

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**USO DE *VISCUM ALBUM* NO PONTO DE ACUPUNTURA
VG14 COMO TERAPIA ADJUVANTE À MASTECTOMIA
RADICAL EM CADELAS COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS**

Renata Nogueira Figueiredo

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**USO DE *VISCUM ALBUM* NO PONTO DE ACUPUNTURA
VG14 COMO TERAPIA ADJUVANTE À MASTECTOMIA
RADICAL EM CADELAS COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS**

Renata Nogueira Figueiredo

Orientador: Prof. Adj. Alexandre Lima de Andrade

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

ARAÇATUBA – SP

2014

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Figueiredo, Renata Nogueira

F475u Uso de Viscum album no ponto de acupuntura VG14 como terapia
adjuvante à mastectomia radical em cadelas com neoplasias mamárias/
Renata Nogueira Figueiredo. -- Araçatuba: [s.n], 2014.
63 f. il.; + CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária, 2014.

Orientador: Prof. Adj. Alexandre Lima de Andrade

1. Cães. 2. Neoplasias da Mama. 3. Mistletoe. I. T.

CDD 615.8


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Uso de Viscum album no ponto de acupuntura VG14 como terapia adjuvante à mastectomia radical em cadelas com neoplasias mamárias.

AUTORA: RENATA NOGUEIRA FIGUEIREDO

ORIENTADOR: Dr. ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRA em CIÊNCIA ANIMAL (FISIOPATOLOGIA MÉDICA E CIRÚRGICA) pela Comissão Examinadora.



Dra. FLÁVIA DE REZENDE EUGÊNIO

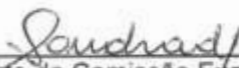


Dra. TALITA FLOERING BRÊDA SOUZA



Dr. ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE

DATA DA REALIZAÇÃO: 19 de agosto de 2014.



Presidente da Comissão Examinadora
Dr. ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RENATA NOGUEIRA FIGUEIREDO – Natural de Catanduva, São Paulo, nascida em 20 de outubro de 1983, filha de Flávia Nogueira Figueiredo e Inocêncio Dionizio Figueiredo. Ingressou no curso de Medicina Veterinária em 2005, no Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP – Campus de Rio Preto-SP onde se graduou como Médica Veterinária em janeiro de 2010, com Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Anemia Hemolítica Imunomediada” sob orientação do Professor Especialista Rodrigo Storti Pereira. Realizou residência médico-veterinária na área de Diagnóstico Veterinário com ênfase em Patologia Clínica Veterinária no Hospital Veterinário Luiz Quintiliano de Oliveira na Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, com início em fevereiro de 2010 e término em janeiro de 2012. Ingressou no curso de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, na Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba-SP, em março de 2012 sob orientação do Prof. Adjunto Alexandre Lima de Andrade, recebendo bolsa CAPES no ano de 2012 e atuando principalmente em temas relacionados com acupuntura e oncologia.

“Ser feliz sem motivo é a mais autêntica forma de felicidade”

(Carlos Drummond de Andrade)

AGRADECIMENTOS

- A Deus por todas as oportunidades conseguidas e sempre iluminando e guiando meus passos.
- À minha família, em especial meus pais, Jhon e Flávia, por todo carinho, empenho, apoio, financiamento e compreensão dedicados. Ao meu irmão Rafael que nos momentos mais tensos era o meu ouvinte.
- Ao Prof. Adj. Alexandre Lima de Andrade por ter aceitado ser meu orientador e por todo o conhecimento transmitido, paciência na orientação e dedicação durante esses dois anos e meio de mestrado, que tornaram possível a conclusão desse projeto.
- Aos funcionários do Hospital Veterinário: Thiago, Lucila, Éder, Celso, Andréa, Rafa, Antônio, Marilda, Bia, Marina, Lori e Cilene pelas conversas, cafés e amizade durante a residência e mestrado.
- Aos queridos amigos e companheiros de residência: Fernanda Paes, Karinhinha, Janete, Flávia, Breno, Aline Leal, Dani Dani, Thomas, Carlos, Aline Cardoso, Marina, Daniel, Dani Lara, Gabi, Petrônio, Serginho, Otávio, Sheila, Nath, Priscila Preve, Monally e Vanessa pela parceria e amizade nos anos de residência.
- Agradecimento especial para Janete, Breno Fernando e Karina que foram pioneiro trabalho, obrigada pela amizade e ajuda nas coletas, processamentos e análise das amostras.

- Às minhas amigas de Catanduva: Tets, Dani, Pardinho, Carlinha, Neusa são mais de 20 anos de amizade e espero que dure muito mais, obrigada por fazerem parte da minha vida.
- Aos meus amores: Luis Gustavo, Mauricio, Aninha, Jucilene, Breno Fernando, Paraiba (Jefferson), Fernanda Fink que sempre estaremos juntos, independente onde o destino nos leve.
- Aos meus professores de residência Prof. Adj. Paulo César Ciarlini e Suely Regina Mogami Bomfim, pelos ensinamentos e risadas no laboratório.
- Ao meu amor, amigo e companheiro Guilherme Gonçalves Fabretti Santos pelos conselhos, desabafos e risadas, sem você eu não teria começado e nem concluído esse trabalho, eu te amo.
- À Clínica Veterinária “Arlindo Araújo”, pela oportunidade de emprego e amizade dos veterinários e funcionários.
- À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado durante o primeiro ano do curso.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pela oportunidade oferecida para a realização do curso de Mestrado.
- A todos os professores da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, que foram tão importantes na minha vida profissional e no desenvolvimento deste trabalho.

- E as cadelas: Lili, Lilica, Dália, Mel, Jhuly, July, Cherry, Branca, Palloma, Kelly, Teca, Tuca, Vick, Nina, Saory, Aisha, Lupita, Pepita e Afrodite que foram utilizadas no projeto, contribuindo para a conclusão desta dissertação.
- Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram na execução dessa pesquisa, sem vocês nada disso seria possível!

Meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	Página
1 OBJETIVO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Neoplasias mamárias	15
2.2 Epidemiologia	16
2.3 Etiopatogenia	16
2.4 Diagnóstico	18
2.5 Tratamento e prognóstico	19
2.6 Síndrome paraneoplásica	20
2.7 <i>Viscum album</i> (visco)	25
2.8 Acupuntura e Acuponto Vaso Governador	29
2.9 Farmacopuntura	32
3 REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO 2 – PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E ANÁLISE DA BIOQUÍMICA SÉRICA DE CADELAS COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS, SOB EFEITO DA TERAPIA ADJUVANTE COM O USO DO <i>VISCUM ALBUM</i> NO PONTO VG14	
RESUMO	47
ABSTRACT	48
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1 Seleção dos animais	51
2.2 Grupos experimentais	51
2.3 Farmacopuntura com <i>Viscum album</i> e solução fisiológica no acuponto VG14	52
2.4 Colheita e processamento das amostras	53

2.5 Análise estatística	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4 COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA	61
5 REFERÊNCIAS	61

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA = Ácido desoxirribonucleico
FA = Fosfatase alcalina
FFA = Fosfatidilserina fosfolipídica
GC = Grupo controle
GGT = Gama-glutamil-transferase
GP = Grupo placebo
GT = Grupo tratado
HHM = Hipercalcemia humoral maligna
IgA = Imunoglobulina A
IgG = Imunoglobulina G
IgM = Imunoglobulina M
IL-1= Interleucina 1
IL-8 = Interleucina 8
IL-6 = Interleucina 6
MDR1 = Proteínas de resistência de múltiplas drogas
MTC = Medicina Tradicional Chinesa
NK = *Natural Killer*
OMS = Organização Mundial de Saúde
OSH = Ovário salpingo histerectomia
PAAF = Punção biopsia por agulha fina
PFA = Proteínas de fase aguda
P-gp = P- glicoproteína
PTH = Hormônio paratireoide
PTHrP = Proteína relacionada ao paratormônio
RNA = Ácido ribonucleico
ROS = Espécie reativa de oxigênio
TNF = Fator de necrose tumoral
TNM = Tumor, linfonodo e metástase
VG = Vaso Governador

VG 14 = Vaso Governador 14

VG 26 = Vaso Governador 26

USO DE *VISCUM ALBUM* NO PONTO DE ACUPUNTURA VG14 COMO TERAPIA ADJUVANTE À MASTECTOMIA RADICAL EM CADELAS COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS

RESUMO - A acupuntura é considerada como modalidade adjuvante de tratamento, pois melhora a qualidade de vida dos pacientes oncológicos, além de controlar estas alterações metabólicas. Adjuvoriamente, o extrato de *Viscum album* utilizado na medicina antroposófica pode ser utilizado por causar a apoptose e citotoxicidade de células tumorais e, por isso, vem sendo amplamente utilizado. Observa-se aumento desses efeitos quando aplicado no ponto Vaso Governador 14 (VG14), considerado um dos pontos da imunidade. Durante décadas foram utilizadas inúmeras terapias para combater o câncer, sendo que a cirurgia, ainda, é a principal forma de tratamento, cujos protocolos são indicados de acordo com o tipo e local de ocorrência do mesmo. Terapias adjuvantes, também, são praticadas como a quimioterapia que emprega agentes citotóxicos, mas que produzem efeitos colaterais e adversos. Concluiu-se que o tratamento adjuvante fez com que as cadelas apresentassem menores valores de globulinas, cálcio e FA, podendo auxiliar na prevenção do desenvolvimento de síndromes paraneoplásicas. Porém, novas pesquisas devem ser realizadas para avaliar com mais precisão os efeitos benéficos do uso dessas terapias complementares, conforme apresente este capítulo.

Palavras-chave: cães, neoplasias de mama, mistletoe.

USE OF *VISCUM ALBUM* AT THE POINT OF ACUPUNCTURE THERAPY AS VG14 ADJUVANT TO RADICAL MASTECTOMY IN BITCHES WITH BREAST NEOPLASMS

SUMMARY - Acupuncture should be seen as an adjuvant treatment modality, because it improves the quality of life of patients with cancer, in addition to controlling these metabolic changes. Concomitantly, *Viscum album* extract used in anthroposophical medicine can be used to cause cytotoxicity and apoptosis of tumor cells and therefore has been widely applied. The data showed an increase of these effects when applied at point Governor Vessel. (VG14), one of the immunity points. For decades numerous therapies have been used to combat cancer, wherein the surgery still is the primary form of treatment protocols which are set according to the type and place of occurrence thereof. Other therapies are also applied as chemotherapy employing cytotoxic agents, but they produce side effects and adverse effects. We conclude that adjuvant therapy made the bitches presented lower values of globulins, calcium and FA to assist in preventing the development of paraneoplastic syndromes. However, further research should be conducted to more accurately assess the beneficial effects of using these complementary therapies, as this chapter shows.

