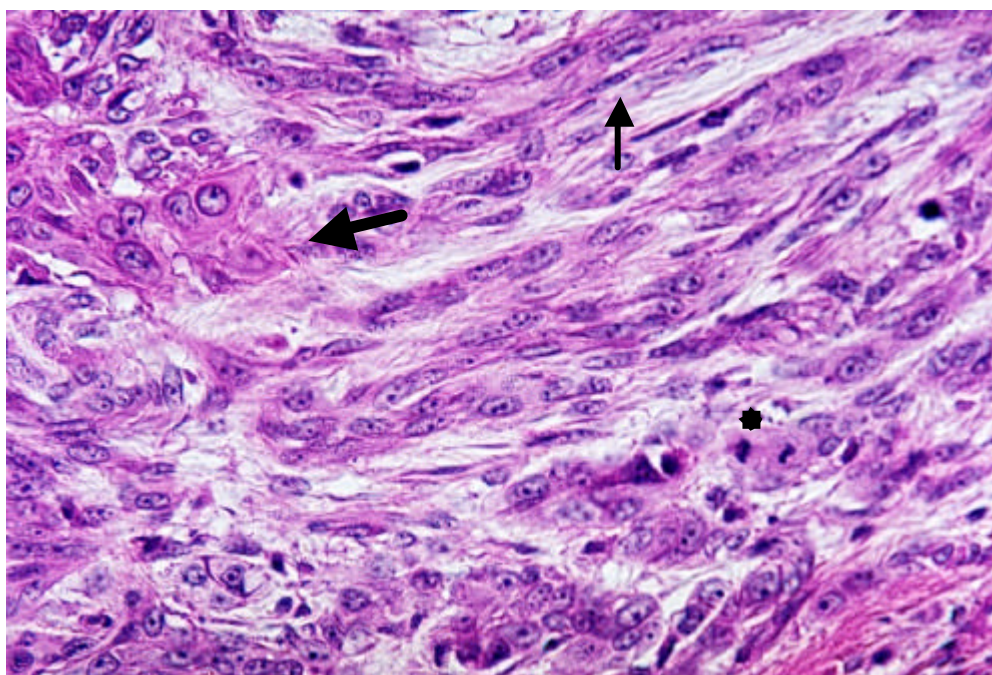


Figura 21. Cadela, Pastor Belga, 10 anos, mama abdominal cranial direita. Carcinoma mioepitelial. Células epiteliais (seta larga) entre as mioepiteliais (seta fina) e figura de mitose (*). HE, objetiva de 40x.

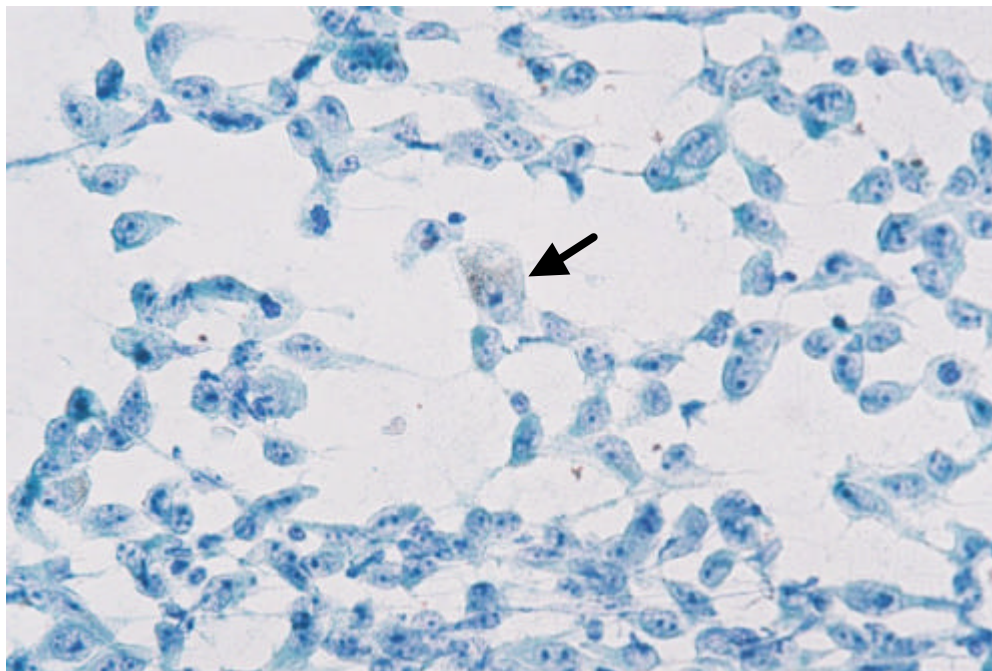


Figura 22. CAAF: cadela, SRD, 9 anos, mama torácica cranial esquerda. Melanoma pouco diferenciado. Alta celularidade, perda de coesão; nucléolos evidentes; anisocitose e anisocariose. Verificar o arranjo delicado do pigmento melânico intracitoplasmático (seta). Shorr, objetiva de 40x.

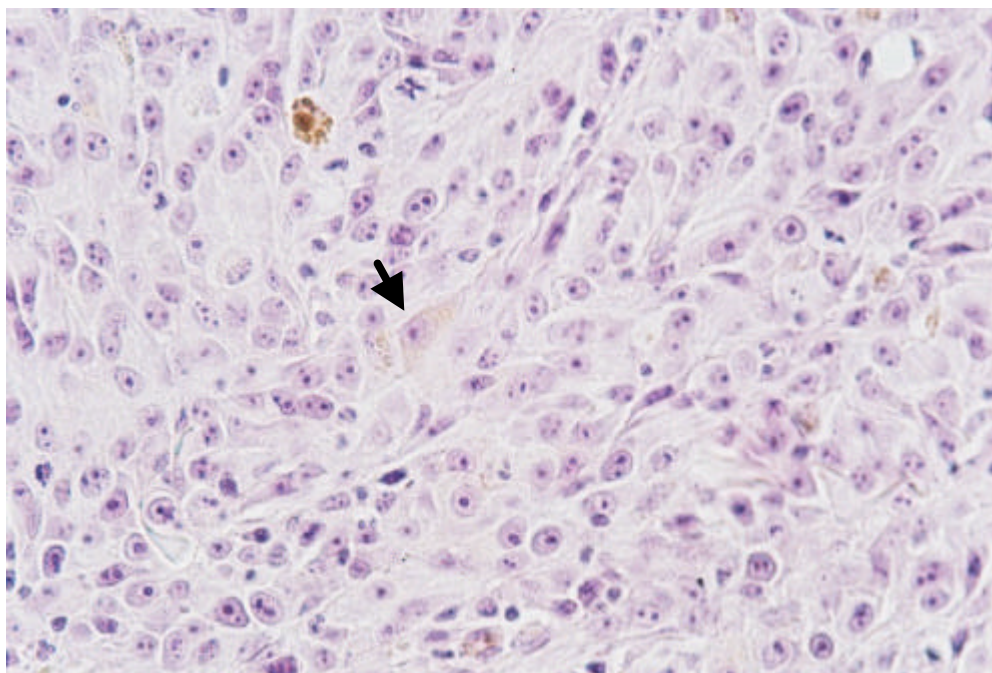


Figura 23. Cadela, SRD, 9 anos, mama torácica cranial esquerda. Melanoma melanótico. Observar células contendo pigmento de melanina (seta) e nucléolo central e evidente. HE, objetiva de 40x.

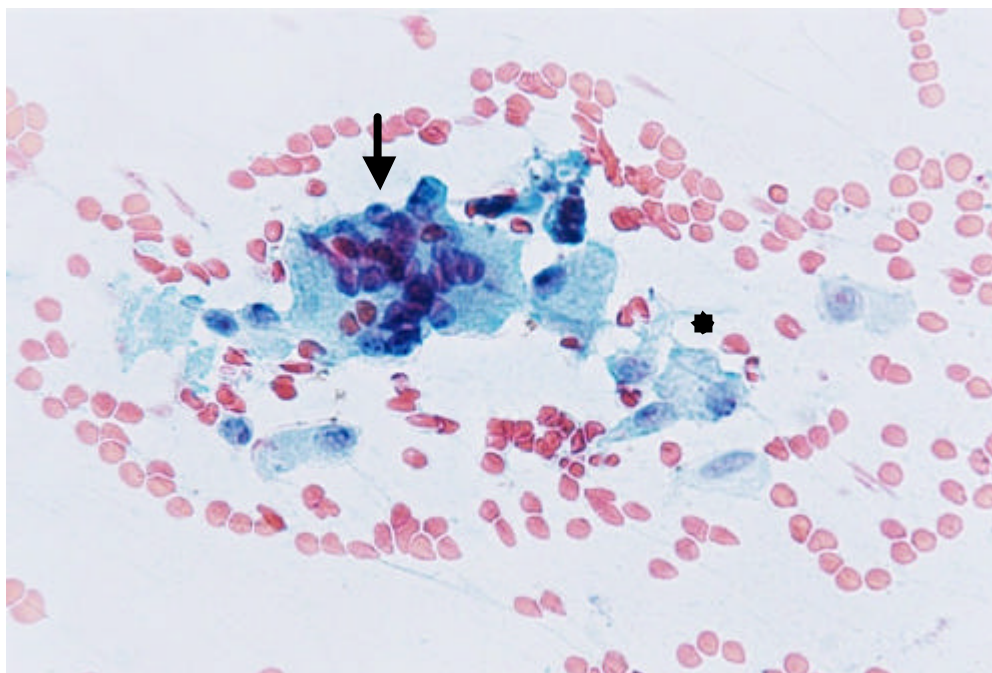


Figura 24. CAAF: cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Sarcoma. Notar célula multinucleada (seta) e outras com cromatina grosseira; nucléolo evidente e anisocitose (*). Shorr, objetiva de 40x.

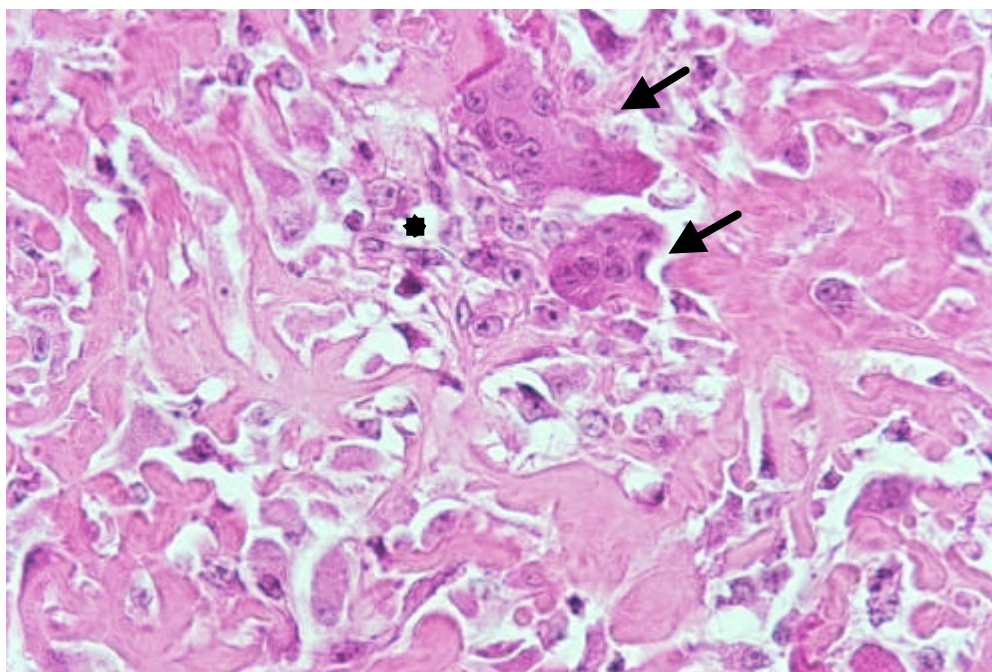


Figura 25. Cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Osteossarcoma. Presença de matriz óssea com células multinucleadas lembrando osteoclastos (seta) e células neoplásicas atípicas (*). HE, objetiva de 40x.

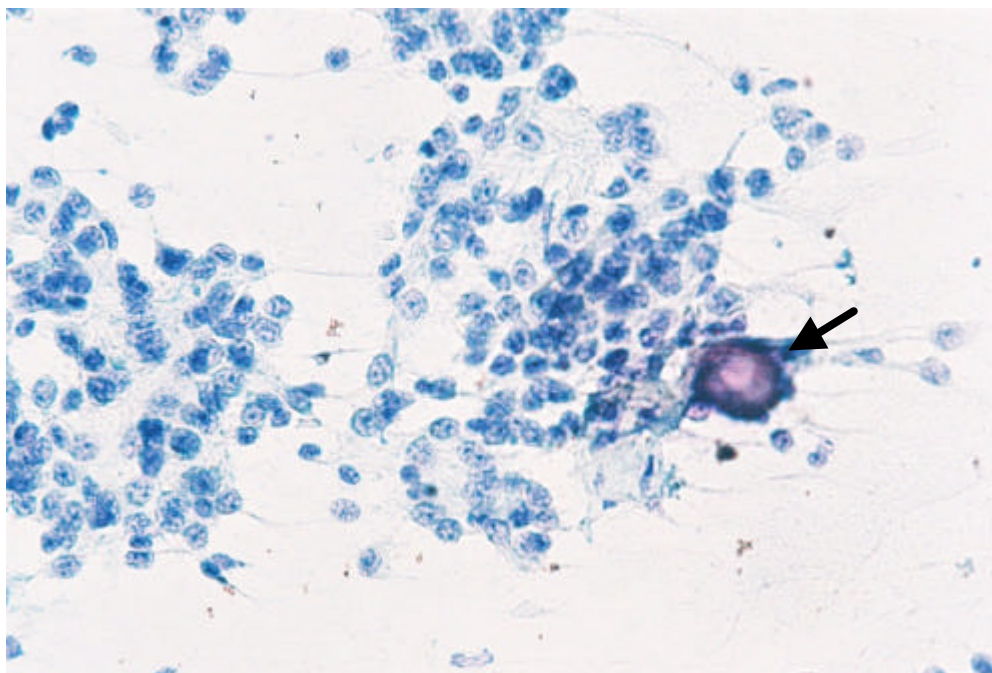


Figura 26. CAAF: cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Carcinoma. Celularidade alta e uniforme, perda de coesão celular; núcleos de cromatina irregular; nucléolo único e evidente. De permeio material calcificado (seta). Shorr, objetiva de 40x.