Keywords: dogs, breast cancer, acupoint, mistletoe

Capítulo 1

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 OBJETIVO

Revisão sistemática sobre o uso do fitoterápico *Viscum album* no ponto VG14 em pacientes oncológicos, em especial, cadelas portadoras de neoplasias mamárias.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Neoplasias mamárias

Nas últimas décadas, houve um interesse considerável pelos pesquisadores em estudar os tumores mamários nesta espécie, pela estreita relação de diversos aspectos correlacionados aos tumores de mama na mulher e, também, pela elevada incidência desta doença na rotina clínica dos animais de companhia (SILVA et al., 2004). As neoplasias de cães e gatos são modelos apropriados e válidos, que podem ser utilizados nos estudos da biologia do câncer, assim como, nas investigações sobre a ação de agentes terapêuticos. Adicionalmente, os animais de estimação desenvolvem tumores cuja apresentação histopatológica e comportamento biológico, são similares àqueles que acometem o homem (MACEWEN, 1990; MISDORP, 1988; UVA et al., 2009).

O tumor de mama é uma das principais causas de morte relacionada às outras neoplasias (90% das mortalidades), principalmente devido ao seu crescimento e alto poder metastático envolvendo órgãos vitais, incluindo os ossos, pulmões, fígado e cérebro (ROKAVEC et al., 2014; WANG et al., 2014).

2.2 Epidemiologia

As neoplasias de mama em cadelas são consideradas o segundo maior tipo entre os tumores e, cerca de 50% delas, são malignos e, o carcinoma é o de maior ocorrência (SCHNEIDER, 1970; MISDORP et al., 1999; HELLMÉN, 2005;). Cadelas com idade superior a cinco anos (GALERA et al., 2002) e que não foram submetidas à castração, antes do primeiro cio, são as mais acometidas (FONSECA; DALECK, 2000; ZUCCARI et al., 2001). As raças esportivas (pointers, retrievers, setters ingleses e spaniels), poodles, boston terriers, teckel são as mais predispostas (MEINERZ, 2004).

Em um estudo retrospectivo realizado na Universidade Federal de Santa Maria, envolvendo 1.647 tumores mamários em cães, sendo 759 animais com raça definida, descreveu cinco raças mais prevalentes eram cães com raça definida (n=759). O poodle foi a mais predisposta (23,7%), seguida pelo cocker spaniel (11,7%), teckel (11,6%), pastor alemão (10,8%) e pinscher (6,4%) (OLIVEIRA et al., 2010). Outro estudo relacionou a incidência de neoplasias mamárias e o porte da raça canina; revisaram 101 cadelas portadoras de neoplasias mamárias das quais, 60 delas eram de raças pequenas com peso inferior a 4Kg; outras eram de raças médias a grandes e, tinham peso variando entre 7,5Kg e 30,3Kg. Verificaram, ainda, que, em 25% das cadelas de raças pequenas, as neoplasias eram histologicamente malignas, enquanto que, nas de raças médias a grandes, este percentual atingiu a faixa de 58% (ITOH et al., 2005).

2.3 Etiopatogenia

Alguns mecanismos estão envolvidos na carcinogênese e podem estimular as células normais a se tornarem células cancerígenas, mas a maioria deles interfere na divisão celular. (ALMEIDA et al., 2009). A hipótese mais aceita sobre o crescimento tumoral reside no fato de existir uma competição de nutrientes entre as células tumorais e as normais (FERREIRA,

et al., 2002), pois as primeiras apresentam replicação celular descontrolada e desordenada, com menor diferenciação celular e falha na comunicação e adesão entre as células (MORRIS et al., 2007).

A etiologia das neoplasias mamárias é variada, porém, a maioria é hormônio dependente e, por isso, elas ocorrem em maior frequência nas fêmeas. Há descrições da sua ocorrência em machos que apresentar desordens hormonais. Nas cadelas, 50% a 80% dos tumores mamários malignos são de origem epitelial e expressam receptores para estrógenos; 44% deles são dependentes de estrógeno e progesterona (MISDORP, 2002).

A chance de ocorrência de uma neoplasia mamária em cadelas esterilizadas, antes do primeiro cio, é de 0,5% e aumenta, para 8%, quando são ovariectomizadas após o primeiro cio. A incidência se eleva para 26% se a ovariohisterectomia (OSH) for realizada após o segundo cio (LANA et al., 2009). Desta forma, é aconselhável a realização da OSH antes do primeiro cio, visto que os riscos de ocorrência diminuem quanto mais precoce ela for realizada (LANA et al., 2009; MILLANTA et al., 2005; RUTTEMAN; KIRPENSTEIJN, 2006; WITHROW, 2001). Outros estudos apontam como medida terapêutica sem efeitos sobre a ocorrência de recidivas e possíveis metástases. As divergências incluem a pseudogestação e a nuliparidade (SILVA et al., 2004). A proteção conferida pela castração desaparece após os dois anos e meio de idade, quando não há mais efeitos benéficos (FONSECA; DALECK, 2000). Embora se recomende proceder a OSH concomitantemente à mastectomia, não há indícios que tal conduta tenha influência sobre o aumento da sobrevivência do animal (WHITE, 2007).

Outros aspectos estão envolvidos na ocorrência das neoplasias mamárias, tais como a fatores nutricionais com dietas ricas em gorduras ou oferta de dietas exclusivamente compostas por alimentos caseiros inadequados. A obesidade aumenta o risco de desenvolvimento de tumores mamários, assim como de doenças virais (RUTTEMAN; KIRPENSTEIJN, 2006; LANA et al., 2009).

2.4 Diagnóstico

No diagnóstico de pacientes com doença oncológica, em especial aqueles portadores de neoplasias mamárias, além do exame físico geral e específico, o hemograma completo, o perfil bioquímico e radiografias torácicas, na busca de metástases pulmonares, devem ser realizados (BELLA, 1998; SORENMO et al., 2011). Apesar da radiografia auxiliar nos achados de metástase, aponta-se pela preferência da tomografia computadorizada, por apresentar maior acurácia (OTONI et al., 2010; ALEXANDER et al., 2012). Para o auxílio diagnóstico presuntivo, a citologia por punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é método valioso e de fácil execução. No entanto, o exame histopatológico, após biópsia excisional, é considerado o método definitivo (QUEIROGA; LOPES, 2002). A pesquisa de marcadores moleculares, também deve ser considerada nesse processo, com vistas a se determinar o prognóstico de vida e prever sobre a resposta ao tratamento (MARTINS e FERREIRA, 2003).

As glândulas mamárias mais acometidas são as caudais abdominais e inguinais (MACEWEN; WITHROW, 1996) estando envolvidas em aproximadamente 65% dos casos (WHITE, 2007). Elas apresentam maior quantidade de tecido e estão localizadas em uma região predisposta a traumatismos (QUEIROGA e LOPES, 2002; LANA et al., 2009).

Quanto ao aspecto histológico, próximo a 50 ou 70% das neoplasias mamárias são malignas, contudo, a evolução clínica e a ocorrência de metástase regional e/ou à distância variam entre os indivíduos (FONSECA; DALECK, 2000; ZUCCARI et al., 2001). Histologicamente, há relatos de que 40% dos tumores são adenocarcinomas, 50% mistos e 10% de outros tipos histológicos (FERGUSON et al., 2002). Cavalcanti (2006) relatou que 50 a 60% são malignos e, potencialmente, metastáticos em linfonodos regionais e pulmões. Em menor frequência, podem atingir os rins, fígado, baço, pele, glândula adrenal, encéfalo, bulbo do olho e esqueleto apendicular.

2.5 Tratamento e prognóstico

O tratamento de eleição das neoplasias de mama em cadelas consiste na excisão cirúrgica da massa tumoral. Porém, considerado um método paliativo, haja vista que o tratamento não promove a cura, apenas melhora a qualidade de vida do paciente (WHITE, 2007). As opções cirúrgicas consistem em nodulectomia, mamectomia, mastectomia em bloco e mastectomia total uni ou bilateral. A escolha da técnica dependerá do número de mamas acometidas, tamanho e localização da neoformação, bem como, fixação aos tecidos adjacentes e estado geral do paciente. A remoção dos linfonodos regionais é mandatória e deverá ser de acordo com a localização das glândulas acometidas (WITHROW, 2001). Outras terapias utilizadas incluem a quimioterapia, a radioterapia, a imunoterapia ou uma combinação desses tratamentos (NOVOSAD, 2003).

O emprego da quimioterapia no tratamento é pouco difundido devido a escassez de dados literários versando sobre o assunto; ainda, pelo elevado custo (QUEIROGA;LOPES, 2002; SILVA et al., 2004). Na medicina os protocolos quimioterápicos estão estabelecidos e, geralmente, são instituídos como terapia adjuvante em mulheres. Reporta-se que cada ciclo quimioterápico, permite a eliminação, em media, de 99% das células tumorais, mas é necessário a repetição em múltiplos ciclos para garantir a exclusão da doença. Mas os resultados são mais promissores quando há diagnóstico precoce da doença oncológica (ALMEIDA et al., 2009).

Para auxiliar na instituição do prognóstico é necessário determinar o tamanho da massa tumoral, tipo histológico, envolvimento linfático e graduação nuclear (CAVALCANTI, 2006). No entanto, outros métodos mais precisos são aplicáveis como graduação histológica que varia de I a III; determinação, em ordem crescente, do grau de anaplasia; método de Nottingham, que analisa o índice de formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica. O estadiamento clínico pelo sistema TNM é fundamental e, atualmente, é o mais utilizado na rotina clínica cirúrgica veterinária (CAVALCANTI, 2006).

O estadiamento clínico tem importância como indicador de prognóstico e para definir o tratamento (LANA et al. 2009). Ele foi proposto por Owen (1980) e, assim, estabelecido pela Organização mundial de saúde (OMS) com sistema TNM, que estadia os pacientes em estádios de I a V, baseando-se no tamanho do tumor (T), envolvimento nodal dos linfonodos satélites (N) e a presença de metástases (M) (Tabela 1). Nos casos de neoplasias mamárias, em especial os carcinomas, são consideradas a dimensão do tumor primário (T), a presença ou ausência de metástase nos linfonodos regionais ipsilaterais ou contralaterais (axilares e inguinais) e a presença ou ausência de metástase à distância (pulmão, fígado ou linfonodos esternais e sublobares) (QUEIROGA; LOPES, 2002). No caso de tumores múltiplos, deve-se adotar uma classificação individual a cada neoplasia (PELETEIRO; CORREIA, 1993).

TABELA 1 – Classificação utilizada para o estadiamento clínico das neoplasias mamárias das cadelas estudadas.

Estadiamento	Apresentação Tumoral	
I	T ₁ , N ₀ , M ₀	T ₁ : tumor < 3 cm ø
II	T ₂ , N ₀ , M ₀	T ₂ : tumor entre 3 e 5 cm ø
III	T ₃ , N ₀ , M ₀	T ₃ : tumor > 5 cm ø
IV	Qualquer T, N ₁ , M ₀	N ₁ : Linfonodo regional com envolvimento neoplásico
V	Qualquer T, Qualquer N, M ₁	M ₁ : presença de metástases à distância

T= tumor/N= linfonodo regional /M= metástase

2.6 Síndrome paraneoplásica

Quando há evolução da neoplasia primária com agravamento da doença oncológica, outros sinais clínicos se manifestam e desencadeiam a denominada Síndrome Paraneoplásica (SPN) que se constitui em um grupo de sinais clínicos associados com ações não invasivas do tumor (BERGMAN, 2012). A sua incidência é desconhecida na medicina veterinária, mas sabe-se que, aproximadamente 75% dos pacientes humanos, sofrem desse mal

(MORRISON, 2001). Além disso, a neoplasia de mama, como qualquer outra condição grave, está associada à perturbação das funções fisiológicas, alterações do organismo na homeostase e na produção de alguns metabólitos bioquímicos, bem como, a circulação de células neoplásicas que podem ser monitoradas pela sua identificação por meio de marcadores moleculares sistêmicos (MMS). Os MMS são extensamente utilizados no diagnóstico e no monitoramento da progressão da doença oncológica sistêmica (USORO et al., 2010).

A maioria dos pacientes humanos com neoplasia de mama, em estágios evoluídos da doença irá desenvolver metástases ósseas, sofrendo intensas dores, evoluindo para morte (WANG et al., 2014). Acredita-se, que a iniciação do tumor é desencadeada por vários tipos de mutação que induzem danos no DNA e que geram instabilidade genômica. As moléculas produzidas a partir de células inflamatórias, tais como as espécies reativas de oxigênio (EROS) e os intermediários reativos de nitrogênio, são capazes de induzir a iniciação maligna por acumulação de danos contínuos no DNA (SUZUKI et al., 2013; LING et al., 2014).

Por causar distúrbios na homeostasia, o desenvolvimento de neoplasias pode desencadear respostas de fase aguda, ocasionando alteração de algumas proteínas sanguíneas, denominadas proteínas de fase aguda, sobretudo, quando há necrose tecidual ou reação inflamatória secundária (GRUYS et al., 1994). Elas, em sua maioria, são glicoproteínas sintetizadas pelo fígado e reguladas por citocinas, tais como: fator de necrose tumoral (TNF), fatores de crescimento (fator de estimulação de colônias de granulócitos) e citocinas (IL-1, IL-6 e IL-8) (GRUYS et al., 1994; GABAY; KUSHNER, 1999; MISCHKE; ECKERSAL, 2005; SUZUKI et al., 2013; LING et al., 2014).

Algumas alterações hematológicas podem ser observadas em cadelas com neoplasias mamárias como anemia, leucocitose e trombocitopenia (CHILDRESS, 2012). A anemia é a manifestação mais comum verificada em cães e gatos, e sua etiologia pode estar relacionada à doença crônica,

hemólise e perda de sangue por sequestro celular. Quando pacientes oncológicos não são tratados com quimioterápicos, podem ocorrer distúrbios no metabolismo de ferro, redução da meia vida eritrocitária e diminuição da resposta da medula óssea (BERGMAN, 2013).

Dentre os pacientes humanos portadores de neoplasias em grau avançado, 50 a 70% deles apresentam anemia (DIETL et al., 2007). Esse mecanismo está associado à secreção tumoral de citocinas, como interleucinas 1 e o fator de necrose tumoral alfa, que promovem o sequestro do ferro reduzindo a meia vida das hemácias e da secreção da eritropoetina (MANGIERI, 2009).

Quanto ao leucograma, a leucocitose é alteração importante em pacientes com neoplasia e ocorre devido à complexa interação entre as células neoplásicas com o sistema imunológico e com a inflamação peritumoral. A leucocitose neutrofílica sugere que haja uma estimulação do fator de estimulador de colônia de monócitos e granulócitos, pela inflamação crônica e ou necrose ocasionadas pelo processo neoplásico (SHARKEY et al., 1996; CHILDRESS, 2012). E está fortemente associada ao pior prognóstico e mortalidade em seres humanos com neoplasia, sobretudo naqueles em tratamento quimioterápico. No entanto, a literatura referente às alterações hematológicas em cães com neoplasia mamária é escassa e não há estudos que relacionem essas alterações com a apresentação clínica e avanço da doença (CONNOLLY et al., 2010).

Alterações hemostáticas também são comuns em pacientes humanos com neoplasia, podendo acarretar tromboembolismo ou Coagulação Intravascular Disseminada (MARINHO; TAKAGAKI, 2008). Alguns estudos em medicina veterinária, principalmente relacionados à espécie canina, sugerem que essas coagulopatias ocorrem com frequência semelhante (ANDREASEN et al. 2012; CHILDRESS, 2012).

As proteínas séricas de fase aguda (PFA) são moléculas presentes no soro, cuja concentração é alterada na ocorrência de processos infecciosos, inflamatórios e/ou neoplásicos (YAMAMOTO et al., 1993; CÉRON et al., 2005;

CALAZANS et al., 2009; MYLONAKIS et al., 2011). As PFA vêm sendo amplamente investigadas como marcadores biológicos em pacientes neoplásicos. O câncer de mama pode causar variações nos valores séricos das PFA (CROSSLEY et al., 2010; VIEIRA, 2010) em função do estímulo inflamatório, do tamanho do tumor primário, da presença de metástases e, principalmente, quando há presença de ulcerações (TECLES et al., 2009). Nas neoplasias mamárias, identificaram-se, também, a presença de imunoglobulinas circulantes (PLANELLAS et al., 2009; CROSSLEY et al., 2010)

As imunoglobulinas são glicoproteínas presentes no soro sanguíneo e em secreções corporais como saliva, leite, muco traqueo-bronquial, lágrima, plasma seminal e, que podem variar em suas concentrações, diante de processos inflamatórios, pois atuam na mediação da inflamação (ROIT et al., 2003). A IgG e a IgA são constituintes do soro e atuam como anticorpos na vigência de processos invasivos e/ou inflamatórios, sendo, assim, responsáveis pela defesa do organismo e auxílio na recuperação da homeostase corporal (TIZARD, 2002). A hipoalbuminemia, geralmente é observada em pacientes com caquexia na doença oncológica e está, frequentemente, associada com inflamação crônica (SUZUKI et al., 2013).

Outro achado laboratorial evidente no avanço e agravamento da presença de tumores é a hipercalcemia. Um terço da população humana que tem tumor apresentará, em alguma fase da doença, a hipercalcemia (LEWIS et al., 2011). Uma variedade de mecanismos pode explicar o aumento de cálcio sérico nos pacientes com neoplasias. O principal deles, refere-se à liberação sistêmica da proteína relacionada ao paratormônio (PTHrP) pelo tumor. A hipercalcemia humoral maligna (HHM) é a manifestação mais comumente observada devido à liberação da PTHrP. Reconhece-se que esta proteína tem homologia com hormônio da paratireoide (PTH); a sua porção terminal é homóloga a ele e, portanto, ambas competem pelo mesmo receptor. Assim, a PTHrP age nos ossos e rins de forma similar ao PTH mas, o contrário não se aplica, pois a PTHrP não influencia na absorção intestinal de cálcio (HORWITZ; STEWART, 2003, LEWIS et al., 2011). Em concentrações elevadas, a PTHrP

induz à maioria dos efeitos metabólicos observados, tais como ativação de osteoclastos, diminuição do débito de cálcio renal e aumento da depuração de fosfato renal (HORWITZ; STEWART, 2003).

A PTHrP é amplamente expressa em embriões e contribui para o desenvolvimento de diversos órgãos, incluindo a mama, sendo produzida pelas células mamárias embrionárias (BORAS-GRANIC e WYSOLMERSK, 2012). Outras neoplasias podem sintetizá-la como os carcinomas de células escamosas, carcinomas pulmonares, esofágicos, laríngeos, orofaríngeos ou cervicais. Ocasionalmente são identificadas em pacientes portadores de adenocarcinoma de mama e ovário, carcinoma de células renais, carcinoma de células transicionais da bexiga, tumores de células insulares do pâncreas, linfoma de células T e feocromocitoma (BERGMAN, 2012; CHEUNG et al., 2013; JASTI et al., 2013).

A hipoglicemia, também, pode ser observada devido ao aumento do consumo de glicose pela massa tumoral e/ou suas metástases. Ainda, pode ocorrer naqueles com infiltração maciça no fígado. Em outras ocasiões, o tumor pode se infiltrar e destruir diferentes órgãos, tais como a hipófise ou glândulas supra-renais, e resultarem em hipopituitarismo ou insuficiência adrenal primária, respectivamente. Portanto, a hipoglicemia secundária é observada nestas condições (IGLESIAS; DI'EZ, 2014).

A fosfatase alcalina (FA) pode estar elevada na presença de algumas neoplasias mamárias malignas ou benignas, mesmo na ausência de metástases hepática ou óssea. Ela é produzida por alguns tecidos como o fígado, os ossos e, em menor concentração, pelos intestinos, rins e placenta. O aumento da sua atividade pode ser correlacionado com a presença de metástase óssea, onde há aumento da atividade dos osteoclastos e da reabsorção óssea. (SERPIL et al., 2009; SCOTT et al., 2011).

2.7 *Viscum album* (visco)

Durante décadas foram utilizadas inúmeras terapias para combater o câncer, sendo que a cirurgia, ainda, é a principal forma de tratamento, cujos protocolos são indicados de acordo com o tipo e local de ocorrência do mesmo. Terapias adjuvantes, também, são praticadas como a quimioterapia que emprega agentes citotóxicos, mas que produzem efeitos colaterais e adversos (ROBINSON; OGILVIE, 2001; WAKSHLAG; KALLFELZ, 2006).

Agentes antineoplásicos agem causando danos ao DNA e, conseqüentemente, induzindo a apoptose; no entanto, esta ação é sistêmica e atinge, também, as células normais de divisão rápida. Portanto, os protocolos terapêuticos resultam em efeitos colaterais como a mielossupressão, perda de pelos, fadiga e infecções, pela baixa imunidade. Com a finalidade de reduzir os efeitos deletérios e de toxicidade, melhorar o sistema imunológico e amenizar os sintomas do câncer, torna-se premente o uso de visco. Para tanto, entre as alternativas, o extrato visco (*Viscum album*), como terapia complementar, têm sido utilizado (WEISSENSTEIN et al., 2014).

O crescente desenvolvimento da medicina associado a novas técnicas de tratamento promovem melhores resultados e qualidade de vida favorável aos pacientes e animais (PAGE, 2001; OGILVIE, 2003; SIMON, 2006; CHIEN et al., 2013). Em uma revisão sistemática, constatou-se a superioridade da qualidade de vida e maior tolerabilidade a cirurgia, quimioterapia e radioterapia de mulheres com tumores de mama tratadas com visco (KIENLE et al., 2009).