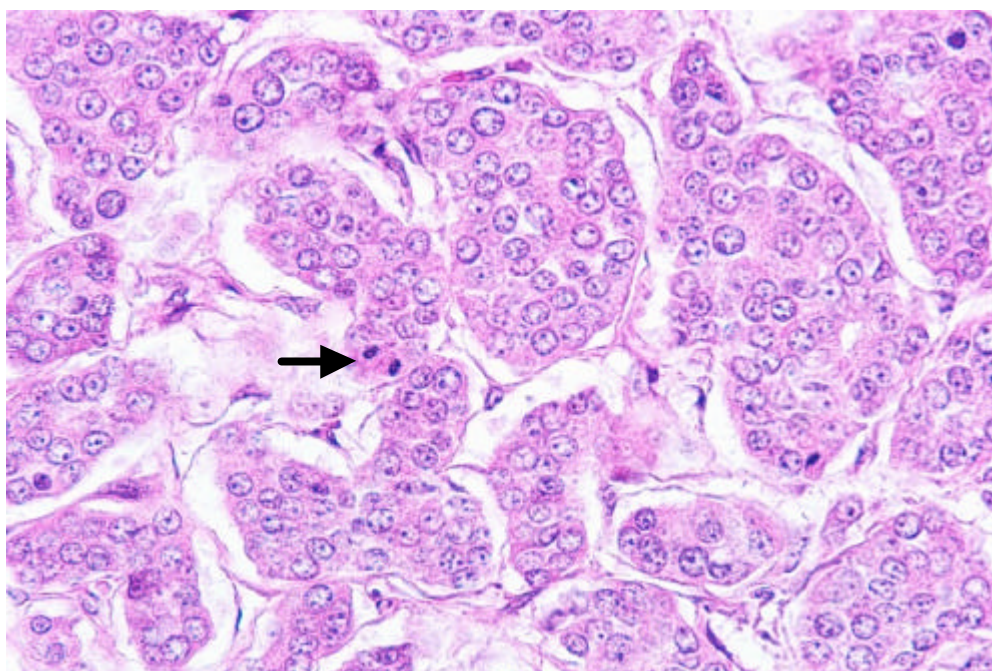


Figura 27. Cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Carcinoma neuroendócrino. Notar a disposição em forma de ninhos celulares envolvidos por delicado estroma e figura de mitose (seta). HE, objetiva de 40x.

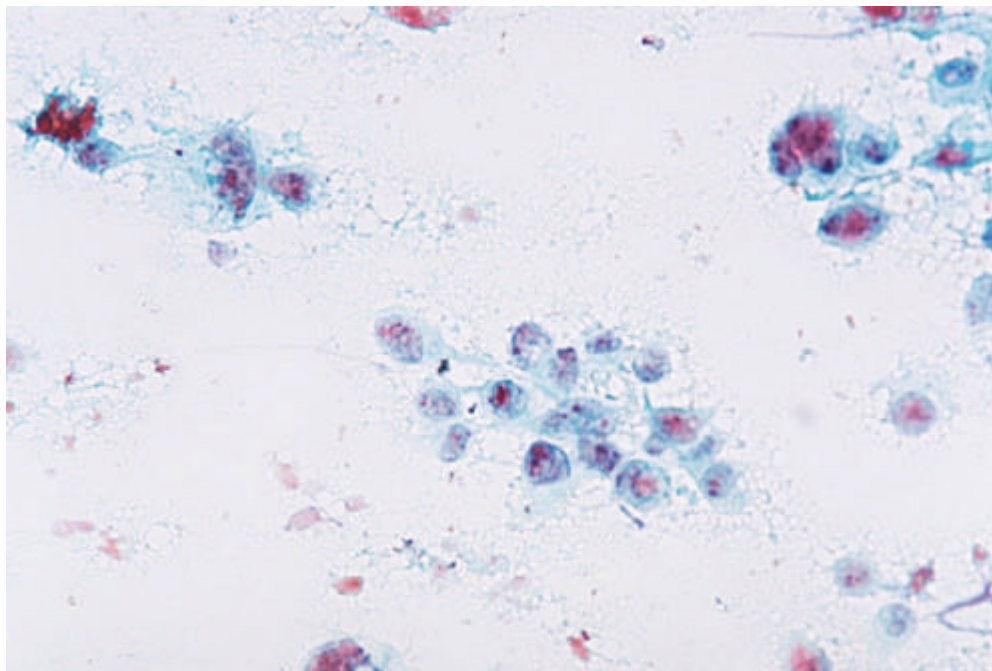


Figura 28. CAAF: cadela, Poodle, 11 anos, mama inguinal esquerda. Carcinoma. Células atípicas; cromatina grosseira, macronúcleolos e pleomorfismo. Shorr, objetiva de 40x.

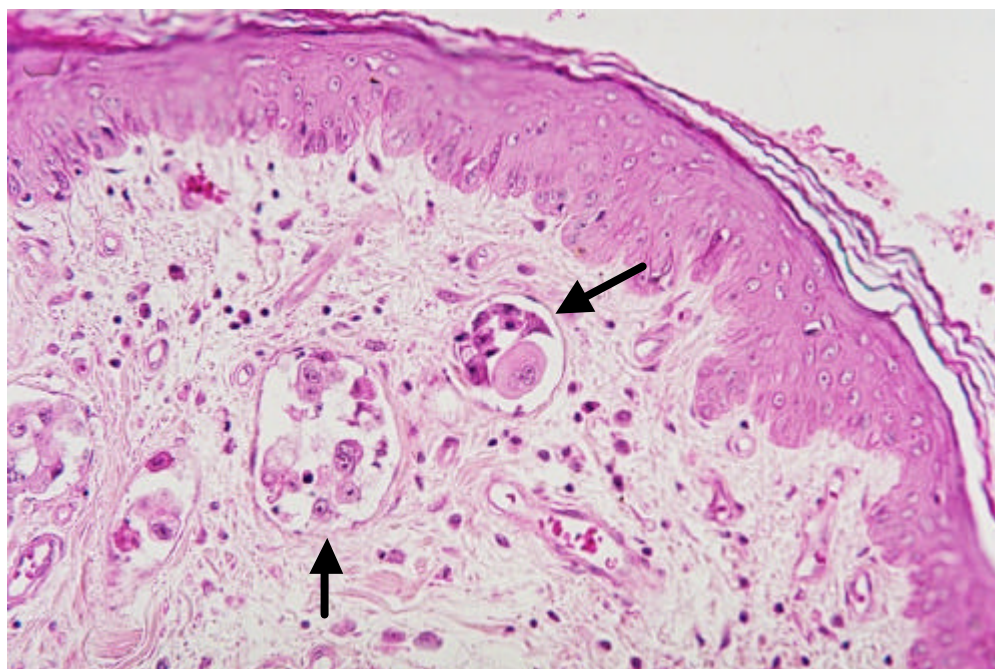


Figura 29. Cadela, Poodle, 11 anos, mama inguinal esquerda. Carcinoma inflamatório. Observar êmbolos de células neoplásicas no interior dos vasos linfáticos da derme (setas). HE, objetiva de 20x.

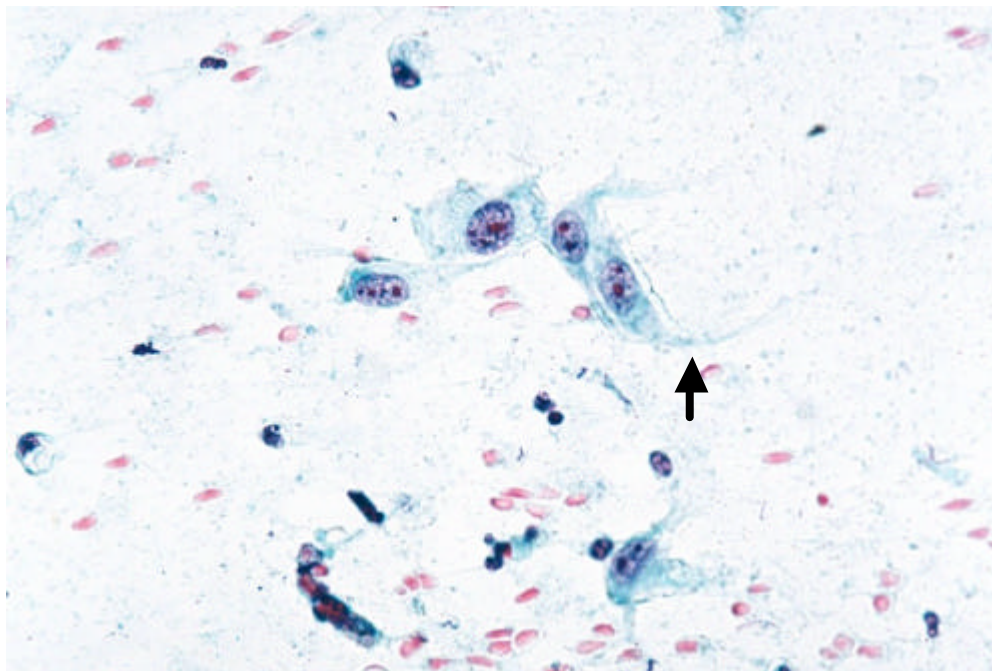


Figura 30. CAAF: cadela, SRD, 11 anos, mama abdominal caudal esquerda. Neoplasia maligna de origem mesenquimal. Células fusiformes com nucléolos evidentes; cromatina grosseira e citoplasma fibrilar (seta). Shorr, objetiva de 40x.

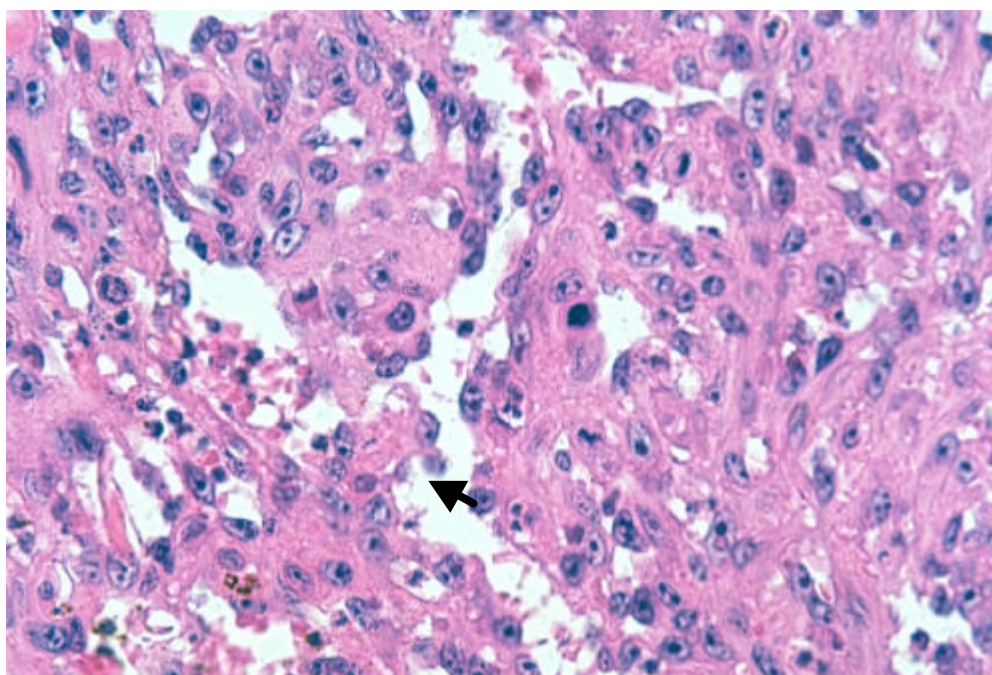


Figura 31. Cadela, SRD, 11 anos, mama abdominal caudal esquerda. Angiossarcoma. Notar a atipia celular; células endoteliais hiper Cromáticas, mitoses e endotélio papilar (seta). HE, objetiva de 40x.

5.2. Histoquímica

Os diagnósticos obtidos a partir do exame histopatológico pela coloração de hematoxilina – eosina foram confirmados utilizando-se técnicas histoquímicas.

Os critérios citológicos de malignidade puderam ser observados de melhor forma com a utilização da técnica de Shorr histológico, conforme pode ser observado na Figura 32, na qual são proeminentes as alterações nucleares e citoplasmáticas; como cromatina irregular, nucléolos evidentes, figuras de mitose, o pleomorfismo celular, anisocitose e anisocariose.

Na Figura 33 pode ser apreciada a coloração tricrômico de Masson em um carcinoma metaplásico; demonstrando a presença de metaplasia cartilaginosa, que é o componente sarcomatoso da neoplasia, envolvida pela porção epitelial da neoplasia.

Os fibrossarcomas e ainda os carcinomas de células fusiformes foram diferenciados pela utilização da técnica de Gomori para fibras reticulares. Nos fibrossarcomas foram demonstradas envolvendo as células individualmente (Figura 34), e nos carcinomas as fibras de reticulina envolviam grupos de células.

A técnica do PAS para polissacarídeos resultou em marcação positiva para o material contido no interior das estruturas tubulares de algumas neoplasias revelando desse modo a sua natureza. Além disso, essa coloração demonstrou a delimitação dos ductos e ácinos neoplásicos, indicando a integridade da membrana basal desses locais (Figura 35).

Embora a presença de calcificações e microcalcificações seja facilmente detectada pela coloração de rotina, para que se pudesse afirmar esse fato utilizou-se a coloração de Von Kossa para sais de cálcio. Conforme pode ser notado na Figura 36, as áreas calcificadas estão coradas intensamente em negro.

A presença de grânulos argentafins presentes em carcinomas com diferenciação neuro-endócrina pôde ser constatada com a utilização da técnica de Grimelius, que cora em tons de castanho a negro o material positivo (Figura 37). Além da histoquímica, nesse caso, foi realizada prova imunoistoquímica que utilizou como marcadores a sinaptofisina e a cromogranina para confirmação do diagnóstico de carcinoma neuro-endócrino.

Dois casos de melanomas melânicos foram confirmados por meio da técnica de Fontana Masson, que indicou a presença de delicada pigmentação argento-

reduzida no interior das células neoplásicas (Figura 38), confirmando desse modo o diagnóstico.

Embora nas tabelas de diagnóstico não esteja demonstrado nenhum caso de mastocitoma, em um animal com comprometimento mamário multicêntrico, houve a necessidade da utilização da técnica de azul de Toluidina para confirmação do resultado (cadela sete) (Figura 39). Como essa cadela era portadora de carcinoma ductal de alto grau de malignidade/ carcinoma anaplásico, optou-se por se eliminar o diagnóstico de mastocitoma grau III e manter o de carcinoma.

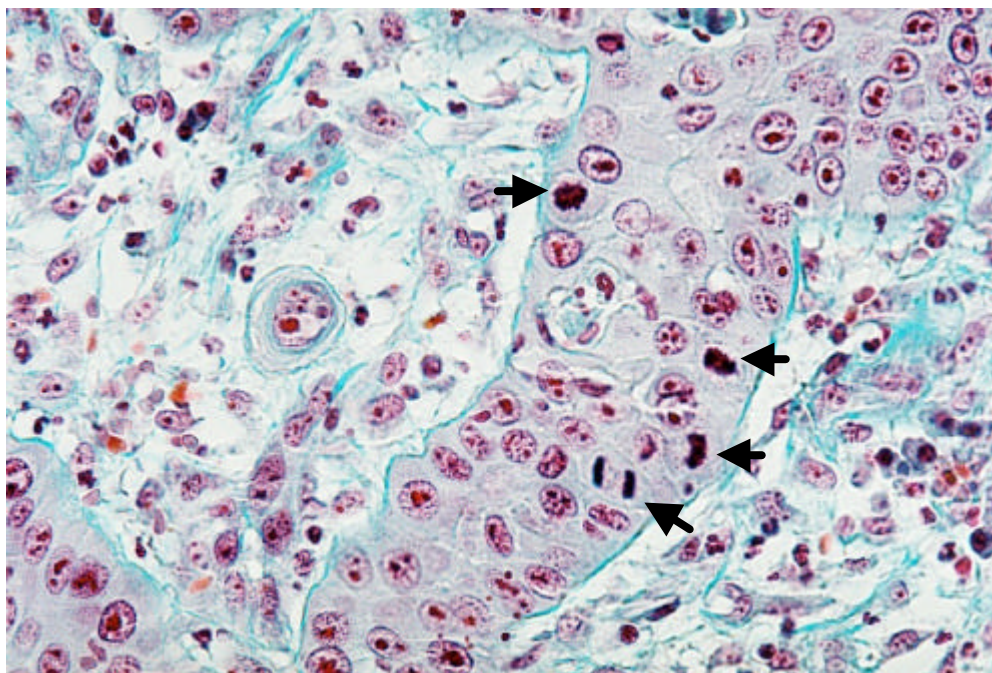


Figura 32. Cadela, SRD, 6 anos, mama abdominal caudal direita. Carcinoma epidermóide ductal. Verificar a atipia celular, as alterações nucleares e as figuras de mitose (setas). Shorr, objetiva de 40x.