O *Viscum album* é uma planta semiparasita, da família das Loranthaceae, que cresce em diferentes árvores hospedeiras do norte da Europa ao noroeste da África. Elencam-se, entre elas, as macieiras (*Pyrus malus*), os carvalhos (*Quercus robur*) e o pinheiro (*Pinus sylvestris*) (LEFEBVRE; BONAMIN, 2007). Seus extratos são utilizados na medicina antroposófica para tratamento de câncer, já por cerca de 80 anos. Por conterem uma variedade de compostos biologicamente ativos, os extratos de visco, eliminam células cancerígenas *in vitro* e estimulam o sistema

imunológico *in vivo*. Desta forma, ele tem sido classificado como substância que estimula o organismo a responder contra infecções e doenças e, também, por ter ação na proteção do material nuclear (DNA) dos leucócitos, incluindo células que são expostas à quimioterapia (MANSKY, 2007).

Por estas razões, vários compostos desta planta são estudados e, atualmente, dois grupos principais de substâncias ativas possuem interesse biológico: as viscotoxinas e as lectinas (LEROI, 1997; STEELE et al., 2014). A composição química destes compostos depende do tipo de árvore em que o visco se desenvolve e da época do ano em que é colhido. Depende, ainda, da espécie, fermentação do extrato e a manipulação farmacêutica do produto (MANSKY, 2007).

As lectinas e viscotoxinas são compostos proteicos citotóxicos, cancerostáticos que, portanto, apresentam propriedades antitumorais, induzindo à apoptose, afetando a angiogênese tumoral e exercendo uma atividade de “imuno-potencialização”, que pode estimular o sistema de defesa do hospedeiro (GORTER, 1998; WEISSENSTEIN et al., 2014). A ação *in vitro* dos constituintes moleculares do visco foi relatada, gerando informações a despeito do seu potencial inibitório sobre a P-glicoproteína (P-gp), também conhecida como a proteína de resistência a múltiplas drogas 1 (MDR1) (WEISSENSTEIN et al., 2014).

Sugere-se que a citotoxicidade do visco cause apoptose, inibição da síntese celular proteica e cause danos à membrana plasmática, resultando em morte celular (EGGENSCHWILER et al., 2007). Outro efeito tóxico evidenciado reporta-se aos danos ao complexo de Golgi e ação antiangiogênica, por lesão ao endotélio vascular, que leva a prevenção da neovascularização do tumor e sua sobrevivência (ELSÄSSER-BEILE et al., 1998).

As lectinas ML I, II e III são as mais estudadas e consistem de duas cadeias polipeptídicas: uma cadeia- β de ligação ao hidrato de carbono e um catalizador. A primeira pode se ligar a receptores na membrana celular e, assim, permitir a sua entrada na célula; a segunda, por sua atividade ribossômica, inibe a síntese proteica por remoção de um resíduo de adenina do

RNA 28S e da subunidade 60S ribossômica (ENDO et al., 1988; KIENLE et al., 2011). Tais eventos induzem à apoptose e, em baixas concentrações, essas substâncias em associação a células do sistema imune, liberam citocinas, tais como: interleucina-1, interleucina-2, interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa, interferon -alfa e -gama, além do fator de crescimento de granulócitos e macrófagos (GARDIN, 2007).

As viscotoxinas são polipeptídeos que produzem rapidamente morte celular, mas, diferentemente das lectinas, agem na membrana celular induzindo a morte celular, por necrose, além do efeito imunomodulador (KIENE, 1993; SCHLODDER, 1998; GARDIN, 2007). Apesar da importância desses dois grupos, o visco também possui carboidratos (glicose, galactose, manose, inositol, arabinolactanos) na sua constituição. Alguns deles apresentam propriedades imunoestimulantes, com acentuada atividade sobre as células *natural killer* (NK), em especial sobre aquelas que atuam sobre as células tumorais; ativam, ainda, o sistema complemento (SCHLODDER, 1998).

Quando se administra o *Viscum album*, pela via subcutânea ou intravenosa, a maioria das lectinas liga-se às glicoproteínas transmembrânicas e, assim, não causam efeito tóxico. As viscotoxinas interagem com a fosfatidilserina fosfolipídica (FFA) da membrana celular, alterando, assim, a sua composição. Este efeito é mais pronunciado nas células tumorais, pois elas exibem maiores quantidades de FFA e, portanto são mais sensíveis à esta ação (COULON et al., 2004).

Estudos clínicos sugerem que o tratamento adjuvante com extratos de visco em pacientes com câncer está associado a uma melhor sobrevida, redução de efeitos secundários das terapias convencionais e ao aumento da qualidade de vida (WEISSENSTEIN et al., 2014).

A Figura 1 mostra a planta da onde são extraídas as viscotoxinas e lectinas, bem como, a apresentação da formulação comercial do visco.



FIGURA 1. Imagens fotográficas alusivas ao fitoterápico *Viscum album* (Fonte: www.floravascular.com) A. Planta de visco. B. Apresentação do frasco comercial (InjecCenter®).

2.8 Acupuntura e Acuponto Vaso Governador 14

A acupuntura é um dos métodos mais antigos na Medicina Tradicional Chinesa (MTC). O termo provém do latim *acus*, que significa “agulha” e, *pungere*, que significa “perfurar”. Portanto, caracteriza-se pela técnica de perfurar a pele em pontos específicos, no intuito de tratar as doenças. A estimulação desses pontos pode ser por meio de agulhamento, injeção, laser, ultrassom, estimulação elétrica, ultravioleta, ozônio, vitamina B12, fitoterápico e indução magnética (LIMEHOUSE; TAYLOR-LIMEHOUSE, 2006). Os pontos de acupunturas são projeções dos meridianos correspondentes (WEN, 1985).

Apesar das medicinas ocidental e oriental se diferirem segundo os seus conceitos e princípios, elas têm o mesmo propósito de promover ou restabelecer a “saúde ideal” ao paciente. A MTC tem a visão de todo o organismo, objetivando o restabelecimento do estado de equilíbrio, constituindo-se, portanto, em terapia com enfoque mais preventivo do que curativo (LIMEHOUSE; TAYLOR-LIMEHOUSE, 2006).

A acupuntura pode ser utilizada como um tratamento isolado ou em associação a fármacos, cirurgia ou outros procedimentos, de acordo com as necessidades do paciente (WHITE et al., 2008). Um dos desafios enfrentados pelos acupunturistas é o ceticismo dos cientistas em relação à presença de efeitos fisiológicos específicos que justifiquem a sua utilização (STUX; HAMMERSCHALG, 2005). Neste sentido, a acupuntura seguiu o caminho inverso, sendo utilizada, primeiramente, no homem e, depois, estudada em animais (MACPHERSON et al., 2007).

Os pontos de acupuntura foram descritos com base no conhecimento empírico adquirido na prática clínica, no decorrer dos séculos. No período neolítico, as pedras *Bian* (agulhas de pedra) (Figura 2) eram utilizadas para promover sangria, puncionar ou drenar abscessos. Com o passar do tempo, percebeu-se que, a manipulação em determinados pontos do corpo aliviava os desconfortos e/ou curava determinadas doenças (GONGWANG, 2004).

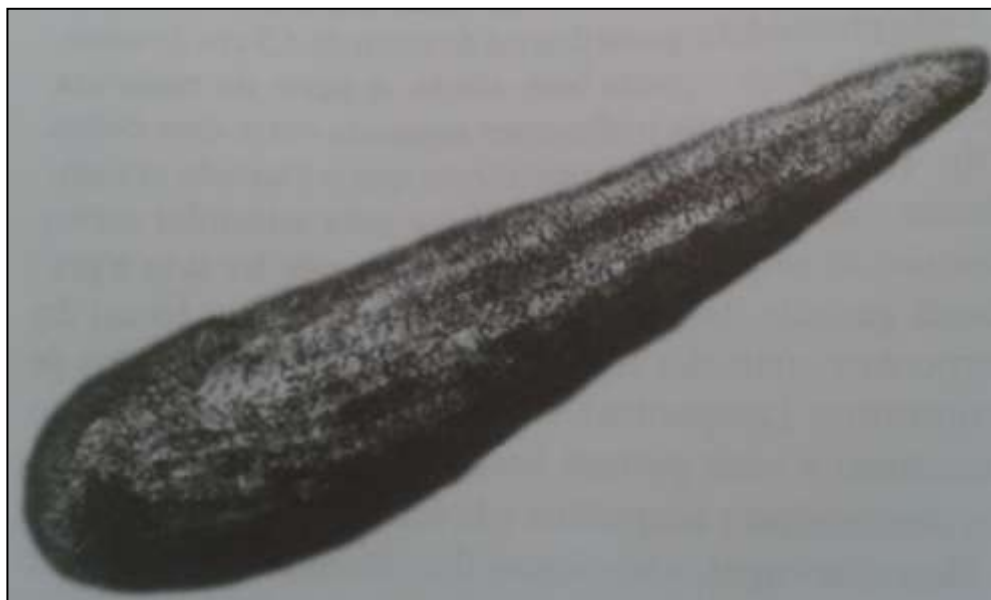


FIGURA 2 – Imagem da pedra *Bian* utilizada, da era neolítica, como agulha de pedra para realizar sangria e puncionar ou drenar abscessos (Xie; Preast, 2011).

O meridiano do Vaso Governador (VG) situa-se na linha média dorsal da coluna vertebral e se inicia em um ponto entre o ânus e a base ventral da cauda; progride, no sentido cranial, ao longo da linha média dorsal, sobre a região do osso occipital e, finaliza em um ponto situado no centro do lábio superior e ponto médio, entre os limites ventrais, das narinas (ponto VG28) (Figura 3). O Vaso Governador 14 (VG14) está localizado numa depressão da linha média dorsal, entre a sétima vértebra cervical e a primeira vértebra torácica, no sentido cranial ao ponto mais alto da inter-escapular (Figura 4). Esse ponto é estimulado em doenças cervicais, como espondilomielopatia cervical caudal (síndrome *Wobbler*), distúrbios da coluna torácica e dos membros pélvicos, em dores inespecíficas no dorso, febre, insolação, anidrose, asma, tosse, resfriado, eczema, convulsões e como estimulantes do sistema imune (SCHOEN, 2006).