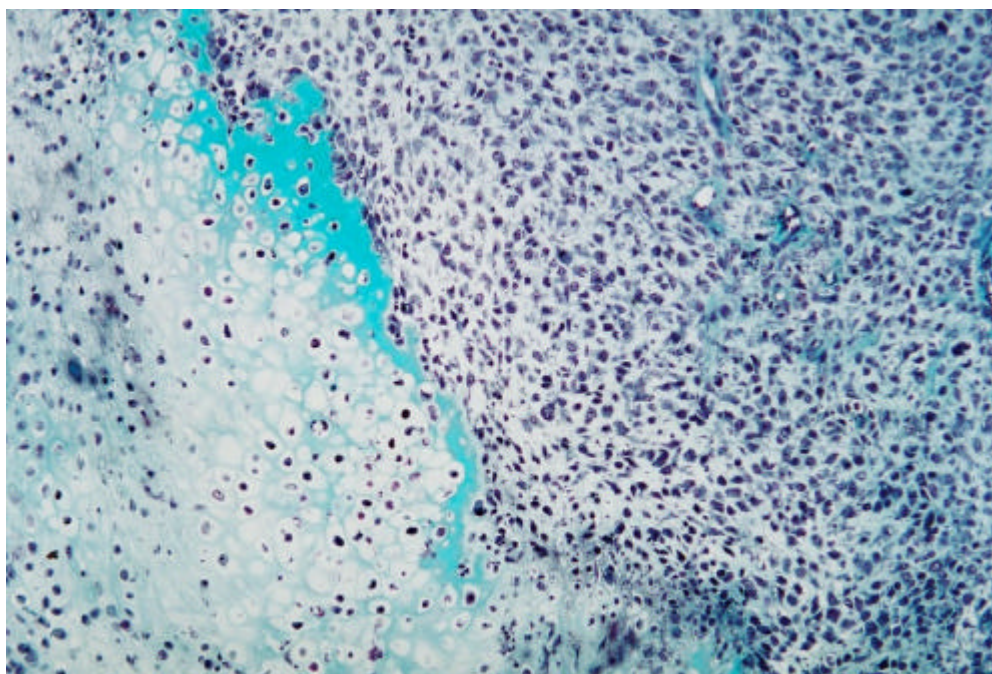


Figura 33. Cadela, SRD, 10 anos, mama abdominal caudal esquerda. Carcinoma metaplásico. Notar o componente sarcomatoso e a porção do carcinoma. Masson, objetiva de 20x.

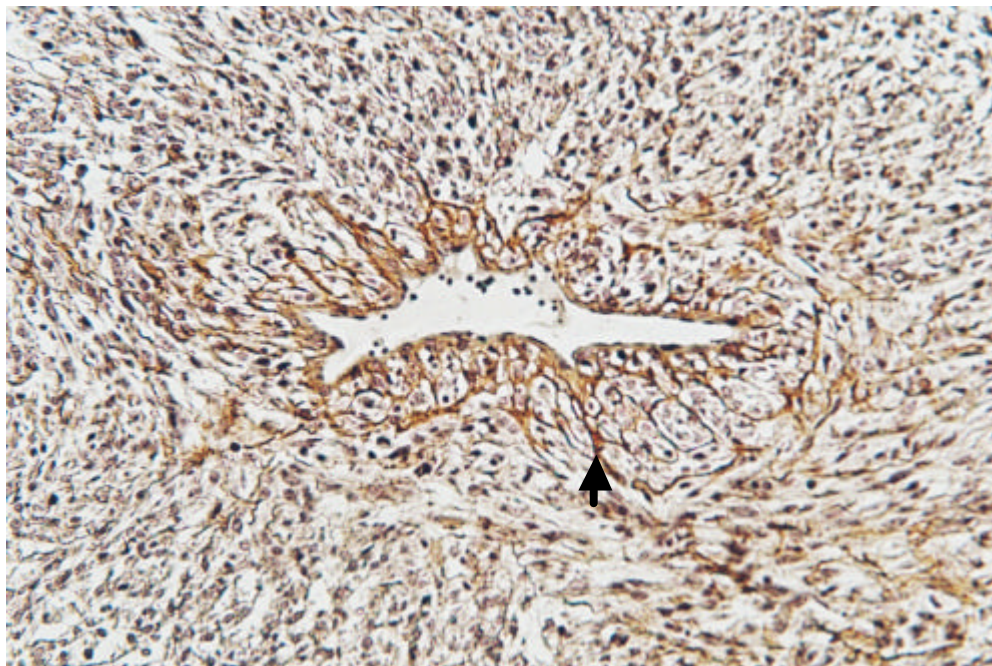


Figura 34. Cadela, SRD, 15 anos, mama torácica caudal direita. Fibrossarcoma. Observar fibras reticulares coradas em negro ou castanho ao redor das células neoplásicas (seta). Gomori, objetiva de 20x.

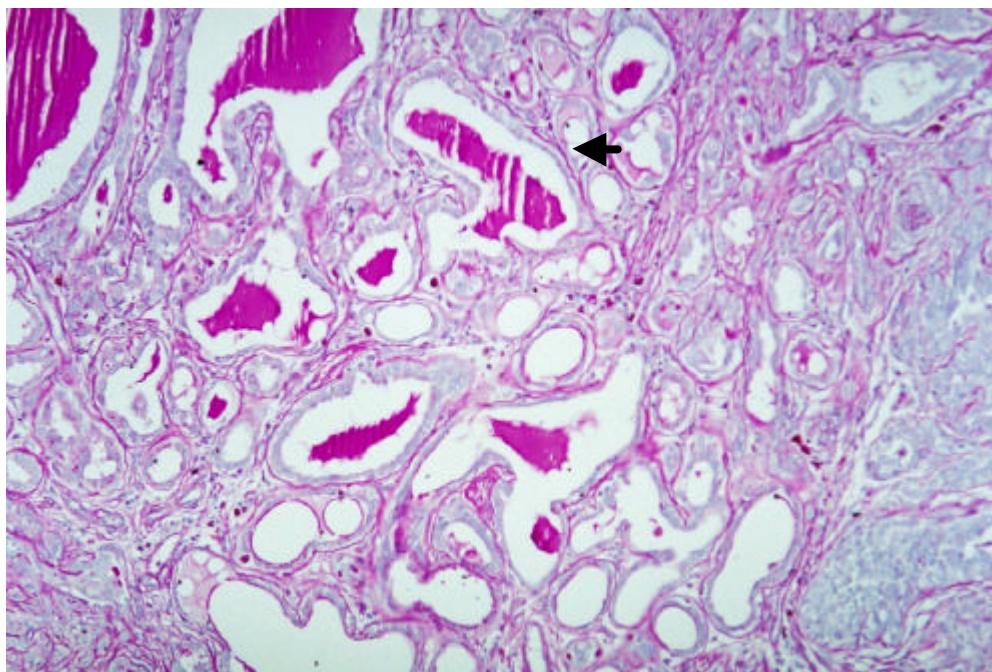


Figura 35. Cadela, SRD, 10 anos, mama abdominal caudal esquerda. Carcinoma metaplásico. Coloração positiva na membrana basal dos ductos dilatados (seta) e no material dentro de alguns deles. PAS, objetiva de 10x.

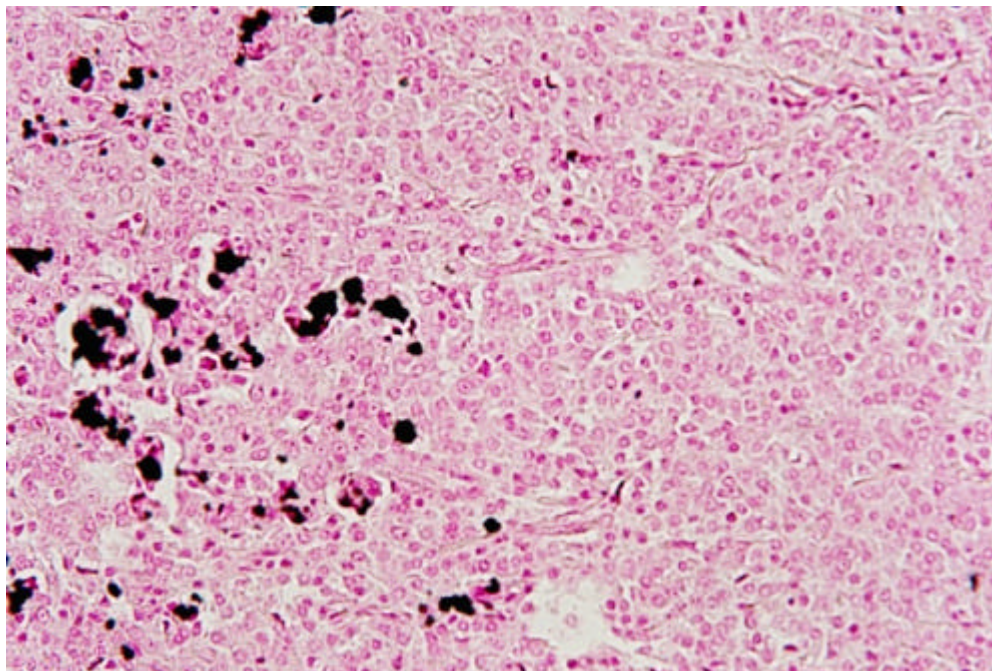


Figura 36. Cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Carcinoma com diferenciação neuro-endócrina. Material calcificado corado em negro. Von Kossa, objetiva de 20x.

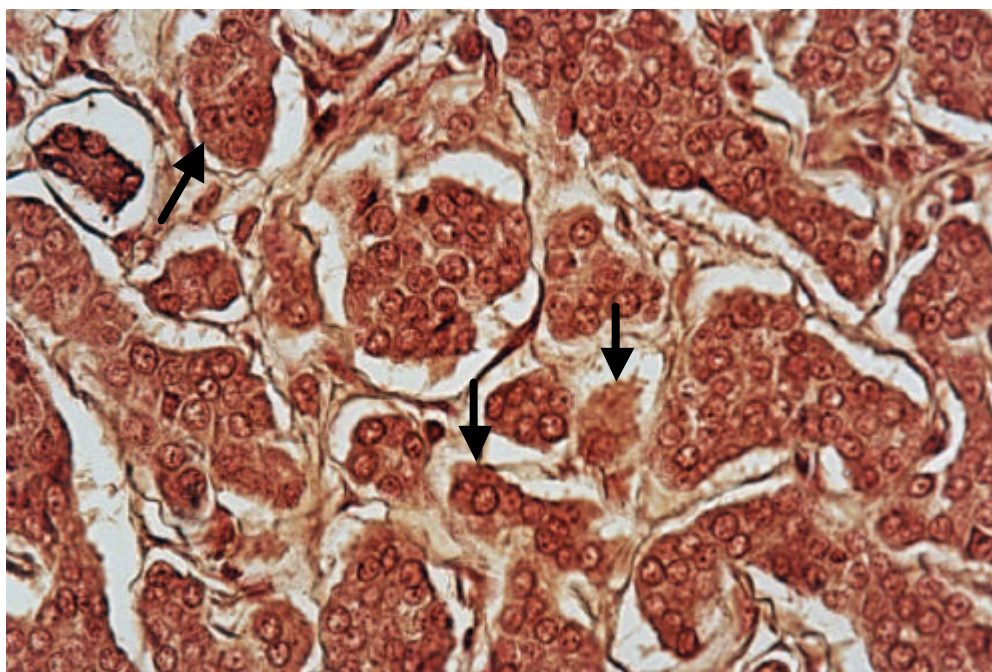


Figura 37. Cadela, Fox, 12 anos, mama abdominal cranial esquerda. Carcinoma neuroendócrino. Notar granulação de cor marrom no citoplasma das células neoplásicas (setas). Grimelius, objetiva de 40x.

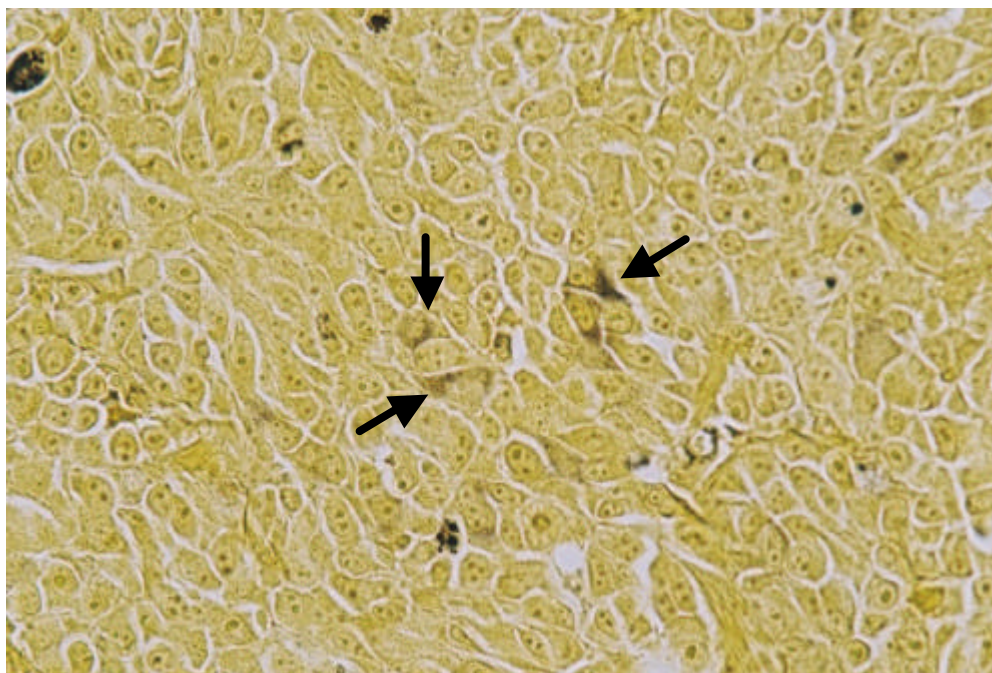


Figura 38. Cadela, SRD, 9 anos, mama torácica cranial esquerda. Melanoma melanótico. Verificar pigmento melânico acinzentado no citoplasma das células (setas). Fontana Massom, objetiva de 40x.