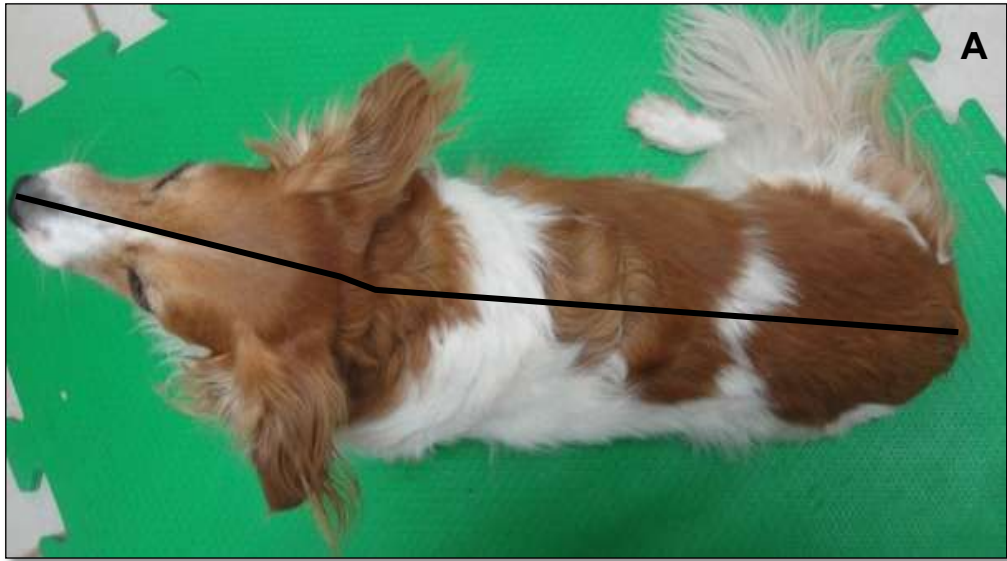


FIGURA 3 – A. Início e fim do trajeto do meridiano do Vaso Governador (Fonte: arquivo pessoal). B. Imagem fotográfica do procedimento de fitoacupuntura com *Viscum album* em uma cadela no ponto VG14 (Fonte: arquivo pessoal).

2.9 Farmacopuntura

Entre as várias terapias de MTC, a farmacopuntura, também conhecida como injeção no acuponto, acupuntura de ervas, acupuntura aquática ou aquapuntura, constitui-se em modalidade de acupuntura de aplicação de medicamentos ou fitoterápicos purificados que são injetados em determinados pontos de acupuntura. Trata-se de uma nova terapia e, atualmente, é amplamente utilizada na China e na Coreia para tratar uma variedade de sintomas e doenças, entre eles, as neoplasias. Geralmente, as substâncias utilizadas são a água destilada, soluções eletrolíticas, vitaminas (vitaminas B12 e C), antibióticos, anestésicos locais, extratos de ervas, analgésicos e agentes antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais (CHEON et al., 2014).

Alguns autores sugerem que o uso de sub-doses de fármacos com a técnica de farmacopuntura é capaz de produzir efeito terapêutico similar aos observados quando se utiliza a dose convencional, com a vantagem de causar menos efeitos colaterais (ZHOU et al., 2005; ZHANG et al., 2008).

A quantidade a ser aplicada é dependente do tamanho do paciente e da escolha dos pontos. Em cães, pode-se aplicá-las com agulhas hipodérmicas de calibre 25 x 1,25-2,5 mm (0,5 polegada) de comprimento e, dependendo do ponto e do volume a ser administrado, varia entre 0,25 a 2,0 mL/ponto (SCHOEN, 2006).

3 REFERÊNCIAS

ALEXANDER, K.; JOLY, H.; BLOND, L. et al. Comparison of computed tomography, computed radiography, and film-screen radiography for the detection of canine pulmonary nodules. **Vet. Radiol. Ultrasound.**, v. 53, p. 258-265, 2012.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, p.118-29, 2009.

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

BELLA, H.J.R. Tratamento cirúrgico dos distúrbios cutâneos específicos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, v. 1, Cap. 29, p.427-429, 1998.

BERGMAN, P.J. Paraneoplastic syndromes. In: MACEWEN, G.; WITHROW, S.J. **Small animal clinical oncology**. Missouri: Saunders, p.77-94, 2012.

BORAS-GRANIC, K.; WYSOLMERSKI, J. PTHrP and breast cancer: more than hypercalcemia and bone metastases. Boras-Granic and Wysolmerski. **Breast Cancer Res.**, 2012.

CALAZANS, S.G; DALECK, C.R; FAGLIARI, J.J. et al. Proteinograma sérico de cães saudáveis e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arqui. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.5, p.1044-1048, 2009.

CAVALCANTI, M. F. **Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológica dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de nottingham**. 106f. Dissertação (Mestrado em Patologia)- Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2006.

CERÓN J. J.; ECKERSAL P. D.; MARTINEZ-SUBIELA S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. **Vet. Clin. Pathol.**, v. 34, p.85–99, 2005.

CHEON, S.; ZHANG, X.; LEE, I. et al. Pharmacopuncture for Cancer Care: A Systematic Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 14, 2014.

CHEUNG V.; BOURALEXIS, S.; GILLESPIE, M. T. PTHrP Overexpression Increases Sensitivity of Breast Cancer Cells to Apo2L/TRAIL. **PLoS ONE**, p. 8, 2013.

CHIEN, T.; LIU, C.; HSU, C. Integrating Acupuncture into Cancer Care. **J. Tradit. Complement. Med.**, v. 3, n. 4, p. 234-239, 2013.

CHILDRESS, M. O. Hematologic abnormalities in the small animal cancer patient. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.** v. 42, p. 123-155, 2012.

CHOI, K. W.; HONG, S. W.; CHANG, Y. G. et al. Inflammation-based score (Glasgow prognostic score) as an independent prognostic factor in colorectal cancer patients. **Annals Surg. Treat.**, v. 86, 2014.

CONNOLLY, G. C.; KHORANA, A. A.; KUDERER, N. M, et al. Leukocytosis, thrombosis and early mortality in cancer patients initiating chemotherapy. **Thrombosis Research.** v. 126, p. 113-118, 2010.

COULON, J. B.; DELACROIX-BUCHET, A.; MARTIN, B.; PIRISI, A. Relationships between ruminant management and sensory characteristics of cheeses. **review. Lait.**, v. 84, p.221–241, 2004.

CROSSLEY, R.; COLOMA, A.; RÍOS, C. et al. Determinación de proteína C-reactiva en hembras caninas con tumores mamarios benignos y malignos. **Arc. Med. Vet.**, v.42, p.101-105, 2010.

DIETL, B.; MARIENHAGEN, J.; SCHÄFE, C.; KÖLBL, O. The prognostic value of anaemia at different treatment times in patients with locally advanced head and neck cancer treated with surgery and postoperative radiotherapy. **Clinical Oncology**. v.19, p. 228-233, 2007.

EGGENSCHWILER, J.; VON, B. L.; STRITT, B. et al. Mistletoe lectin is not the only cytotoxic component in fermented preparations of *Viscum album* from white fir (*Abies pectinata*). **BMC Complement Altern Med**. v. 7, 2007.

ELSÄSSER-BEILE, U.; LUSEBRINK, S.; GRUSSENMEYER, U. et al. Comparison of the effects of various clinically applied mistletoe preparations on peripheral blood leukocytes. **Arzneimittelforschung**. v. 48, p.1185-1189, 1998.

ENDO, Y.; TSURUGI, K.; FRANZ, H. The site of action of the A-chain of mistletoe lectin I on eukaryotic ribosomes. **FEBS Lett**. p. 378-380, 1988.

FERGUSON, H.; Canine mamary gland tumours. In: GALERA, P. D.; FREITAS, S. H.; OLIVEIRA, J. E. B. GODOY, S. S., estudo retrospectivo da ocorrência de tumores de mama em cadelas. **Rev. Bras. Méd. Vet.**, v.24, n.6, 2002.

FERREIRA, S. C.; MARTINS, M. L.; VILELA, M.J. Reaction-diffusion model for the growth of avascular tumor. **Phys Rev**. v. 65, p.1-8, 2002.

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

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.448-454, 1999.

GALERA, P. D.; FREITAS, S. H.; OLIVEIRA, J. E. B.; GODOY, S. S. Estudo Retrospectivo da Ocorrência de Tumores de Mama em Cadelas. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.24, n.6, 2002.

GARDIN, N. E. ***Viscum album* no tratamento complementar do câncer e da hepatite C.** Weleda do Brasil Lab. E Farm. Ltda. p.33, 2007.

GONGWANG, L. **Meridianos e pontos de acupuntura: tratado contemporâneo de acupuntura e moxibustão.** São Paulo: Rocca, 2004

GORTER, R. W.; VAN WELY, M.; STOSS, M. et al. WOLLINA U. Subcutaneous infiltrates induced by injection of mistletoe extracts (Iscador). **Am J Ther.** v.5, p.181-187, 1998.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Vet. Bull.**, v. 64, p. 1009-1018, 1994.

HELLMÉN, E. Complex mammary tumours in the female dog: a review. **Dairy Res.**, v.72, n.1, p.90-97, 2005.

HORWITZ, M. J.; STEWART, A. F. Humoral hypercalcemia of malignancy. In: FAVUS, M. F., ed. **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.** 5th ed. Washington D.C.:American Society for Bone and Mineral Research, p. 246-50, 2003.

IGLESIAS, P.; J DÍEZ, J. A clinical update on tumor-induced hypoglycemia. **Europ. Endocrinol.** v. 170, p. 147–157, 2014.

ITOH, T.; UCHIDA, K.; ISHIKAWA, K. et al. Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: differences between small-breed dogs and others. **J. Vet. Med. Sci.**, v.67, n.3, p.345-347, 2005.

JASTI, P.; LAKHANI, V. T.; WOODWORTH, A. et al. Hypercalcemia Secondary to Gastrointestinal Stromal Tumors: Parathyroid Hormone-Related Protein Independent Mechanism?. **End. Prac.**, v. 19, n. 6, 2013.

KIENE, H. Klinische Studien zur misteltherapie karzinomatöser erkrankungen. **Eine Übersicht. Therapeuticon.** v. 3, p. 347-353, 1993.

KIENLE, G. S.; GLOCKMANN, A.; SCHINK, M.; KIENE, H. *Viscum album* L. extracts in breast and gynaecological cancers: a systematic review of clinical and preclinical research. **J. Exp. Clin. Cancer Res.**, v. 28, p. 79, 2009.

KIENLE, G. S.; GRUGEL, R.; SCHINK, M. et al. Safety of higher dosages of *Viscum album* L. in animals and humans - systematic review of immune changes and safety parameters. **Compl. Altern. Med.**, 2011.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the Mammary Gland. In: **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4. ed. St. Louis: Saunders, Elsevier, p. 619-636, 2009.

LEFEBVRE, G.N.F.; BONAMIN, L. V.; DE OLIVEIRA, C. M. Treatment of transmissible venereal tumor (tvt) in dogs with *Viscum album* (mistletoe) associated to chemotherapy. **Clín. Vet.** v. 12, p. 78-86, 2007.

LEROI R: Malignomtherapie mit neuen Iscador- Präparaten. **Krebsgeschehen.** v. 7, p. 136-238, 1997.

LEWIS, M. A.; HENDRICKSON, A. W.; MOYNIHAN, T. J. Oncologic Emergencies: Pathophysiology, Presentation, Diagnosis, and Treatment. **Am. Cancer Soc.**, 2011.

LIMEHOUSE, J. B.; TAYLOR-LIMEHOUSE, P. A. Conceitos orientais da acupuntura. In: SCHOEN, A. M. **Acupuntura Veterinaria**. 2. ed. São Paulo: Roca, cap. 6, p. 76-90, 2006.