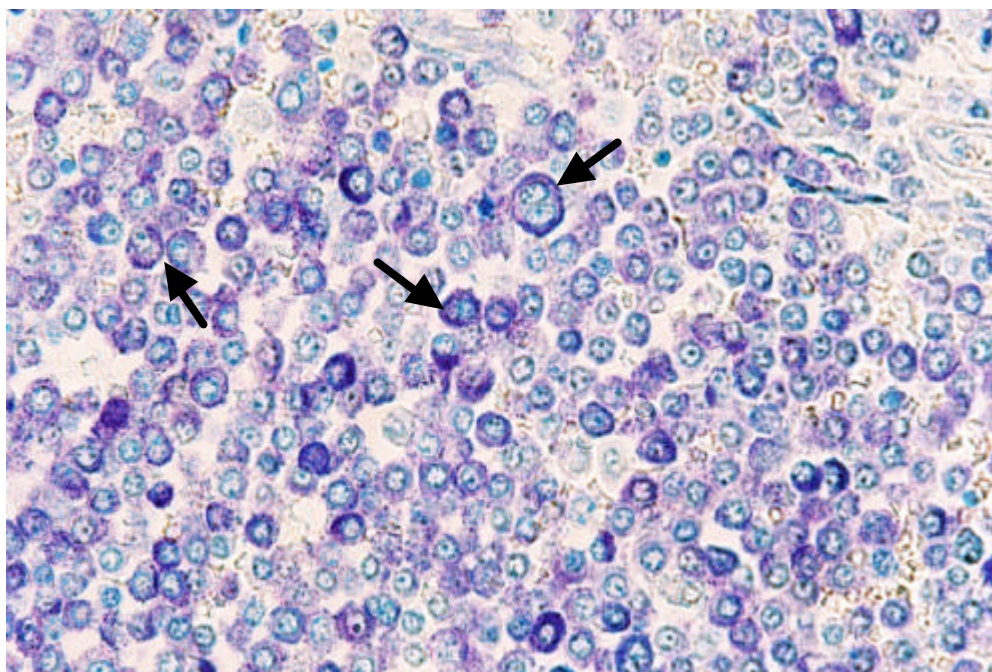


Figura 39. Cadela, SRD, 10 anos, mama abdominal caudal esquerda. Mastocitoma grau III. Observar granulação metacromática no citoplasma das células neoplásicas (setas). Azul de Toluidina, objetiva de 40x.

5.3. Dados Epidemiológicos dos Cânceres Mamários

Os dados epidemiológicos referentes à idade, raça, peso, porte físico, alimentação, número de partos, ocorrência de pseudogestação, uso de anticoncepcional, e características do cio dos animais do presente estudo podem ser analisados nas Tabelas 11 e 12.

A idade mínima e máxima dos animais foi de três e 16 anos respectivamente, com média de $9,5 \pm 3,1$ anos. Das 32 cadelas, 21 (65,63%) estavam entre os seis e os 11 anos, oito (25%) entre os 12 e 16 e três (9,37%) entre os três e cinco anos de idade (Tabela 12).

Animais sem raça definida totalizaram 22 (68,75%) fêmeas, da raça Fox cinco (15,63%) cadelas; duas (6,25%) Poodles e as raças Pinscher, Pastor Belga e Labrador, um (3,13%) representante cada (Tabela 11).

O peso máximo dos cães foi 35 e o mínimo cinco kg, com média de $13,8 \pm 8,7$ kg; sendo seis animais (18,75%) de grande porte, 14 (43,75%) de médio e 12 (37,5%) de pequeno porte. Em relação à compleição dos animais quatro (12,5%) apresentaram-se magros, 21 (65,62%) com estado geral normal e sete (21,88%) eram obesos (Tabelas 11 e 12).

O tipo de alimento consumido pelos animais ficou restrito a duas categorias; cadelas que consumiam apenas comida caseira, com nove casos (28,12%) e aquelas que eram alimentadas com ração e comida caseira somando 23 (71,88%) fêmeas. Não havendo portanto nenhuma que consumisse apenas ração (Tabela 11).

O número médio de partos por animal foi $1,7 \pm 1,9$, sendo o número máximo sete e o mínimo zero; 23 (71,88%) cadelas haviam dado cria pelo menos uma vez e nove (28,12%) eram nulíparas (Tabelas 11 e 12). Ainda em relação aos caracteres reprodutivos sete (21,88%) e 25 (78,12%) animais apresentaram ou não episódios de pseudogestação respectivamente. Fármacos contraceptivos injetáveis ou orais foram utilizados em 15 (46,88%), restando 17 cadelas (53,12%) que nunca haviam sido tratadas com anticoncepcionais. A maioria das fêmeas caninas; 29 (90,62%) apresentaram ciclos estrais de forma regular, ao passo que em três (9,38%) foram detectados cios irregulares (Tabela 11).

Tabela 11 – Características dos 32 animais em estudo, no período de seguimento de 02/1999 a 11/2003, no Hospital Veterinário da UNIMAR.

Categoria	Valor	Frequência	Freq.%	Total (n)
Gênero	Fêmea	32	100	32
Raça	SRD	22	68,75	32
	Fox	5	15,63	
	Poodle	2	6,25	
	Pinscher	1	3,13	
	Pastor Belga	1	3,13	
	Labrador	1	3,13	
Porte	Grande	6	18,75	32
	Médio	14	43,75	
	Pequeno	12	37,5	
Estado Geral	Magro	4	12,5	32
	Normal	21	65,62	
	Obeso	7	21,88	
Alimentação	Comida caseira	9	28,12	32
	Ração e Comida caseira	23	71,88	
Parto	Sim	23	71,88	32
	Não	9	28,12	
Pseudogestação	Sim	7	21,88	32
	Não	25	78,12	
Anticoncepcional	Sim	15	46,88	32
	Não	17	53,12	
Cio regular	Sim	29	90,62	32
	Não	3	9,38	

Tabela 12 – Idade, peso e parto dos 32 animais portadores de tumores atendidos no Hospital Veterinário da UNIMAR.

Variável	n	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	32	9,5	3,1	9,5	3	16
Peso (kg)	32	13,8	8,7	10,5	5	35
Parto	32	1,7	1,9	1	0	7

Nos 32 animais estudados foram catalogadas 107 mamas acometidas por neoplasias; dessas 46 (43,50%) foram processadas e analisadas pelos exames cito e histopatológicos.

A distribuição e a localização das neoplasias mamárias podem ser observadas na Figura 40. A maior parte dos animais, 22 (68,75%) apresentou comprometimento multicêntrico das mamas, havendo 10 animais (31,25%) com envolvimento de apenas uma glândula.

A frequência de tumores segundo a posição das glândulas; esquerda ou direita, foi de 50 (46,7%) e 57 (53,3%) respectivamente, com diferença não-significativa entre o lado de acometimento.

Na Tabela 13, observa-se uma diferença significativa em relação a localização dos tumores segundo as mamas caudais (M3+M4+M5) em relação às craniais (M1+M2), respectivamente 83 em 107 (77,6%) para 24 em 107 (22,4%), proporcionando uma diferença de 55,2% a mais de cânceres nas mamas caudais.

Tabela 13 – Distribuição dos tumores segundo as mamas craniais* e as caudais

Mamas	N	%
M1+M2	24	22,4
M3+M4+M5	83	77,6
Total	107	100

* - craniais (M1+M2); caudais (M3+M4+M5).

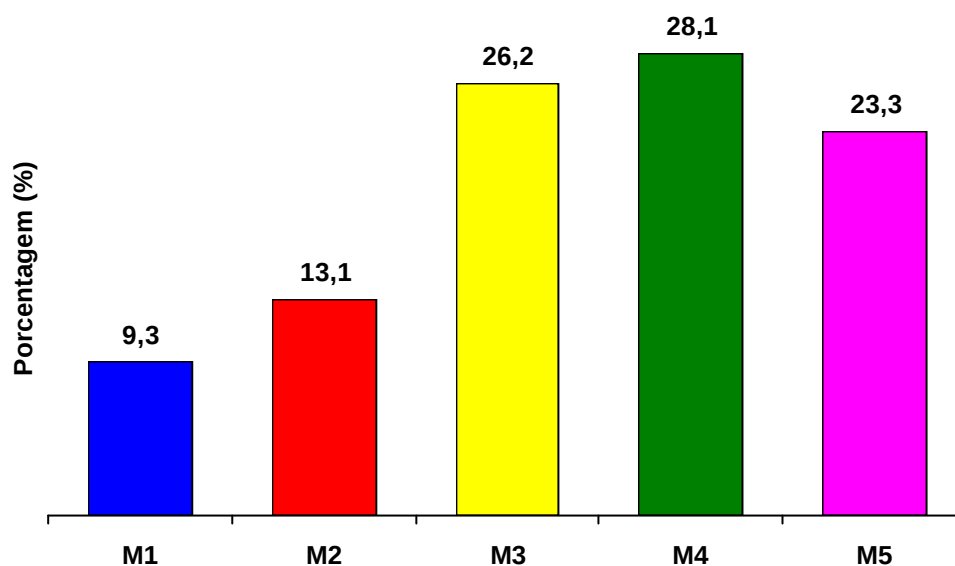


Figura 40. Frequência em porcentagem das mamas acometidas.

5.4. Estadiamento do Câncer Mamário

O estadiamento de cada animal pode ser observado no Apêndice 6. O resumo da frequência de cada estágio, bem como a sua porcentagem, estão descritas na Tabela 14.

Dos 32 animais, nove (28,12%) foram classificados como estágio IV; 13 (40,62%) como IIIB, um (3,13%) como IIIA, três (9,38%) como IIB e seis (18,75%) cadelas no IIA (Tabela 14; Figura 40 - 41).

Tabela 14 – Características dos 32 animais em estudo, no período de seguimento de 02/99 a 11/03, no Hospital Veterinário da UNIMAR.

Categoria	Valor	Frequência	Freq. %	Total (n)
Gênero	Fêmea	32	100	32
TNM	Estágio IIA	6	18,75	32
	Estágio IIB	3	9,38	
	Estágio IIIA	1	3,13	
	Estágio IIIB	13	40,62	
	Estágio IV	9	28,12	



Figura 41. Cadela portadora de neoplasia maligna de mama; classificação TNM IIIB. Notar massa ulcerada na mama inguinal esquerda (seta).

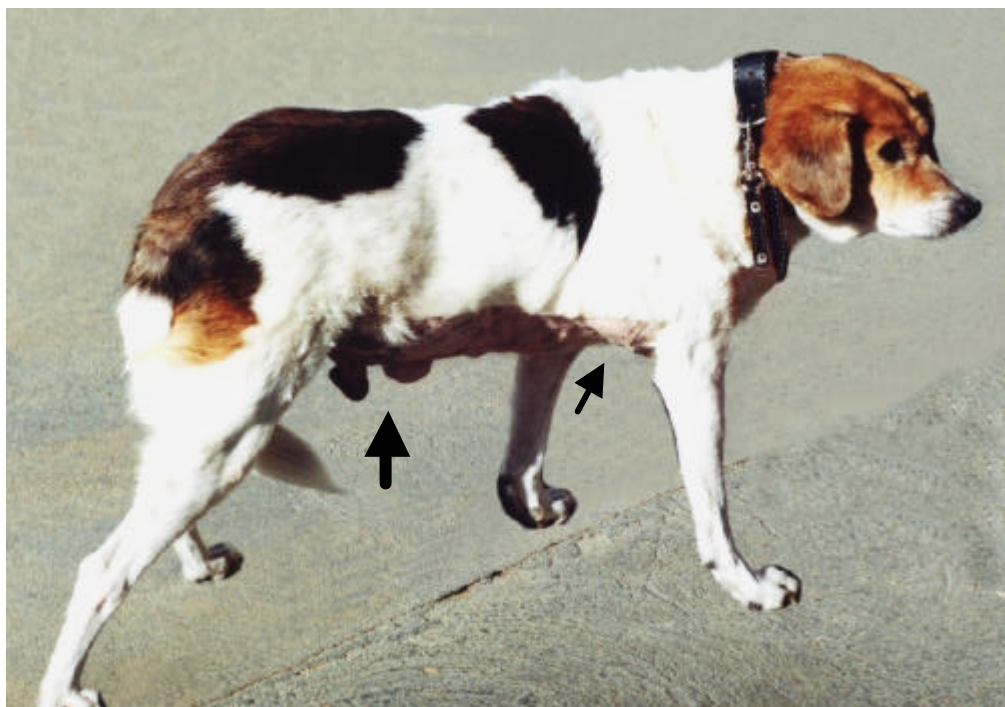


Figura 42. Cadela portadora de neoplasia maligna de mama. Notar os aumentos de volume das mamas (seta larga) e o aumento do linfonodo axilar direito (seta fina); classificação TNM IV.

5.5. Análise de Sobrevida dos Animais

As figuras 43, 44, 45 e 46, foram elaboradas utilizando-se o método de Kaplan-Meier que analisou os seguintes resultados: diagnóstico histopatológico, estagiamento dos tumores, tempo de evolução pós-cirúrgico e do status do animal após o segmento (Apêndice 7).

5.5.1. Tempo de sobrevida

Na Figura 43 pode ser observada a curva de sobrevivência para o grupo em estudo como um todo. O valor mediano de sobrevida para o grupo foi de 16,0 meses (erro-padrão (EP) = 8,4 meses; IC 95% = [0,0 ; 32,5]); e dos 32 animais em estudo 18 (56,2%) foram a óbito ou foram submetidos à eutanásia e 14 (43,8%) sobreviveram.

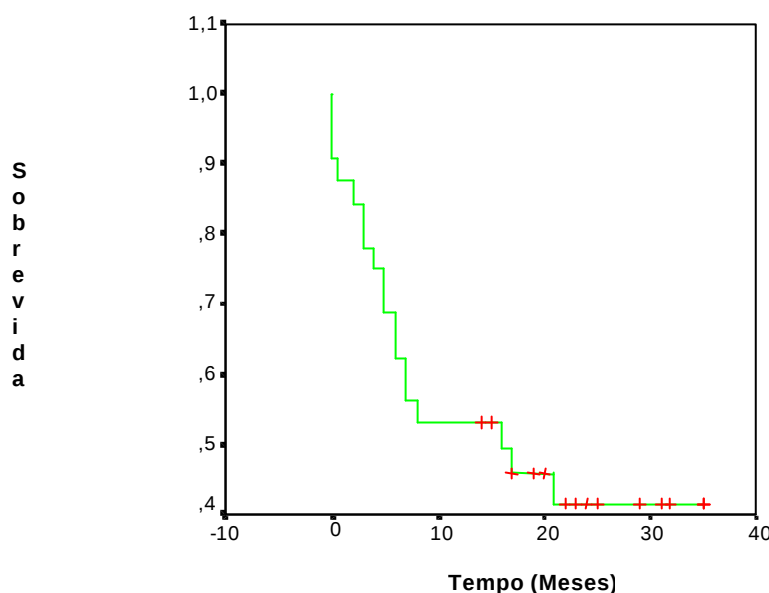


Figura 43 – Sobrevida dos animais com neoplasias malignas, sem levar em consideração o estágio do tumor, HV UNIMAR, Marília, Brasil, 02/1999 a 11/2003.

Agrupando-se os indivíduos de acordo com o estágio do tumor, obteve-se três grupos: grupo dois = estágios IIA+IIB, grupo três = estágios IIIA+IIIB e grupo quatro = estágio IV.

Na figura 44 para o grupo dois, estágio IIA+IIB, verificou-se que em três dos nove animais (33,3%) ocorreu o óbito (evento) e seis sobreviveram (66,7%). O tempo médio de sobrevida foi de 25,3 meses (EP = 4,5 meses; IC 95% = [16,4 ; 34,3]) e tempo mediano indeterminado.

Considerando-se o grupo três, estágio IIIA +IIIB, ocorreu o óbito de sete do total de 14 animais (50,0%) e sobreviveram sete (50,0%). Obteve-se um tempo médio de sobrevida de 20,6 meses (EP = 4,0 meses; IC 95% = [12,8 ; 28,4]) e um tempo de sobrevida mediano de 21,0 meses (Figura 44).

No grupo quatro, estágio IV, ocorreu o evento para oito de nove (88,9%) cadelas, tendo sobrevivido um animal (11,1%). O tempo de sobrevida médio foi de 7,4 meses (EP= 2,5 meses; IC 95% = [2,4 ; 12,4]) com um tempo mediano de sobrevida de 5,0 meses (EP= 1.56 meses; IC 95%=[2,1 ; 7,9]) (Figura 44).

Por meio do teste *log rank* evidenciou-se diferença significativa entre os estágios dos tumores ($\chi^2 = 7,14$, gl= 2, p= 0,028), o que se pode constatar na Figura 44, na qual estão indicados os piores valores de sobrevida mediana para os indivíduos com tumores no estágio IV, 5,0 meses em relação aos dos demais estágios, respectivamente, e para os outros dois estágios a diferença não é significativa.

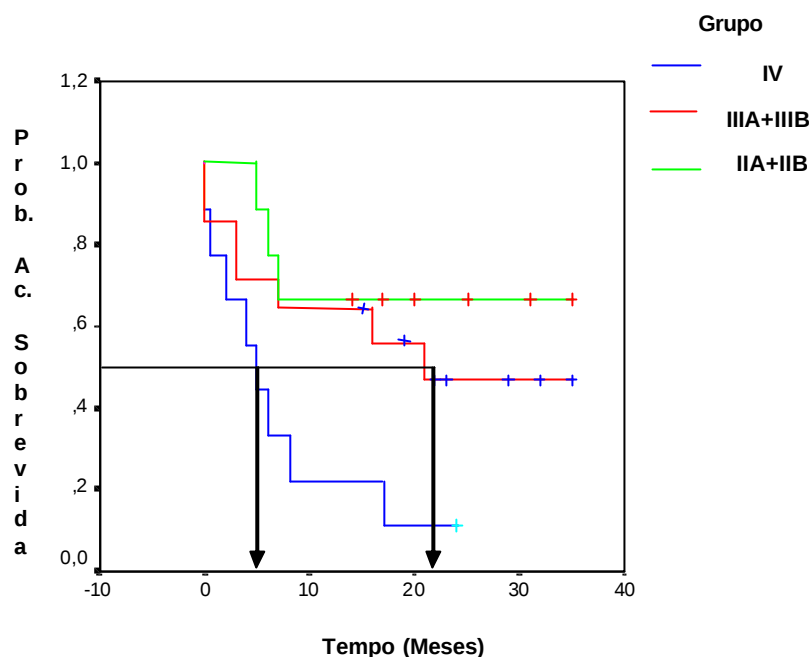


Figura 44 – Sobrevida dos animais com neoplasias malignas, segundo o Grupo (2 = Estágio IIA+IIB, 3=Estágio IIIA+IIIB e 4 = Estágio IV), HV UNIMAR, Marília, Brasil, 02/1999 a 11/2003.

5.5.2. Complemento do tempo de sobrevida dos animais com neoplasias malignas

Para os animais do grupo dois (estágios IIA+IIB) nota-se que, aos cinco primeiros meses após a cirurgia, 88,9% estavam livres do óbito e 9,1% tinham probabilidade de morrer (Figura 45).

A partir dos seis meses 77,8% estavam livres do evento e 12,2% tinham probabilidade de morrer dentro desse período.

A partir dos sete meses pós-cirúrgicos 66,7% estavam livres (Figura 45).

No grupo três (IIIA+IIIB), antes do término do primeiro mês de seguimento, 85,7% dos animais estavam livres da possibilidade de morte, ou seja, 14,3% tinham probabilidade de morrer no primeiro mês após a cirurgia, aos três meses 71,4% estavam livres e 28,6% poderiam ir a óbito, aos sete meses 64,3% viveriam e 35,7% tinham probabilidade de morrer, aos 16 meses 56,3% estavam

livres e 43,4% tinham probabilidade de morrer e a partir dos 21 meses 46,9% livres e 53,1% tinham probabilidade de morrer 21 meses após a mastectomia (Figura 45).

No grupo quatro (IV), antes do término da metade do primeiro mês após a cirurgia estavam livres de morte 88,9% dos animais, ou seja, 11,1% tinham probabilidade de morrer, ao término da primeira metade do primeiro mês após a retirada das mamas 77,8% dos animais estavam livres do evento morte com 22,2% podendo morrer, aos dois meses após a cirurgia verificou-se a probabilidade de 66,7% dos animais estarem livres do evento de morte com 33,3% podendo vir a óbito, aos quatro meses 55,6% livres e 44,4% de possibilidade de óbito, aos cinco meses após a retirada das neoplasias 44,4% dos animais encontravam-se livres da morte (55,6% - óbito), aos seis meses 33,3% livres do evento morte (66,7% - óbito), aos oito meses da cirurgia 22,2% estavam livres do evento morte (77,8% - óbito) e a partir dos 17 meses 11,1% estavam livres do evento morte (88,9% - óbito) (Figura 45).

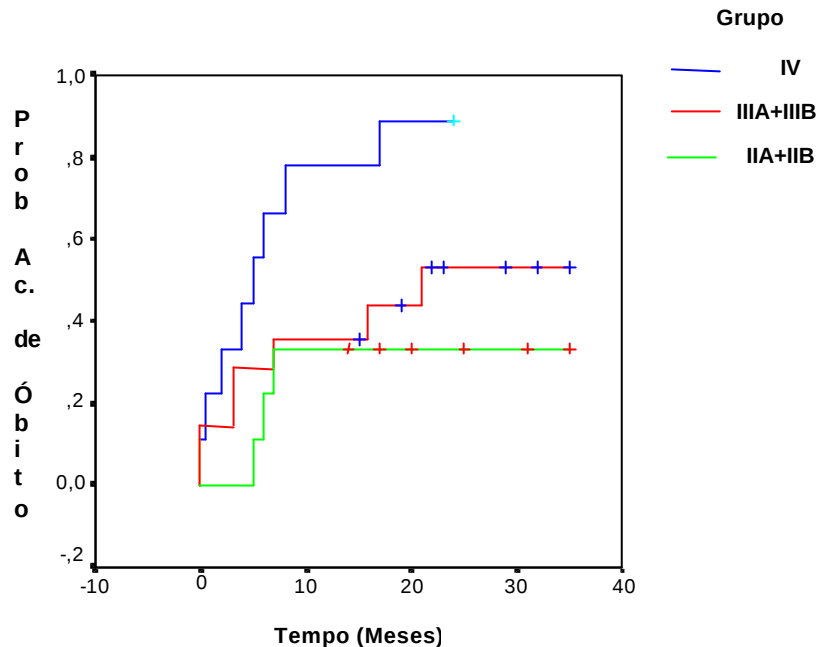


Figura 45 – Complemento do tempo de sobrevivência dos animais com neoplasias malignas, segundo o Grupo (2 = Estágio IIA+IIB, 3=Estágio IIIA+IIIB e 4 = Estágio IV), HV UNIMAR, Marília, Brasil, 02/1999 a 11/2003.

5.5.3. Risco acumulado de morte

Nos animais do grupo dois (IIA+IIB) o risco acumulado de morte aos cinco meses após a cirurgia foi de 11,8%, aos seis meses 25,1% e a partir do sétimo mês 40,5% (Figura 46).

Nos animais do grupo três (IIIA+IIIB), o risco acumulado de morte antes do término do primeiro mês foi de 15,4%, aos três meses 33,6%, dos sete meses aos 15 foi de 44,2%, dos 16 aos 19 meses 57,5% e a partir dos 21 meses 75,8% (Figura 46).

Nos animais do grupo quatro (IV), o risco acumulado de morte antes de terminar a primeira quinzena após a cirurgia foi de 11,8%, ao término da primeira quinzena 25,1%, após dois meses 40,5%, após quatro meses 58,8%, no término do quinto mês 81,1%, aos seis meses 109,9%, aos oito meses 150,4% e a partir do 17º mês, 219,7% (Figura 46).

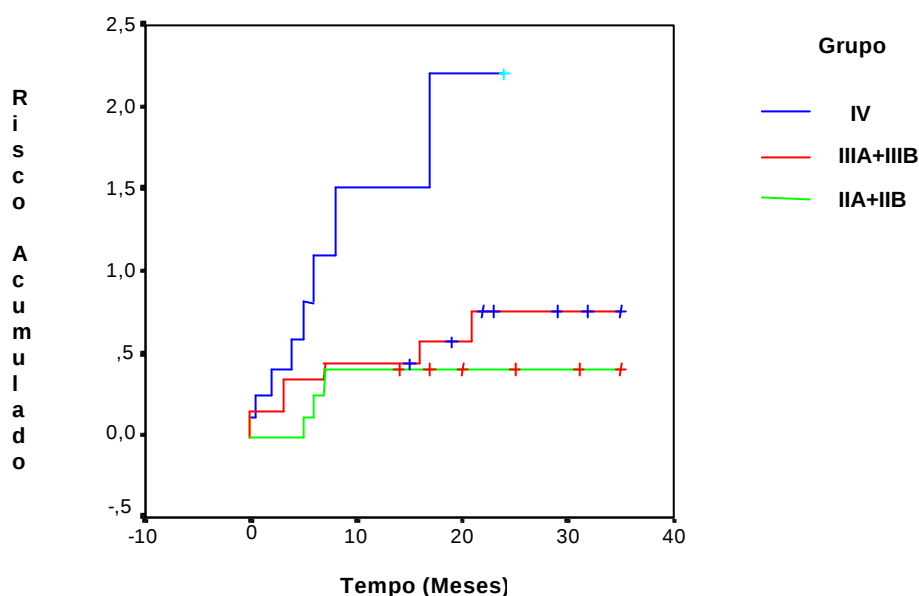


Figura 46 – Risco acumulado de morte dos animais com neoplasias malignas, segundo o Grupo (2 = Estágio IIA+IIB, 3=Estágio IIIA+IIIB e 4 = Estágio IV), HV UNIMAR, Marília, Brasil, 02/1999 a 11/2003.

A correlação entre o diagnóstico histopatológico e a evolução dos casos, pode ser observada na Tabela 15.

O tempo de sobrevida médio não consta na Tabela 15 em virtude da casuística obtida em alguns diagnósticos, não havendo dessa forma a possibilidade do cálculo da sobrevida média.

Tabela 15. Correlação entre o diagnóstico histopatológico e a evolução dos casos.

Diagnóstico	N	Vivo	Óbito	Eutanasiado
Ca. Sólido Infiltrativo	5 (15,63)**	2*	2	1
Ca. Complexo	5 (15,63)	3	1	1
Ca Epidermóide	3 (9,37)	2	1	0
Fibrossarcoma	3 (9,37)	0	3	0
Ca Tubulopapilar In Situ	3 (9,37)	3	0	0
Ca Tubulopapilar Infiltrativo	2 (6,25)	1	1	0
Ca. de Células Fusiformes	2 (6,25)	0	1	1
Melanoma Melanótico	2 (6,25)	1	0	1
Osteossarcoma	2 (6,25)	0	2	0
Ca. Anaplásico	2 (6,25)	0	0	2
Carcinossarcoma	1 (3,13)	0	0	1
Ca. Neuroendócrino	1 (3,13)	1	0	0
Hemangioossarcoma	1 (3,13)	1	0	0
Total	32 (100)	14 (43,75)	11 (34,37)	7 (21,88)

* - Um animal com metástase em linfonodo axilar

** - Valores entre parênteses representam a porcentagem (%)

6. DISCUSSÃO

O protocolo adotado por nós apresenta algumas modificações em relação aos descritos por Gobbi *et al.* (1993) e Cassali *et al.* (1998). Com essas modificações foi possível reunir o maior número possível de informações referentes à definição do TNM clínico, citopatológico, histopatológico, a orientação terapêutica e prognósticos adequados (HATAKA *et al.*, 2003).

A utilização simultânea de duas técnicas de coloração neste trabalho, triou os cânceres de mama (Giemsa) e evidenciou os critérios celulares de malignidade (Shorr). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Kurman & Solomon (1994), McKee (1997); Zakhour & Wells (1999); Raskin & Meyer (2003) e Vassalo (2003).

Não houve dificuldade na obtenção de material das lesões, mesmo quando se tratava de neoplasias mesenquimais. Para tal, foi utilizada agulha hipodérmica 30x8 mm associada a uma movimentação mais vigorosa no momento da colheita. Assim a quantidade e a qualidade do material foram adequadas para o diagnóstico.

A CAAF tem sido utilizada como excelente ferramenta no diagnóstico de doenças na mama da mulher e da cadela (CASSALI *et al.*, 1998, CASSALI, 2000; McKEE *et al.*, 2001, BURINI, 2002). O exame atinge altos níveis de acurácia no diagnóstico dos tumores de mama (ARISIO, 1998, CASSALI *et al.*, 1998, YOUNG *et al.*, 2002). Além disso, esse procedimento é considerado barato, de fácil e rápida execução, sem complicações e riscos para o paciente; desde que, realizado por pessoa tecnicamente habilitada (MAGALHÃES, 1998, ROCHA, 1998ab, CASSALI, 2000, McKEE *et al.*, 2001). Realmente, no nosso trabalho, nas cadelas submetidas a CAAF não houve complicações decorrentes do procedimento; mesmo naqueles com a presença de massas acima de cinco centímetros, nos quais o processo foi realizado mais de uma vez, em diferentes locais da neoplasia, a fim de se colher amostra representativa. Em alguns casos houve discreta hemorragia no local da punção, decorrente da perfuração vascular pela agulha, porém esse fato foi facilmente solucionado com a aplicação de pressão digital no local, usando algodão embebido em álcool iodado. Além disso, as neoplasias dos animais que participaram deste trabalho foram diagnosticadas com o uso da CAAF, o que permitiu selecionar os processos neoplásicos malignos.

Neste trabalho os diagnósticos citopatológicos das neoplasias primárias da mama a exemplo dos carcinomas e sarcomas foram bem caracterizados conforme relataram os autores Carvalho (1993), Dabbs & Silverman (1994), Silverman (1996) e Zakhour & Wells (1999). Além disso, outros tumores como melanoma melanótico e mastocitoma de grau III também foram possíveis de serem diagnosticados. Em vista disso, informações importantes ao clínico ou cirurgião, possibilitando a esses profissionais o delineamento da melhor estratégia terapêutica ou cirúrgica para cada caso.