LING, S.; FENG, T.; JIA1, K. et al. Inflammation to cancer: The molecular biology in the pancreas. **Oncol. Lett.** v. 7, p. 1747-1754, 2014.

MACEWEN, E. G. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. **Cancer Met. Rew.**, v.9, n.2, p. 125-136, 1990.

MACEWEN, E.G.; WITHROW, J.S. Tumors of the mammary gland. In: **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders, p.356-72, 1996.

MACPHERSON, H.. **Acupuncture Research**. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2007.

MANGIERI, J. Síndromes paraneoplásicas. In.:DALECK, C.R.; RODASKI, S.R.; DE NARDI, A.B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 1ª ed 2009, p.238-249.

MANSKY, P. J.; GREM, J.; WALLERSTEDT, D. B. et al. Mistletoe and Gemcitabine in patients with advanced cancer: a model for the phase I study of botanicals and botanical-drug interactions in cancer therapy. **Integr Cancer Ther**. v. 2, p. 345-352, 2007.

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

MARTINS, D.C.; FERREIRA, A.M.R. Marcadores prognósticos como um auxílio à conduta clínico-cirúrgica em uma cadela apresentando múltiplos nódulos mamários. **Acta Scient. Vet.**, v.31, p.189-191, 2003.

MEINEIZ, A. R. M.; CLEFF, M. B.; FARIA, R. O. **Anclivepa**, Rev. Ofic. de Educ. Cont. da Assoc. Nac. de Clín. Vet. de Peq. Anim., Maio, p. 76. 2004.

MILLANTA, F.; CALANDRELLA, M.; CITI, S. et al. Overexpression of HER-2 in feline invasive mammary carcinomas: an immunohistochemical survey and evaluation of its prognostic potencial. **Vet. Pathol.**, v.42, p. 30-34, 2005.

MISCHKE, R.; ECKERSALL, P.D. Changes in c-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. In: **International colloquium on animal acute phase proteins**. Dublin, Ireland. abstracts and proceedings book, p. 35, 2005.

MISDORP, W. Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins. **Vet. Quat.**, v.10, n.1, p.26-33, 1988.

MISDORP, W.. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. **Armed Forces Inst. Pathol.**, v. 7, n.1, p.1-59, 1999.

MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Iowa: Blackwell, Cap. 12, p. 575-606, 2002.

MORRIS J.S.; DOBSON, J. M.; BOSTOCK, D. E.; O'FARRELL. Effect of ovariohysterectomy in bitches with mammary neoplasms. **Vet. Rec.**, v.142, p.656-658, 2007.

MORRISON, W. B. Paraneoplastic Syndromes and the tumor that cause them. In: **Cancer in dogs and cats.**, 2.ed. Teton: NewMedia, p.731-747, 2001.

MYLONAKIS, M.E.; CERON, J. J.; LEONTIDES, L. et al. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic Ehrlichiosis. **J. Vet. Int. Med.**, n.25, p.211-217, 2011.

NOVOSAD, C.A. Principles of treatment for mammary gland tumors. **Clin. Techn. Small Animal Pract.**, v. 8, n. 2, p. 107- 109, 2003.

OGILVIE, G. Principles of nutrition for the cancer patient. In: Dobson JM, Lascelles BD. **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 2. ed., Gloucester. British Small Animal Veterinary Association. p. 130-135, 2003.

OLIVERIA, J. C.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E. K. et al. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesqui. Vet. Bras.**, v. 30, p. 177-185, 2010.

OTONI, C. C.; RAHAL, S.C.; VULCANO, L. C. et al. Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. **Acta Vet. Scand.** v. 52, 2010

OWEN, L.N. **TNM classification of tumors in domestic animals**. GENEVA: World Health Organization, p.26-32, 1980.

PAGE, R. Palliative care in companion animal oncology. In: **World Small Animal Veterinary Association World Congress** <http://www.vin.com/VINPub/SearchPB/Proceedings>, 2001.

PELETEIRO, M. C.; CORREIA, J. J. Classificação TNM dos tumores mamários de cadela e gata. **Medicina Veterinária**, v. 44, p. 47-50, 1993.

PELETEIRO, M. C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Revis. Port. Ciênc. Vet.**, Lisboa, v. 89, n.509, p.10-29, 1994.

PLANELLAS, M.; BASSOLS, A.; SIRACUSA, C. et al. Evaluation of serum haptoglobin and C-reactive protein in dogs with mammary tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, v.38, p.348-352, 2009.

QUEIROGA, F., LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos fatores de prognóstico. **Ver. Port. de Ciênc. Vet.**, v.97, n.543, p. 119-127, 2002.

ROBINSON, N. G.; OGILVIE, G. K. Complementary and alternative veterinary medicine and cancer. In: WITHROW, S. J; MACEWEN, E. G. **Small animal oncology**. 3. ed, Filadelfia W.B. Saunders Company: v. 185, p.190, 2001.

ROIT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 6 ed. Barueri, Manole. p. 481, 2003.

ROKAVEC, M.; WU, W.; LUO, J. IL6-mediated suppression of miR-200c directs constitutive activation of an inflammatory signaling circuit that drives transformation and tumorigenesis. **Mol. Cell.**, v.6, p. 777–789, 2014.

RUTTEMAN, G.R.; KIRPENSTEIJN, J. Practical treatment of mammary neoplasia. In: North American Veterinary Conference, **Proceed. North Am. veterinary Conf.**, Orlando, Flórida, v. 20, p. 799- 801, 2006.

SCHLODDER, P. M.; BOND, J.A.; MEDNSKY, M. A. Benzene and rat liver microsomes. **Carcinogenesis**, v.14, p.2477-2486,1998.

SCHNEIDER, R. Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. **Cancer**, v.26, n.2, p.419-426, 1970.

SCHOEN, ALLEN M, **Acupuntura veterinária: da arte antiga à medicina moderna**. São Paulo: Roca, 2006.

SCOTT, M. A. Função Hepática. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SERPIL, O.; MERAL, A.; MÜZEYYEN, Ö. et al. Alkaline phosphatase, cytokeratin 7, cytokeratin 8 in the diagnosis of primary lung adenocarcinoma from 148 pleura fluids specimens. **Folia Histochem. Cytobiol.** v. 47, n. 1, p. 87-92, 2009.

SHARKEY, L. C.; ROSOL, T. J.; GRÖNE, A.; WARD, H.; STEINMEYER, C. Production of granulocyte colony-stimulating factor and granulocytemacrophage colony-stimulating factor by carcinomas in a dog and a cat with paraneoplastic leukocytosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 10, p. 405-408, 1996.

SILVA, A. E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Hormonal carcinogenesis and hormone dependent neoplasm. **Cienc. Rural**, mar., v.34, n.2, p.625-633, 2004.

SIMON, D. Palliative treatment in veterinary oncology. In **North American Veterinary Conference** <http://www.ivis.org>, consultado em 18/02/11. Becker H (1986) Botany of European mistletoe (*Viscum album* L.). *Oncology* 43: 2–7, 2006.

SORENMO, K. U.; KRISTIANSEN, V. M.; COFONE, M. A. et al. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. **Veterinary Comparative Oncology**. v. 7, n. 3, p. 162-72, 2011.

STEELE, M. L. Adverse drug reactions and expected effects to therapy with subcutaneous mistletoe extracts (*Viscum album* L.) in cancer patients. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2014, p.11, 2013.

SUZUKI, S.; SHIBATA, M.; GONDA, K. et al. Immunosuppression involving increased myeloid-derived suppressor cell levels, systemic inflammation and hypoalbuminemia are present in patients with anaplastic thyroid cancer. **Molecular and clinical oncology** 1: 959-964, 2013.

STUX, G.; HAMMERSCHALG, R. **Acupuntura Clínica: bases científicas**. São Paulo: Manole, 2005.

TECLES, F.; CALDIN, M.; ZANELLA, A. et al. Serum acute phase protein in female dogs with mammary tumors. **J. Vet. Diag. Investi.**, v.21, p.214-219, 2009.

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, p. 532, 2002.

USORO, N. I.; OMABBE, M. C.; USORO, C. A. Calcium, inorganic phosphates, alkaline and acid phosphatase activities in breast cancer patients in Calabar, Nigeria. **African Health Sciences** v. 10, n. 1, 2010.

UVA, P.; AURISICCHIO, L.; WATTERS, J, et al. Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. **BMC Genomics**, v.10, n.135, 2009.

VIEIRA, C. M.; COLETA, F. E. D.; GODOY, A. V. et al. Acute phase protein in canine lymphoma during antineoplastic chemotherapy. **Braz. J. Vet. Pathol.**, n.3, v.2, p.86-92, 2010.

YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; MIYAJI, S. et al. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. **Vet. Res. Communic.**, v.17, n.2, p.85-93, 1993.

WAKSHLAG, J.; KALLFELZ, F. Nutritional status of dogs with cancer: dietetic evaluation and recommendations. In PASCALE, P.; BIOURGE, V.; ELLIOTT, D. **Encyclopedia of canine clinical nutrition**. Royal Canin, p. 408-412, 2006.

WANG, Y., LEI, R.; ZHUANG, X. et al., DLC1-dependent parathyroid hormone-like hormone inhibition suppresses breast cancer bone metastasis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 4, 2014.

WEISSENSTEIN, U., KUNZ, M., URECH, K. et al. Interaction of standardized mistletoe (*Viscum album*) extracts with chemotherapeutic drugs regarding cytostatic and cytotoxic effects in vitro. **BMC Complement. Altern. Med.**, 2014.

WEN, T. S. **Acupuntura clássica chinesa**. São Paulo: Cultrix, 1985.

WHITE, R.A.S. Tratamento cirúrgico de distúrbios cutâneos específicos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. Barueri: Manole, v.1, cap.25, p. 339-355, 2007.

WHITE, A. In: **Introduction to Western Medical Acupuncture**. London: Churchill Livingstone, 2008.

WITHROW, S. In Withrow SJ, Macewen EG. **Small animal oncology**. 3. ed. Filadelfia W.B. Saunders Company, p.1-3, 2001.

XIE, H.; PREAST, V. **Acupuntura veterinária Xie**. São Paulo: MedVet, 2011.

ZHANG, X. Y.; LI, W. H.; WEN, T. F. et al. Clinical observation on injection of small dose of morphine into Neiguan (PC 6) for treatment of chest pain in the patient with acute myocardial infarction. **Zhongguo Zhen Jiu**, v. 28, n. 9, p. 642-4. 2008.

ZHOU, W.; FU, L. W.; TJEN-A-LOOI, S. C. et al. Afferent mechanisms underlying stimulation modality-related modulation of acupuncture-related cardiovascular responses. **J Appl Physiol**, v. 98, n. 3, p. 872-80. 2005.

ZUCCARI, D. A. P. C.; SANTANA, A. E.; ROCHA, N. S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Braz. Vet. Res. Anim. Scie.**, v.38, n.1, p .38-41, 2001.