Atualmente na literatura científica não se dispõe de um protocolo quimioterápico e radioterápico eficiente para o tratamento de câncer de mama na cadela. Em vista disso, o procedimento cirúrgico continua sendo o tratamento de eleição para essas pacientes, exceto para as cadelas com carcinoma inflamatório ou nos casos em que ocorreu aparecimento de metástase (Mac EWEN & WITHROW, 1996; MISDORP, 2002). Nosso estudo está de acordo com estas citações já que todas as cadelas que receberam diagnósticos citológicos de neoplasia, a excisão cirúrgica foi à escolhida.

No Brasil em três estudos anteriores os quais correlacionaram o exame citológico de tumores de mama em cadelas com o respectivo histopatológico (MAGALHÃES, 1998; ZUCCARI, 1999; CASSALI, 2000), apenas um desses trabalhos não relatou a eficiência do método citológico para o diagnóstico do câncer de mama nas cadelas. Assim, no presente trabalho, de maneira similar aos resultados de Zuccari (1999) e Cassali (2000) nos exames citológicos não ocorreram quaisquer dificuldades no diagnóstico e esta afirmação pôde ser confirmada pelo exame histopatológico.

Ao longo dos anos o meio científico veterinário, a exemplo dos patologistas vêm tentando estabelecer uma nomenclatura baseada na morfologia tecidual do tumor de mama na cadela. Em virtude da ampla variabilidade na nomenclatura dessas neoplasias; vários estudos têm sido desenvolvidos para minimizar as controvérsias (STRANDBERG & GOODMAN, 1974). Apesar dos progressos alcançados na uniformização deste fenômeno biológico ainda existe polêmica no assunto. Atualmente os especialistas veterinários nessa área têm apontado para uma nomenclatura comparativa, utilizando a mulher como o padrão, visto que estudos nessa espécie estão bem avançados (NERURKAR *et al.*, 1989; SCHMITT, 1994; GOBBI *et al.*, 1993; PELETEIRO, 1994; SILVERMAN, 1996; ROSEN &

OBERMAN, 1993; BAKER & LUMSDEN, 1999; GUPTA, 1999; CASSALI, 2000; ZUCCARI *et al.*, 2001; CATROPPO & LARA, 2001, BARTOW, 2002). No presente estudo as mesmas dificuldades encontradas por esses autores também foram constatadas nas neoplasias: carcinoma complexo e carcinossarcoma.

Para Misdorp (2002) tumor complexo e carcinossarcoma são entidades distintas. Porém este mesmo autor se contradiz quando sugere que nos tumores complexos a provável origem das células neoplásicas seja a célula mioepitelial. Seguindo esse raciocínio, os carcinossarcomas seriam o tumor complexo em um estágio mais avançado, visto que nos estudos realizados por Gärtner *et al.*, (1999) há evidências que o tecido cartilaginoso formado nos tumores mistos (carcinossarcomas segundo Misdorp, 2002) derivem das células mioepiteliais.

Neste trabalho não houve dificuldade em aplicar a nomenclatura humana nos tumores das cadelas; os mesmos tipos histológicos foram encontrados na espécie humana e canina, a variação ocorreu apenas na frequência dos casos, conforme já descrito. Dados semelhantes foram observados por Cassali (2000). Em nossos resultados foi diagnosticado tipo histológico ainda não descrito na cadela, como o carcinoma com diferenciação neuro-endócrina. Para confirmação da histogênese desse tumor foram realizadas a coloração específica de Grimelius (grânulos argentafins) e imunoistoquímica (cromogranina e sinaptofisina). Além disso, identificamos neoplasia pouco descrita na prática veterinária, a exemplo do carcinoma inflamatório. Cassali *et al.*, (2002) também diagnosticaram entidades ainda não descritas na literatura científica veterinária a exemplo do carcinoma micropapilar invasivo.

A distribuição das neoplasias de mama nas cadelas tem recebido grande atenção dos pesquisadores, os quais demonstram que a frequência maior dos cânceres está nas mamas abdominais e inguinais, sem explicações condizentes para tais acontecimentos (MOULTON, 1990; MAC EWEN & WITHROW, 1996; FONSECA, 1999; BURINI, 2002; FERREIRA & CASSALI, 2003). As cadelas utilizadas nesse estudo apresentaram 77,6% de tumores de mama nas abdominais e inguinais, corroborando essas informações. Quanto ao envolvimento das mamas pelas neoplasias, em nosso estudo, houve frequência de 68,75% das cadelas com tumores multicêntricos, ou seja mais de uma mama acometida ao mesmo tempo, e 31,25% dos animais apresentaram apenas uma mama afetada. Moulton, (1990) refere o acometimento múltiplo em 50% dos casos.

A idade do animal, o diagnóstico histopatológico associados ao TNM clínico são de fundamental importância para a conduta terapêutica e prognóstico do câncer de mama na cadela, entretanto pouco explorado no meio veterinário (YAMAGAMI *et al.*, 1996; PINOTTI & TEIXEIRA, 2000; ABREU & KOIFMAN, 2002; BURINI, 2002; HATAKA *et al.*, 2002; MISDORP, 2002). Neste trabalho predominaram cadelas com câncer de mama com idade entre os 9 e 15 anos (65,6%), o que corresponde na mulher faixa etária entre 52 a 76 anos, idade na qual a frequência do tumor de mama aumenta (LEBEAU, 1953; STRANDBERG & GOODMAN, 1974; MOULTON, 1990; Mac EWEN & WITHROW, 1996; BENJAMIN *et al.*, 1999; ZUCCARI, 1999; BURINI, 2002; FERREIRA & CASSALI, 2003).

Estudos realizados no Brasil indicam que os tumores de mama ocorrem mais frequentemente em cadelas SRD, isso se deve ao fato de haver o predomínio de cães mestiços em nosso país (FONSECA, 1999; ZUCCARI, 1999; FERREIRA & CASSALI, 2003). Nossos resultados (68,75% de animais SRD), estão de acordo com esses dados. Em Portugal cadelas SRD também são maioria, não havendo relação entre neoplasias de mama e raça (PELETEIRO, 1994). Entretanto, trabalhos realizados nos Estados Unidos revelam maior incidência para algumas raças como: Poodle, Labrador, Setter Inglês, Cocker Spaniel, Setter Irlandês, Retrievers, Pointers, Fox Terrier, Boston Terrier, Yorkshire Terrier, Maltês e Dachshunds (ELSE & HANNANT, 1979; MOULTON, 1990; Mac EWEN & WITHROW, 1996). No Japão em estudo realizado com 175 animais, as raças mais frequentes foram: Maltês, animais SRD, Yorkshire Terrier e Poodle (YAMAGAMI *et al.*, 1996).

A frequência de neoplasias mamárias em cadelas de diferentes compleições foi avaliada por este estudo, houve uma equivalência do número de casos para animais de pequenos (12 – 37,5%) e médio porte (14 – 43,75%), e animais de grande porte, durante o período do estudo, foram notadamente menos acometidos contando com seis casos (18,75%). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Else & Hannant, (1979), que obtiveram, respectivamente, frequência de 41,3%, 31,2% e 27,5% para fêmeas de pequeno, médio e grande porte.

A obesidade não foi frequente neste estudo, houve sete casos (21,88%), contrastando com os dados de Burini, (2002) que detectou 83% de obesos, sendo 67% desses hipercolesterolêmicos. Animais de escore corporal normal foram os que prevaleceram neste estudo (21 - 65,62%). A obesidade no primeiro ano de vida e ainda um ano antes da realização do diagnóstico tem relação significativa com maior

prevalência de displasias e neoplasias de mama nos caninos (PEREZ ALENZA, *et al.*, 1998). A dieta dos animais em 72% (23) dos casos foi constituída de ração e comida caseira. Resultados semelhantes foram obtidos por Burini (2002) nos quais prevaleceram cadelas com o mesmo tipo de alimentação. A alimentação a base de comida caseira, com alto teor de carne vermelha, especialmente bovina e suína, e baixa quantidade de frango comparadas ao consumo de apenas ração também foram relacionadas de forma significativa às neoplasias de mama (PEREZ ALENZA, *et al.*, 1998).

As alterações relativas ao sistema reprodutor dos animais não parecem ter alguma relação com as neoplasias, visto que a maioria dos proprietários não observou alterações importantes sobre esse aspecto. O uso de contraceptivos esteve presente em 46,88% das cadelas. O uso de progesterona ou progestinas sintéticas induz o desenvolvimento lobuloalveolar total da mama, com hiperplasia dos elementos secretores e mioepiteliais, ao passo que o estradiol estimula o crescimento ductal (MacEWEN & WITHROW, 1996; BRUUN, 1997).

Com relação ao comportamento biológico, os carcinomas sólidos infiltrativos nas cadelas apresentaram o pior prognóstico, como se pôde observar pelo tempo de sobrevida (12,8 meses), fato semelhante é observado na mulher (ABREU & KOIFMAN, 2002). A classificação TNM revelou a maior parte dos animais classificados nos estágios III (43,75%) e IV (28,13%). A análise de sobrevida revelou menor tempo de sobrevida para as cadelas do estágio IV (7,5 meses), quando comparadas com as do estágio II (25 meses). Após 17 meses da cirurgia animais do estágio IV apresentaram o risco acumulado de morte de 220%.

Desse modo, o diagnóstico do tipo histológico da neoplasia de mama na cadela junto com o estagiamento clínico, conforme foi demonstrado neste trabalho são fatores prognósticos efetivos que podem ser utilizados sem gerar ônus, melhorando a qualidade do serviço e a interação entre os setores de clínica, cirurgia e patologia veterinária. Entretanto, novos estudos são necessários para se aumentar o número de diagnósticos de cada tipo de neoplasia com a finalidade de se obter os fatores prognósticos de relevância para cada uma dessas entidades.

7. CONCLUSÕES

- Os tipos citopatológico e histopatológico associados ao estadiamento clínico constituem fatores prognósticos para o câncer de mama da cadela.

- O diagnóstico citopatológico constitui um fator prognóstico quando realizado de forma adequada.

- O estadiamento clínico é uma metodologia simples que quando utilizada se constitui em fator prognóstico importante.

- A correlação dos padrões histológicos do câncer de mama entre as espécies humana e canina é possível e para algumas entidades há equivalência do comportamento biológico e dos fatores prognósticos.

- As técnicas histoquímicas auxiliam a caracterizar as estruturas teciduais das neoplasias, podendo selecionar materiais para provas mais específicas.

- O tempo médio de sobrevida para animais em estágio IV é significativamente menor que os dos cães em estágios II e III.

- Os dados epidemiológicos obtidos neste trabalho são semelhantes aos encontrados em estudos anteriores.

8. PERSPECTIVAS

Os resultados deste trabalho indicam as seguintes linhas de pesquisa para desenvolvimento futuro:

Aumentar o número de casos por diagnóstico a fim de se determinar o prognóstico para cada neoplasia e os fatores prognósticos de relevância para neoplasia de mama na cadela.

Investigar critérios mais sedimentados para o diagnóstico de carcinoma complexo e carcinossarcoma.

Utilização de marcadores imunoistoquímicos e imunocitoquímicos que possam funcionar como fatores prognósticos.

Averiguar a possibilidade do emprego de técnicas moleculares e mutagênicas em neoplasias de mama da cadela.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- ABREU, E., KOIFMAN, S. Fatores prognósticos no câncer de mama feminina. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, p.113-31, 2002.
- ARISIO, R., CUCCORESE, C., ACCINELLI, G. *et al.* Role of fine-needle aspiration biopsy in breast lesions: Analysis of a series of 4,110 cases. **Diagnostic Cytopathology**, v.18, p.462-7, 1998.
- ARMITAGE, P., BERRY, G. **Estadística para la investigación biomédica**. 3ed., Madrid: Harcourt Brace, 1997. 593p.
- BACCHI, C.E., DE ALMEIDA, P.C.C., FRANCO, M. **Manual de padronização de laudos histopatológicos**. São Paulo:Sociedade Brasileira de Patologia, 1995. p.219-40.
- 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.
- BANKS, W.J. **Histologia veterinária aplicada**. 2ed. São Paulo:Manole, 1991. p.405-10, 620.
- BARTOW, S.A. A mama. In:____. **Patologia**. 3ed., 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.
- BENJAMIN, S.A., LEE, A.C., SAUNDERS, W.J. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observartions in beagles. **Veterinary Pathology**, v.36, p.423-36, 1999.
- BREARLEY, M.J. Avanços na oncologia veterinária. **Apostila do 1º Seminário Internacional de Avanços na Medicina Veterinária de Pequenos Animais**. p. 10, São Paulo – Brasil, 1999.
- BRUUN, E.T. Oestrus control in the bitch with medroxyprogesterone acetate (MPA) and the prevalence of mammary tumours. **European Journal Companion Animal Practice**. v.7, p.59-63, 1997.

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.

- BURINI, C.H.P. Caracterização clínica, citopatológica e bioquímica do câncer mamário de cadelas sem raça definida. Botucatu - SP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2002. 164p. Dissertação de Mestrado – Área de Clínica Veterinária.
- BURKITT, H.G., YOUNG, B., HEATH, J.W. **Wheater histologia funcional**. 3ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1994. p.362-5.
- CARVALHO, G.C. **Citologia oncológica**. São Paulo: Atheneu, 1993. 290p.
- CASSALI, G.D., SERAKIDES, R., GÄRTNER, F. *et al.* Invasive micropapillary carcinoma of the dog mammary gland. A case report. **Arquivo Brasileira de Medicina Veterinarian e Zootecnia**, v.54, p.1-5, 2002.
- CASSALI, G.D. Estudo morfológico, imunoistoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – Aspectos comparativos com neoplasias da mama humana. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2000. 80p. Tese de Doutorado em Ciência Animal, Patologia.
- CASSALI, G.D., GOBBI, H., MALM, C. *et al.* Protocol for the examination of cytologic specimens obtained by fine needle aspiration biopsy (FNAB) of canine breast tumors. **Arquivo Brasileira de Medicina Veterinarian e Zootecnia**, v.50, p.473-4, 1998.
- CATROPPO, J.F., LARA, J.F. Metastatic metaplastic carcinoma of the breast (MCB): An uncharacteristic pattern of presentation with clinicopathologic correlation. **Diagnostic Cytopathology**, v.25, p.285-91, 2001.
- CONFEDERAÇÃO DO BRASIL KENNEL CLUBE (CBKC). **Manual de estrutura e dinâmica do cão**. s.1, 1987. p.113.
- COTRAN, R.S., KUMAR, V., COLLINS, T. **Robbins patologia estrutural e funcional**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 979-1002.
- COWELL, R.L., TYLER, R.D., MEINKOTH, J.H. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2ed. St. Louis: Mosby, 1999. p.90-2.
- CUSTÓDIO, M., CARNICELLI, P., HATAKA, A. *et al.* Diagnóstico citológico de tumor de mama em cadelas – Revisão. **Pet Food & Health & Care**, n.1, p.77-80, 2003.
- DABBS, D.J., SILVERMAN, J.F. Prognostic factors from the fine-needle aspirate: Breast carcinoma nuclear grade. **Diagnostic Cytopathology**, v.10, p.203-8, 1994.

- DAWSON, A.E. MULFORD, D.K., TAYLOR, A.S. *et al.* Breast carcinoma detection in women age 35 years and younger – Mammography and diagnosis by fine-needle aspiration cytology. **Cancer Cytopathology**, v.84, p.163-8, 1998.
- DYCE, K.M., SACK, W.O., WENSING, C.J.G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1996. p.289-91.
- EHYA, H. Citopatologia. In:____. **Patologia**. 3ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 30, p.1512-1529.
- EISENBERG, A.L.A., KOIFMAN, S. Aspectos gerais dos adenocarcinomas de mama, estadiamento e classificação histopatológica com descrição dos principais tipos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.46, p.63-77, 2000.
- ELSE, R.W., HANNANT, D. Some epidemiological aspects of mammary neoplasia in the bitch. **Veterinary Record**, v.104, p.296-304, 1979.
- EVANS, H.E. **Miller's anatomy of the dog**. 3ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. p.531-58.
- FERREIRA, E., CASSALI, G.D. Levantamento dos tumores mamários em cadelas no hospital veterinário da EV/ UFMG. In: XI Encontro Nacional de Patologia Veterinária –Botucatu – SP, 2003. **Anais ...**, p.258.
- FONSECA, C.S. Avaliação dos níveis séricos de 17, β -estradiol e progesterona em cadelas portadoras de neoplasias mamárias. Jaboticabal - SP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1999. 87p. Dissertação de Mestrado – Área de Cirurgia Veterinária.
- FRANCO, J.M. **Mastologia – Formação do especialista**. São Paulo: Atheneu, 1997. p.167-70.
- GARCIA, S.M.L., JECKEL NETO, E., FERNÁNDEZ, C.G. **Embriologia**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1991. p.135.
- GÄRTNER, F., GERALDES, M., CASSALI, G.D. *et al.* DNA measurement and immunohistochemical characterization of epithelial and mesenchymal cells in canine mixed mammary tumors: Putative evidence for a common histogenesis. **Veterinary Journal**, v.158, p.39-47, 1999.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v.2, p.1493.
- GOBBI, H., RIBEIRO, G.J.C., LOUREIRO, F.J. Modelo de protocolo informatizável para estudo anatomo-patológico de peças cirúrgicas de mama. **Jornal do Anatomopatologista**, v.8, p.14-6, 1993.

- GREENWALD, P. Role of dietary fat in the causation of breast cancer: point. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v.8, p.3-7, 1999.
- GUPTA, R.K. Cytodiagnostic patterns of metaplastic breast carcinoma in aspiration samples: A study of 14 cases. **Diagnostic Cytopathology**, v.20, p.10-2, 1999.
- HAMILTON, J.M., KNIGHT, P.J., BEEVERS, J. Serum prolactin concentrations in canine mammary cancer. **Veterinary Record**, v.102, p.127-8, 1978.
- HAMILTON, J.M., ELSE, R.W., FORSHAW, P. Oestrogen receptors in canine mammary tumors. **Veterinary Record**, v.101, p.258-60, 1977.
- 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 Cytologica**, v.31, p.276-80, 1987.
- HATAKA, A., MARQUES, M.M., ROCHA, N.S. *et al.* Dados epidemiológicos de cadelas portadoras de neoplasias mamárias – Resultados parciais. In: 6º Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu – SP, 2002. **Anais ...**, p.98.
- HATAKA, A., OLIVEIRA, D., ROCHA, N.S. *et al.* Protocolo citopatológico para neoplasias mamárias em cadelas. In: XI Encontro Nacional de Patologia Veterinária – Botucatu – SP, 2003. **Anais ...**, p.283.
- HEGG, R. Câncer de mama: Quadro clínico, diagnóstico e estadiamento. In: _____. **Tratado de ginecologia**. 3ed., v.3, São Paulo: Roca, 2000. cap.183, p.2042-8.
- HILL'S. Prevenção da obesidade. In: _____. **Os alimentos mais saudáveis para cães e gatos**. São Paulo, 1999. (Folder).
- INABA, T., TAKAHASHI, N., MATSUDA, H. *et al.* Estrogen and progesterone receptors and progesterone metabolism in canine mammary tumours. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.46, p.797-803, 1984.
- JOHNSON, S. The causes of breast cancer. In: _____. **Detection and treatment of early breast cancer**. London: Martin Dunitz, 1990. cap. 1, p.1-30.
- JUNQUEIRA, L.C.U., JUNQUEIRA, L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983. p.95-6.
- KLIJANIENKO, J., CÔTÉ, J.F., THIBAUT, F. *et al.* Ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology of nonpalpable breast lesions – Institute Curie's experience with 198 histologically correlated cases. **Cancer**, v.84, p.36-41, 1998.
- KURMAN, R.J., SOLOMON, D. **The Bethesda system form reporting cervical/ vaginal cytologic diagnosis**. New York: Springer-Verlag, 1994. 81p.

- LARKIN, H.A. Veterinary cytology – Fine needle aspiration of masses or swellings on animals. **Irish Veterinary Journal**, v.47, p.65-73, 1994.
- LEBEAU, A. L'âge du chien et celui de l'homme essai de statistique sur la mortalité canine. **Bulletin de l' Académie Vétérinaire de France**, v.26, p.229-32, 1953.
- LIMA, G.R., MARTINS, N.V. **Onco ginecologia**. São Paulo: Atheneu, 1992. p.17-23.
- MacEWEN, E.G., WITHROW, J.S. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. p.356-72.
- MAGALHÃES, A.M. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1998. 112p. Dissertação de Mestrado.
- McKEE, G.T. **Citopatologia**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap. 8-9, p.113-84.
- McKEE, G.T., TAMBOURET, R.H., FINKELSTEIN, D. Fine-needle aspiration cytology of breast: Invasive vs. In Situ carcinoma. **Diagnostic Cytopathology**, v.25, p.73-7, 2001.
- MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica – Com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. 2ed., São Paulo: Michalany, 1990. p.123-79.
- MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Tumors in domestic animals**. 4ed., Iowa: Iowa State Press, 2002. cap. 12, p.547-606.
- MISDORP, W., ELSE, R.W., HELLMÉN, E. *et al.* Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. **Armed Forces Institute of Pathology**, v.7, p.1-59, 1999.
- MONSON, K.R., MALBICA, J.O., HUBBEN, K. Determination of estrogen receptors in canine mammary tumors. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, p. 1937-9, 1977.
- MORRIS, J.S., DOBSON, J.M., BOSTOCK, D.E. *et al.* Effect of ovariohysterectomy in bitches with mammary neoplasms. **Veterinary Record**, v.142, p.656-8, 1998.
- MOTA, E.F.F., OLIVEIRA, S.R. Diagnóstico citológico em medicina veterinária. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, n.30, p.29-47, 1999.
- MOULTON, J.E. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Tumors in domestic animals**. 3ed., Los Angeles: University of California Press, 1990. cap. 12, p.518-52.

- NERURKAR, V.R., CHITALE, A.R., JALNAPURKAR, B.V. *et al.* Comparative pathology of canine mammary tumors. **Journal of Comparative Pathology**, v.101, p.389-97, 1989.
- O'NEIL, S., CASTELLI, M., GATTUSO, P. *et al.* Fine-needle aspiration of 697 palpable breast lesions with histopathologic correlation. **Surgery**, v.122, p.824-28, 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**. 11ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 37, 1996. p.645-59.
- PELETEIRO, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.89, p.10-29, 1994.
- PEREZ ALENZA, M.D., PEÑA, L., DEL CASTILLO, N. *et al.* Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice**, v.41, n.7, p.287-91, 2000.
- PEREZ ALENZA, M.D., RUTTEMAN, G.R., PEÑA, L. *et al.* Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.12, n.3, p.132-9, 1998.
- PHILIBERT, J.C., SNYDER, P.W., GLICKMAN, N. *et al.* Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.17, n.1, p.102-6, 2003.
- PINOTTI, J.A., TEIXEIRA, L.C. Câncer de mama: Importância, epidemiologia e fatores de risco. In: _____. **Tratado de ginecologia**. 3ed., v.3, São Paulo: Roca, 2000. cap. 180, p.2019-22.
- PINOTTI, J.A. Métodos diagnósticos em mastologia – Exame clínico. In: _____. **Compêndio de mastologia**. São Paulo: Manole, 1991. cap. 3, p.21-35.
- RAW, I., MORO, A.M. **Medicina molecular**. São Paulo: Roca, 1999. p.75-93.
- RASKIN, R.E., MEYER, D.J. **Atlas of canine and feline cytology**. California: ed Saunders Company, 2003, 354p.
- REHMAN, I. Embryology and anatomy of the breast. In: _____. **The breast**. Saint Louis: The C. V. Mosby Company, 1978. p.3-5.

- ROBINSON, I.A., McKEE, G., NICHOLSON, A. *et al.* Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas. **The Lancet**, v.343, p. 947-9, 1994.
- ROCHA, N.S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, n.75, p.14-6, 1998a.
- ROCHA, N.S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF) – parte II – Diagnósticos obtidos pela CAAF em 1.961 pacientes, entre 1994 e 1998, na FMVZ – Unesp, Botucatu. **Cães & Gatos**, n.79, p.14-5, 1998b.
- ROCHA, P.D.S., NADKARNI, N.S., MENEZES, S. Fine needle aspiration biopsy of breast lesions and histopathologic correlation – Na analysis of 837 cases in four years. **Acta Cytologica**, v.41, p.705-12, 1997.
- ROSEN, P.P., OBERMAN, H.A. Atlas of tumor pathology – Tumors of the mammary gland. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1993. 390p.
- SCHMITT, F.C. Prognóstico do cancro da mama: Avaliação ao impacto de novos métodos face aos factores prognósticos tradicionais. **Arquivos de Medicina**, v.8, p.319-24, 1994.
- SCHNEIDER, R., DORN, C.R., TAYLOR, D.O.N. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **Journal of the National Cancer Institute**, v.43, p. 1249-61, 1969.
- SHERMAN JR., C.D., HOSSFELD, D.K. Câncer de mama. In: _____. **Manual de oncologia clínica**. 2ed., São Paulo: Fundação Oncocentro de São Paulo, 1993. p.259-78.
- SILVERMAN, J.F. Breast. In: _____. **Comprehensive Cytopathology**, 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. p.703-70.
- SONNENSCHN, 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. **American Journal of Epidemiology**, v.133, n.7, p.694-703, 1991.
- STRANDBERG, J.D., GOODMAN, D.G. Animal model of human disease. Breast cancer. Animal model: Canine mammary neoplasia. **American Journal of Pathology**, v.75, p.225-8, 1974.
- 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, p.55-8, 1992.

THRALL, M.A. Cytologic examination of cutaneous and subcutaneous lumps and lesions – Cytologic examination is a quick way to make a preliminary diagnosis, which can be crucial when you're dealing with tumors. The author helps you examine cutaneous and subcutaneous lesion samples. **Veterinary Medicine**, v.3, p.224-42, 2000.

TNM Classificação do tumores malignos/ Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência à Saúde, Instituto Nacional de Câncer, União Internacional Contra o Câncer. 5ed., Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer – INCA, 1998. p.128-36.

VASSALO, J. **Controle de qualidade e acreditação no laboratório de anatomia patológica.** São Paulo: SBP, 2003. 60p.

YAMAGAMI, T., KOBAYASHI, T., TAKAHASHI, K. *et al.* Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.58, p.1079-83, 1996.

YOUNG, N.A., MODY, D.R., DAVEY, D.D. Diagnosis and subclassification of breast carcinoma by fine-needle aspiration biopsy. Results of the interlaboratory comparison program in non-gynecologic cytopathology. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v.126, p.1453-7, 2002.

ZAKHOUR, H., WELLS, C. **Diagnostic cytopathology of the breast.** London: Churchill Livingstone, 1999. 257p.

ZUCCARI, D.A.P.C. Contribuição ao estudo imunoistoquímico dos tumores mamários em cadelas. Jaboticabal - SP, Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP - Jaboticabal, 1999. 121p. Dissertação de mestrado, Patologia Animal.

ZUCCARI, D.A.P.C., SANTANA, A.E., ROCHA, N.S. Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas – Revisão. **Clínica Veterinária**, n.32, p.50-4, 2001.

ANEXOS

Anexo 1

PROTOCOLO PARA CAAF DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS

RG: _____ HISTO: _____ CITO: _____ Data: ____/____/____

Proprietário: _____ Fone: _____

Endereço: _____

Espécie: _____ Raça: _____ Sexo: M ☐, F ☐

Idade: _____ Porte: _____ Pelagem: _____

Coloração: _____ Habitat: _____

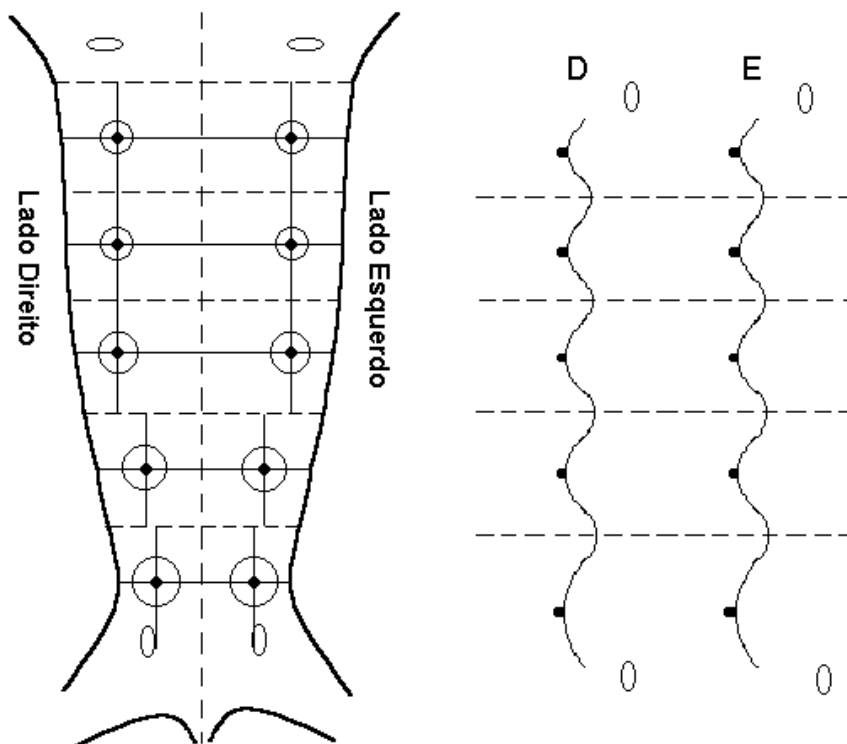
Estado Geral: Magro ☐, Normal ☐, Obeso ☐ Peso: _____

Tempo de evolução do tumor: _____

Lesões tumorais prévias? _____ Cirurgia? _____

Partos? Sim ☐, nº? _____ Não ☐. Pseudogestação? Sim ☐, nº? _____ Não ☐Aborto? Sim ☐, nº? _____, Não ☐ Castrada? Sim ☐, Não ☐Anticoncepcional? Qual? _____ Não ☐ Cios Regulares? Sim ☐, Não ☐.Já cruzou e não emprenhou? Sim ☐, Não ☐Secreção Vaginal? Sim ☐ Quando? _____, Não ☐Alimentação: Ração ☐, Comida caseira ☐, Ração e Comida ☐, Outros: _____

Mamas acometidas:



Características do(s) tumor(es); Marcar com um X o tamanho correspondente:

M1D -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M1E -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M2D -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M2E -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M3D -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M3E -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M4D -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M4E -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M5D -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

M5E -<= 2cm ☐, >2-5cm ☐, >5cm ☐, Ulcerado ☐.