Capítulo 2

Análise dos parâmetros hematológicos e bioquímica sérica em cadelas com neoplasias mamárias, sob efeito da terapia adjuvante com o uso do *Viscum album* no ponto VG14

Hematological parameters and biochemical serum analysis in bitches mammary neoplasia, under the adjunctive therapy with *Viscum album* use in the VG14 point

Renata Nogueira Figueiredo¹, Karina Yukie Hirata¹, Breno Fernando Martins de Almeida², Alexandre Lima de Andrade³

RESUMO - Utilizaram 18 cadelas portadoras de neoplasias mamárias malignas e benignas, classificadas entre os estádios I e II, com no máximo um ano de evolução. Constituíram-se três grupos experimentais, com seis animais cada: Grupo controle (GC): submetidas apenas à mastectomia radical, Grupo Tratado (GT): mastectomia e tratamento adjuvante com 1 mL de *Viscum album* no VG14, semanalmente, durante três meses e o Grupo Placebo (GP): mastectomia e tratamento adjuvante com 1 mL solução fisiológica no VG14, em mesmo esquema e períodos adotados no GT. Amostras de sangue foram colhidas antes da cirurgia (momento 0 – M0), aos 30 dias (momento 1 – M1) e aos 90 dias (momento 2 – M2), após os tratamentos. Foram realizadas dosagens séricas de proteína total, albumina, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, glicose e hemogramas. Houve diferença estatística no M2, quanto aos valores de proteína total do GC em relação aos demais grupos. Houve aumento dos teores de albumina, após 3 meses de tratamento, nos animais que receberam *Viscum album*. Houve aumento da fosfatase alcalina e cálcio, sem alterações nos teores de fósforo, nos animais do GC nos momentos 1 e 2, respectivamente. Não foram observadas alterações hematológicas e diferenças entre os grupos e momentos. Os níveis de glicose estiveram normais em todos os animais e em todos os momentos. Concluiu-se que o tratamento com *Viscum album* no ponto VG14, adjuvante à mastectomia radical em cadelas, foi

capaz de prevenir alterações dos parâmetros bioquímicos analisados à curto prazo.

Palavras-chave: cães, mama, câncer, acuponto, *Viscum album*.

ABSTRACT - The experiment was conducted using 18 bitches carrying benign and malignant breast tumors classified between stages I and II as malignancy, with a maximum of 1 year of evolution and without ulceration. Three experimental groups of 6 animals each were developed: group control (GC) underwent mastectomy only, group under treatment (GT) underwent mastectomy and adjuvant treatment with 1 ml of *Viscum album* in VG 14 weekly for 3 months and the placebo group (PG) underwent mastectomy and adjuvant treatment with 1 ml saline in VG 14, in the same scheme and periods adopted in GT. blood samples were collected before surgery (time 0-M0), 30 days (time1-M1) and 90 days (time2-M2), after treatments. Serum total protein, albumin, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and glucose were performed by spectrophotometry using commercial reagents. Statistical tests were used to compare between groups and time. There were statistical differences in M2, as the total protein of the GC in relation to other groups. The data showed an increase in the levels of albumin after 3 months of treatment in the animals that received *Viscum album*. The data showed an increase in alkaline phosphatase and calcium without changes in phosphorous uptake in animals of GC at times 1 and 2, respectively. There were not abnormalities and statistical differences in hematologic parameters were observed. Glucose levels are normal in all animal at all times. In conclusion, the data showed that the treatment with *Viscum album* I point VG14, adjuvant to radical mastectomy in bitches, was able to prevent changes in the biochemical parameters analyzed in short term.

Keywords: dogs, breast cancer, acupoint, *Viscum album*.

1 INTRODUÇÃO

Devido à elevada incidência de tumores de mama em cadelas, estudá-las ainda é assunto que merece atenção em relação às demais doenças (PELETEIRO, 1994), principalmente por serem modelos apropriados com apresentação histopatológica e comportamento biológico similares às que acometem o homem (MACEWEN, 1990; MISDORP, 1988; UVA et al., 2009).

Quando ocorre o agravamento da doença oncológica, outros sinais podem caracterizar a síndrome paraneoplásica (SPN), que se constituem em um grupo de sinais clínicos associados, por ações não invasivas do tumor (BERGMAN, 2012), cuja incidência na medicina veterinária é, ainda, desconhecida (MORRISON, 2001). Além disso, a neoplasia mamária, como qualquer outra condição grave, está associada a perturbações fisiológicas e orgânicas que alteram a homeostase, devido à elevação ou redução de alguns metabólitos bioquímicos. Portanto, considerá-los, permite um melhor monitoramento dos pacientes e de seu tratamento, sob uma abordagem ampla da doença sistêmica (USORO et al., 2010).

Por causar distúrbios na homeostase, as neoplasias podem desencadear alteração de algumas proteínas sanguíneas, sobretudo quando há necrose tecidual ou reação inflamatória secundária (GRUYS et al., 2005). A hiperglobulinemia foi descrita em cadelas com neoplasias mamárias (PLANELLAS et al., 2009; CROSSLEY et al., 2010), bem como em estudos na medicina (HU et al., 2008). A hipoalbuminemia é geralmente observada em pacientes com síndrome caquexia e está frequentemente associada com inflamação crônica (SUZUKI et al., 2013).

A hipercalcemia humoral maligna (HHM), também é observada e decorre de uma alteração sistêmica dos níveis de cálcio, mediada pela proteína relacionada ao paratormônio (PTHrP). Os níveis séricos de glicose também podem estar alterados na vigência do desenvolvimento tumoral. A hipoglicemia ocorre devido ao aumento do consumo de glicose pela massa neoplásica e/ou

suas metástases e, ainda, pela infiltração neoplásica maciça em tumores hepáticos, da hipófise ou da glândula adrenal (IGLESIAS; DÍEZ, 2014).

A mensuração dos níveis séricos da fosfatase alcalina (FA) podem revelar aspectos importantes sob a condição clínica do paciente oncológico. Em algumas neoplasias mamárias malignas ou benignas, a enzima pode estar elevada, mesmo na ausência de metástase hepática ou óssea. O mesmo ocorre na presença de tumores ósseos devido ao aumento da atividade osteoclástica e reabsorção óssea. (SERPIL et al., 2009; SCOTT et al., 2011).

O tratamento de eleição das neoplasias mamárias em cadelas é a excisão cirúrgica do tumor e das mamas acometidas, o que torna esse método apenas paliativo, pois não leva à cura, e apenas promove a melhora na qualidade de vida do paciente (WHITE, 2007). Adjutoramente, a medicina complementar tem por objetivo a manutenção da qualidade de vida dos animais, com a vantagem de se constituir em tratamentos menos invasivos que os convencionais. Dentre eles, destaca-se o uso de fitoterápicos como o *Viscum album* (VA) (PAGE, 2001; OGILVIE, 2003). Seus extratos (viscotoxinas e lectinas) possuem efeitos deletérios às células neoplásicas, efeitos benéficos sobre a qualidade de vida dos pacientes e redução das reações adversas aos quimioterápicos (MANSKY, 2007), além de estimular o sistema imunológico *in vivo* (STEELE et al., 2013). Há descrições que eles podem induzir à apoptose, inibir a síntese proteica celular e gerar danos à membrana plasmática (EGGENSCHWILER et al., 2007). A aplicação de soluções fitoterápicas em pontos de acupuntura constitui-se em outra forma eficaz e rápida de tratamento, sendo o ponto Vaso Governador 14 (VG14) o mais, frequentemente utilizado para estimular a imunidade (SCHOEN, 2006).

O objetivo do estudo foi determinar a variação dos teores de proteína total (PT), albumina, fósforo, cálcio e FA em cadelas portadoras de tumores de mama espontâneos, e que foram submetidas à mastectomia radical com ou sem tratamento adjuvante com farmacopuntura com *Viscum album* no ponto VG14.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Seleção dos animais

Foram utilizadas 18 cadelas portadoras de neoplasias mamárias malignas e benignas (Quadro 1), de diversas raças e idade, provenientes da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira”, da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da UNESP – campus de Araçatuba. Os tumores foram classificados segundo Cassali et al (2011). Os critérios de inclusão foram: neoplasias com no máximo um ano de evolução, sem sinais radiográficos evidentes de metástase pulmonar, com no mínimo dois nódulos, podendo ou não acometer a mesma cadeia mamária. Cadelas com nódulos ulcerados não foram selecionadas.

2.2 Grupos experimentais

As cadelas selecionadas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos de estudo, constituído por seis animais em cada grupo; grupo controle (GC), que foram submetidas apenas à mastectomia radical, grupo tratado (GT) em que foram submetidas à mastectomia radical e tratamento adjuvante com 1 mL de *Viscum album* no ponto VG14, semanalmente após uma semana da cirurgia, durante três meses e grupo placebo (GP), constituído por cadelas submetidas à mastectomia radical e tratamento adjuvante com 1 mL solução fisiológica no ponto VG14, em mesmo esquema descrito no GT.

Quadro 1 – Classificação histológica das neoplasias mamárias de cadelas tratadas pela mastectomia radical com ou sem tratamento adjuvante com *Viscum album*. Araçatuba, 2014.

Tipos histológicos nos diferentes grupos		
<i>Grupo Controle (GC)</i>	<i>Grupo Tratado (GT)</i>	<i>Grupo Placebo (GP)</i>
Carcinoma tubular misto	Carcinoma tubular complexo	Carcinoma simples
Carcinoma tubular	Carcinoma complexo	Carcinoma tubular simples
Carcinoma misto	Carcinoma complexo	Carcinoma complexo
Carcinoma complexo	Adenoma	Carcinoma simples
Carcinoma tubular (baixo grau)	Carcinoma simples	Carcinoma tubular
Carcinoma cístico tubular	Carcinoma misto	Carcinoma simples

Classificação histológica segundo Cassali et al (2011).

2.3 Farmacopuntura com *Viscum album* e solução fisiológica no acuponto VG14

A aplicação de *Viscum album* (GT) e da solução fisiológica (GP) foi realizada no ponto de acupuntura VG 14 (Figura 1) localizado na linha média dorsal, na depressão cranial ao processo espinhoso dorsal da primeira vértebra torácica. Para tanto, as aplicações foram realizadas utilizando-se seringas de 1 mL e agulhas 0,45 x 13 mm contendo 1,0 mL do fitoterápico (*Viscum album* oriundo da macieira, Intercject®) ou solução fisiológica 0,9% estéril.