Outro local: _____

Consistência: (dura, mole, elástica) _____

Secreção: Sim ☐ Não ☐ _____

Edema de membros? Sim ☐, Qual(is): _____ Não ☐

Linfonodos infartados? Sim ☐, Qual(is): _____ Não ☐

Exame Citológico? Indicar a(s) mama(s): M1D ☐, M2D ☐, M3D ☐, M4D ☐, M5D ☐ - M1E ☐, M2E ☐, M3E ☐, M4E ☐, M5E ☐ Outro local: _____

Material puncionado: cístico ☐, sólido ☐ _____

Diagnóstico Citopatológico: _____

Requisitante: _____ Prof. Resp.: _____

Marília, ____/____/____

Anexo 2

**SETOR DE PATOLOGIA ANIMAL DA UNIMAR
PATOLOGIA MAMÁRIA EM CADELAS**

RG: _____ HISTO: _____ CITO: _____ Data: ____/____/____

Proprietário: _____ Fone: _____

Espécie: _____ Raça: _____ Sexo: M ☐, F ☐

Idade: _____ Porte: _____ Pelagem: _____

LAUDO ANATOMO-PATOLÓGICO DE MAMA

MACROSCOPIA

Tipo do Material: 1 Biópsia 2 Nodulectomia 3 Mastectomia _____
4 Outros _____

Localização: 1 Direita 2 Esquerda 3 Bilateral 4 Não especificado 5 Entre mamas

OBS. _____

Dimensões da peça: _____

_____ x _____ x _____ cm

Peso: _____ g

Pele: _____ x _____ cm

1 NDN 2 Edema 3 Retração 4 Ulceração 5 Incisão recente

(_____ cm)

6 Incisão antiga (_____ cm)

OBS. _____

Mamilo: 1 NDN 2 Ulceração 3 Retração 4 Eczema 5 Ausente

OBS. _____

Musculatura regional: 1 Com infiltração 2 Sem infiltração 3 Ausentes

OBS. _____

SUPERFÍCIE DE CORTE

Lesão (tumor): 1 Ausente 2 Único 3 Múltiplo 4 Residual

OBS. _____

Quadrante: 1 Central 2 QPM 3 QPL 4 QDM 5 QDL 6 Multiq. _____

OBS. _____

Entre as Mamas: _____

OBS.

Dimensão da lesão: _____ x _____ x _____ cm

Entre as Mamas: _____

Contorno: 1 Espiculado 2 Circunscrito 3 Infiltração difusa

OBS.

Consistência: 1 Dura 2 Mole 3 Elástica 4 Friável

OBS.

Coloração: 1 Brancacenta 2 Amarelada 3 Outra: _____

Cavidade cirúrgica: 1 Ausente 2 Sem tumor residual 3 Com tumor residual

Parênquima restante: 1 Sem alterações 2 Cistos 3 Outros: _____

Linfonodos (nível/número): _____

Aspecto: 1 Livre 2 Coalescente Dimensões do maior: _____ mm

Observações:

APÊNDICE

Apêndice 1. Diagnósticos das neoplasias mamárias segundo as classificações de Rosen & Oberman (1993) e Misdorp et al., (1999).

n	Classificação Humana	Classificação Veterinária
1*	Ca. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide
2*	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma
3*	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma
4	Ca. Papilífero Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade	Ca. Papilar Infiltrativo
5*	Ca. Metaplásico	Carcinossarcoma
6	Ca. Ductal Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade	Ca. Sólido Infiltrativo
7*	Ca. Ductal Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade	Ca. Anaplásico
8*	Ca. Ductal Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade (CI)	Ca Anaplásico
9	Ca. Metaplásico	Ca. Sólido Infiltrativo
10*	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo
11*	Osteossarcoma	Osteossarcoma
12*	Ca. Ductal Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade	Ca. Sólido Infiltrativo
13*	Ca. Ductal Infiltrativo de Alto Grau de Malignidade	Ca. Sólido Infiltrativo
14*	Melanoma Melanótico	Melanoma Melanótico
15*	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo
16*	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo
17	Melanoma Melanótico	Melanoma Melanótico
18	Ca. Neuroendócrino	Ca. Neuroendócrino
19	Ca. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide
20*	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>
21	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>
22*	Angiossarcoma	Hemangiossarcoma
23*	Ca. Mioepitelial com Diferenciação Epidermóide	Ca. de Células Fusiformes
24*	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo
25*	Ca. Papilífero Infiltrativo	Ca. Papilar Infiltrativo
26*	Osteossarcoma	Osteossarcoma
27*	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma
28	Ca. Mioepitelial	Ca. de Células Fusiformes
29	Ca. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide
30	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>
31*	Ca. Ductal Infiltrativo	Ca. Sólido Infiltrativo
32*	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo

Ca. – Carcinoma; (CI) – Carcinoma Inflamatório.

* - Animais com mais de uma mama acometida por neoplasia; nesses animais foi considerado como diagnóstico a neoplasia mais maligna.

Apêndice 2 Dados epidemiológicos referentes à idade, raça, porte físico, peso e dieta alimentar das cadelas portadoras de neoplasias mamárias.

n	Idade	Raça	Porte	Estado Geral	Peso	Dieta
1	6	SRD	Pequeno	Obeso	13	Comida Caseira
2	4	SRD	Pequeno	Obeso	5,6	Comida Caseira
3	11	SRD	Pequeno	Obeso	7,8	Ração e Comida
4	16	SRD	Pequeno	Obeso	5	Comida Caseira
5	9	SRD	Pequeno	Obeso	7	Ração e Comida
6	5	Fox	Pequeno	Normal	5,6	Ração e Comida
7	8	SRD	Pequeno	Normal	8	Comida Caseira
8	13	SRD	Pequeno	Normal	5	Ração e Comida
9	9	SRD	Pequeno	Normal	7	Comida Caseira
10	12	Fox	Pequeno	Normal	6	Ração e Comida
11	9	Pinscher	Pequeno	Normal	5	Comida Caseira
12	12	Fox	Pequeno	Normal	9	Ração e Comida
13	6	Fox	Médio	Obeso	10	Comida Caseira
14	6	SRD	Médio	Normal	22	Ração e Comida
15	8	SRD	Médio	Normal	22	Ração e Comida
16	12	SRD	Médio	Normal	13	Ração e Comida
17	9	SRD	Médio	Normal	13	Ração e Comida
18	15	SRD	Médio	Normal	11	Ração e Comida
19	9	Poodle	Médio	Normal	10	Ração e Comida
20	9	SRD	Médio	Normal	12	Ração e Comida
21	15	SRD	Médio	Normal	18	Ração e Comida
22	10	Fox	Médio	Normal	10	Ração e Comida
23	8	SRD	Médio	Normal	10	Ração e Comida
24	11	Poodle	Médio	Magro	8,8	Ração e Comida
25	13	SRD	Médio	Magro	12	Ração e Comida
26	10	SRD	Médio	Magro	11,5	Ração e Comida
27	3	Labrador	Grande	Obeso	33	Ração e Comida
28	10	Pastor Belga	Grande	Normal	30,4	Ração e Comida
29	10	SRD	Grande	Normal	26	Comida Caseira
30	10	SRD	Grande	Normal	35	Comida Caseira
31	6	SRD	Grande	Normal	27	Ração e Comida
32	10	SRD	Grande	Magro	23	Ração e Comida

Idade em anos

Peso em Kg

Apêndice 3. Características reprodutivas das cadelas portadoras de neoplasias malignas atendidas no hospital veterinário da UNIMAR.

n	Parto	Pseudogestação	Anticoncepcional	Cio Regular
1	Não	Sim	Não	Não
2	Sim	Não	Sim	Sim
3	Sim	Não	Sim	Sim
4	Sim	Não	Não	Sim
5	Não	Não	Sim	Sim
6	Sim	Não	Sim	Sim
7	Sim	Não	Sim	Sim
8	Sim	Não	Não	Sim
9	Não	Não	Não	Sim
10	Sim	Sim	Sim	Sim
11	Sim	Não	Não	Sim
12	Sim	Não	Sim	Sim
13	Sim	Não	Não	Sim
14	Não	Não	Não	Sim
15	Não	Não	Não	Não
16	Sim	Sim	Sim	Não
17	Sim	Sim	Não	Sim
18	Sim	Não	Sim	Sim
19	Sim	Não	Não	Sim
20	Não	Não	Sim	Sim
21	Sim	Não	Sim	Sim
22	Não	Sim	Sim	Sim
23	Sim	Sim	Não	Sim
24	Não	Não	Não	Sim
25	Sim	Não	Sim	Sim
26	Sim	Não	Sim	Sim
27	Sim	Não	Não	Sim
28	Sim	Não	Não	Sim
29	Sim	Não	Não	Sim
30	Sim	Sim	Não	Sim
31	Sim	Não	Sim	Sim
32	Não	Não	Não	Sim

Apêndice 4. Localização das neoplasias mamárias nas cadelas estudadas.

Nº Animal	Mama Afetada*
1	M3D, M3E
2	M5D, M3E
3	M2D, M3D, M4D, M5D, M1E, M2E, M3E, M4E
4	M5D
5	M4/M5D**, M5D, M4E, M5E
6	M2E
7	M3/M4D, M4D, M2/M3E, M3E, M4E
8	M3D, M4D, M5D, M3E, M4E, M5E
9	M2D
10	M1D, M2E, M4E
11	M3/M4E, M5E
12	M4/M5D, M5D, M1E, M4/M6E, M5E
13	M2D, M3D, M4D, M5D, M1E, M2E, M3E, M4E, M5E
14	M1D, M2D, M3D, M4D, M5D, M2E, M3E, M4E, M5E
15	M2D, M4D, M5D, M3E, M4E, M5E
16	M3D, M2E, M3E, M4E
17	M1/M2E
18	M3E
19	M4/M5E
20	M1D, M2D, M3D, M4D, M2E, M3E, M4E
21	M4D
22	M1D, M4E
23	M3D, M3E, M4E
24	M3D, M4D
25	M3D, M4D, M5D, M5E
26	M2/M3D, M3/M4D, M4D, M3E
27	M5D, M1E, M4E, M5E
28	M5D
29	M3D
30	M4E
31	M5D, M4E, M5E
32	M5D, M1E, M3E

* - M1 – mama torácica cranial; M2 – mama torácica caudal; M3 – mama abdominal cranial; M4 – mama abdominal caudal; M5 – mama inguinal; D – direita; E – esquerda.

** - M2/M3D - nódulo e/ou massa localizados entre as mamas acima.

Apêndice 5. Frequência das mamas acometidas por neoplasia mamária considerando-se as cadeias mamárias direita e esquerda e somente as mamas.

Mamas Acometidas					Total
M1*	M2	M3	M4	M5	
10 (9,3%)	14 (13,1%)	28 (26,2%)	30 (28,1%)	25 (23,3%)	107 (100%)
M1D	M2D	M3D	M4D	M5D	
4 (3,7%)	6 (5,6%)	13 (12,2%)	12 (11,3%)	15 (14%)	50 (46,7%)
M1E	M2E	M3E	M4E	M5E	
6 (5,6%)	8 (7,5%)	15 (14%)	18 (16,8%)	10 (9,3)	57 (53,3%)

* - M1 – mama torácica cranial; M2 – mama torácica caudal; M3 – mama abdominal cranial; M4 – mama abdominal caudal; M5 – mama inguinal; D – direita; E – esquerda.

** - Valores entre parênteses representam a frequência em porcentagem.

Apêndice 6. Classificação TNM das cadelas portadoras de câncer mamário.

Nº de Animais	Estágio
1	IV
2	IV
3	IV
4	IV
5	IV
6	IV
7	IV
8	IV
9	IV
10	IIIB
11	IIIB
12	IIIB
13	IIIB
14	IIIB
15	IIIB
16	IIIB
17	IIIB
18	IIIB
19	IIIB
20	IIIB
21	IIIB
22	IIIB
23	IIB
24	IIB
25	IIB
26	IIIA
27	IIA
28	IIA
29	IIA
30	IIA
31	IIA
32	IIA

Apêndice 7. Distribuição dos casos por diagnóstico, estágio do tumor, evolução por mês e desfecho*.

N	Classif. Humana	Classif. Veterinária	TNM	Evol	Desf.
1	Ca*. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide	IV	4	Óbito
2	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma	IV	8	Óbito
3	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma	IV	5	Óbito
4	Ca. Papilífero Infiltrativo Alto Grau	Ca. Papilar Infiltrativo	IV	17	Óbito
5	Ca. Metaplásico	Carcinossarcoma	IV	2	Eutan
6	Ca. Ductal de Alto Grau	Ca. Sólido	IV	6	Eutan
7	Ca. Ductal de Alto Grau	Ca. Anaplásico	IV	0	Eutan
8	Ca. Ductal Invasivo Alto Grau (CI)	Ca Anaplásico	IV	0,5	Eutan
9	Ca. Metaplásico	Ca. Sólido	IV	24	Vivo
10	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo	IIIB	7	Óbito
11	Osteossarcoma	Osteossarcoma	IIIB	3	Óbito
12	Ca. Ductal Infiltrativo Alto Grau	Ca. Sólido	IIIB	0	Óbito
13	Ca. Ductal Infiltrativo Alto Grau	Ca. Sólido	IIIB	3	Óbito
14	Melanoma Melanótico	Melanoma Melanótico	IIIB	0	Eutan
15	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo	IIIB	16	Eutan
16	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo	IIIB	22	Vivo
17	Melanoma Melanótico	Melanoma Melanótico	IIIB	23	Vivo
18	Ca. Neuroendócrino	Ca. Neuroendócrino	IIIB	19	Vivo
19	Ca. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide	IIIB	29	Vivo
20	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>	IIIB	32	Vivo
21	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>	IIIB	35	Vivo
22	Angiossarcoma	Hemangiossarcoma	IIIB	15	Vivo
23	Ca. Mioepitelial c/ dif. Epidermóide	Ca. Células Fusiformes	IIB	5	Óbito
24	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo	IIB	20	Vivo
25	Ca. Papilífero Infiltrativo	Ca. Papilar Infiltrativo	IIB	25	Vivo
26	Osteossarcoma	Osteossarcoma	IIIA	21	Óbito
27	Fibrossarcoma	Fibrossarcoma	IIA	6	Óbito
28	Ca. Mioepitelial	Ca. Células Fusiformes	IIA	7	Eutan
29	Ca. Epidermóide Ductal	Ca. Epidermóide	IIA	14	Vivo
30	Ca. Papilífero Intraductal	Ca. Papilar <i>in situ</i>	IIA	17	Vivo
31	Ca. Ductal Infiltrativo	Ca. Sólido *Reticulina	IIA	31	Vivo
32	Ca. Metaplásico	Ca. Complexo	IIA	35	Vivo

* Desfecho: para fins de análise de sobrevida considerou-se o evento como óbito = 1 e o não-evento = 0 (censurado); Ca – Carcinoma; Eutan – Eutanasiado