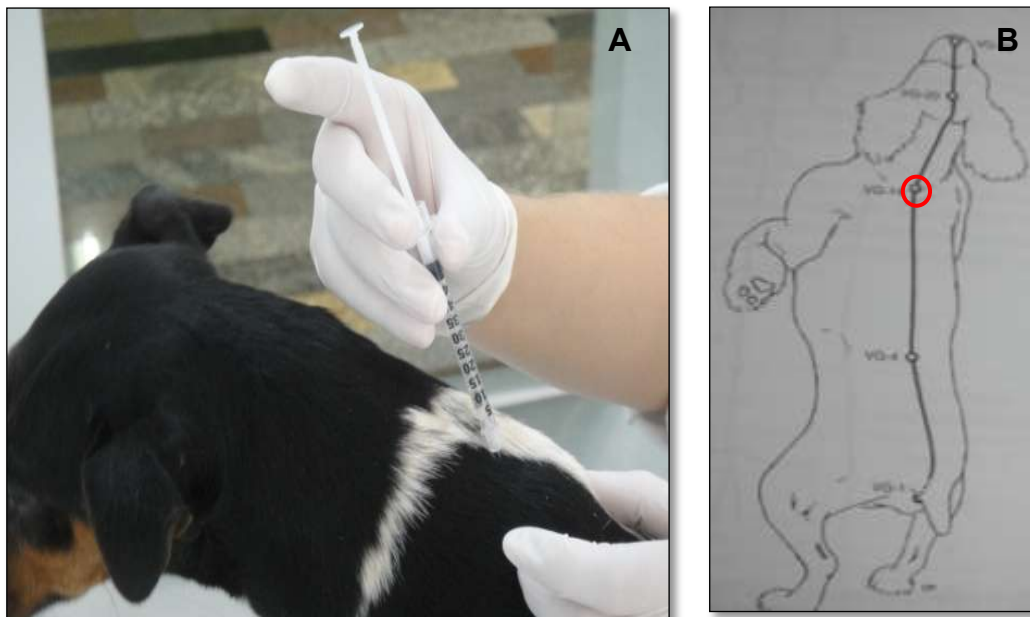


Figura 1. A. Imagem fotográfica do procedimento de fitoacupuntura em uma cadela do Grupo Tratado (GT) (Fonte: arquivo próprio). B. Ilustração dos marcos divisórios ósseos palpáveis da coluna vertebral e ossos adjacentes. Observar localização do ponto vaso governador VG14, círculo vermelho. (Fonte: SCHOEN, 2006).

2.4 Colheita e processamento das amostras

Foram colhidos 5 mL de sangue por venopunção jugular de cada cadela, sendo 4,5mL acondicionados em tubos estéreis sem aditivos, para obtenção de soro e armazenados a -20° C até o momento da análise e 0,5 mL num tubo com anticoagulante EDTA para as análises do hemograma.

A colheita das amostras foi realizada em três momentos: M0: imediatamente antes do procedimento cirúrgico de mastectomia, M1: aos 30 dias depois e M2 aos 90 dias depois.

As análises bioquímicas foram realizadas utilizando espectrofotômetro semi-automático (SB-190, CELM[®], Barueri, Brasil) e um conjunto de reativos comerciais, seguindo as instruções dos fabricantes (Labtest Diagnóstica[®], Belo Horizonte, Brasil) e empregando-se os métodos descritos por Scott et al (2011).

Os hemogramas foram realizados imediatamente após a coleta utilizando-se equipamento semi automático da Celm® CC550.

2.5 Análise estatística

As variáveis estudadas foram tratadas quanto à normalidade e homocedasticidade, utilizando-se do teste de ANOVA, com a finalidade de se detectar a diferença entre os grupos nos três momentos. O teste ANOVA com medidas repetidas foi adotado para se detectar em diferenças quanto aos tempos avaliados em cada grupo. Todos os ensaios foram realizados utilizando-se programa estatístico específico (GraphPad Prism Software Inc. v.5.0, San Diego CA), cujo o nível de significância considerado foi $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

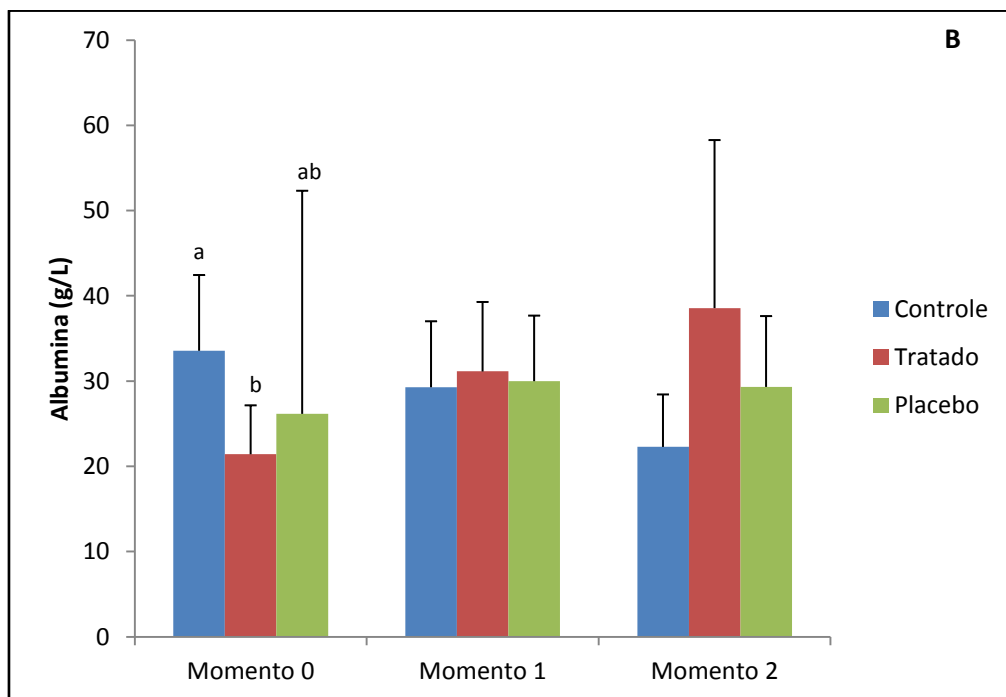
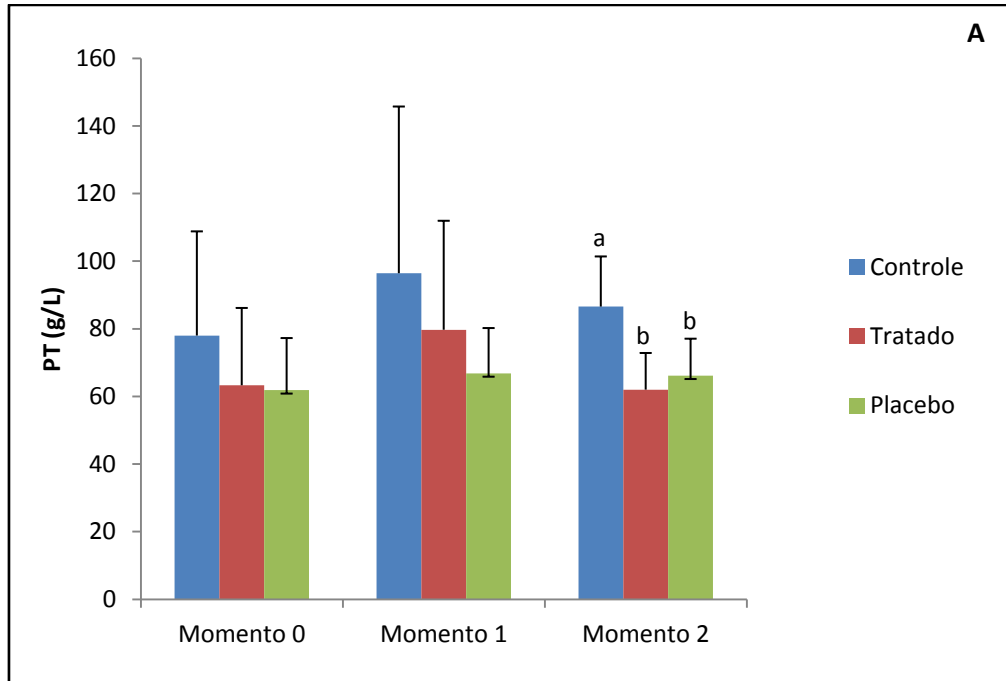
O que motivou intentar a referida pesquisa foram os relatos atuais sobre a eficácia dos extratos de *Viscum album* na melhoria da qualidade de vida, no aumento dos índices de sobrevida e da redução de efeitos colaterais que ocorrem em tratamentos convencionais (WEISSENSTEIN et al., 2014). Adicionalmente, avaliar os parâmetros bioquímicos que podem estar alterados, pode ser um indicador da melhora ou piora da doença oncológica (BERGMAN, 2012). Ainda, porque se trata de uma tarefa de fácil execução e baixos custos. Encontraram-se resultados interessantes sobre a eficácia deste fitoterápico em promover a redução e manutenção dentro dos parâmetros de normalidade de alguns deles, comparativamente aos animais que foram submetidos apenas à mastectomia (GC).

Algumas alterações hematológicas podem ser observadas em cadelas com neoplasias mamárias. Dentre elas, destacam-se a anemia, leucocitose e trombocitopenia (CHILDRESS, 2012), que não foram observadas em nenhuma das cadelas incluídas neste estudo, em todos os momentos de avaliação.

Ressalta-se que, possivelmente, não foram encontradas tais alterações, pois as colheitas foram realizadas um mês e três meses após à cirurgia.

Relativamente à PT, observou-se que os animais incluídos no GC foram os únicos a terem os valores deste parâmetro acima dos limites superiores, em todos os momentos avaliados. Neste grupo, os teores de albumina aumentaram apenas no M2. No GT, a PT estava normal, no M0, aumentando no M1, e retornando aos valores normais no M2. Neste mesmo grupo, houve um aumento progressivo dos teores de albumina, mas, salienta-se que no M0, os valores estavam inferiores à faixa de normalidade e, no M2, eles estavam aumentados. Não foram observadas alterações nos níveis PT e albumina nos animais do GP, ao longo de todo período de avaliação. Houve diferença estatística no M2, quanto aos valores de PT do GC em relação aos demais grupos (Figura 2A). Foi observada diferença estatística quanto aos teores de albumina nos animais do GC em relação aos do GT, no M0 (Figura 2B). O teor de albumina nos animais do GP não diferiu ao longo do tempo, em relação aos demais grupos.

Não houve intenção em agrupar os animais levando em consideração os tipos histológicos apresentados, no entanto 94,4% (n=17) deles, tratavam-se de diferentes sub-tipos de carcinomas, o que permite considerar que os grupos eram homogêneos, mas houve persistência de níveis elevados da PT, apenas, nos animais do GC, durante toda avaliação. Isto pode estar relacionado ao fato de que estas cadelas possuíam neoplasias mamárias malignas associadas à uma maior reação inflamatória, o que desencadeou uma resposta de fase aguda mais intensa, ocasionando alterações de algumas proteínas sanguíneas, sobretudo pela vigência de processos infecciosos, inflamatórios e necrose tecidual associados (CALAZANS et al., 2009; CÉRON, et al., 2005; GRUYS et al., 2005; MYLONAKIS et al., 2011; YAMAMOTO et al., 1993).



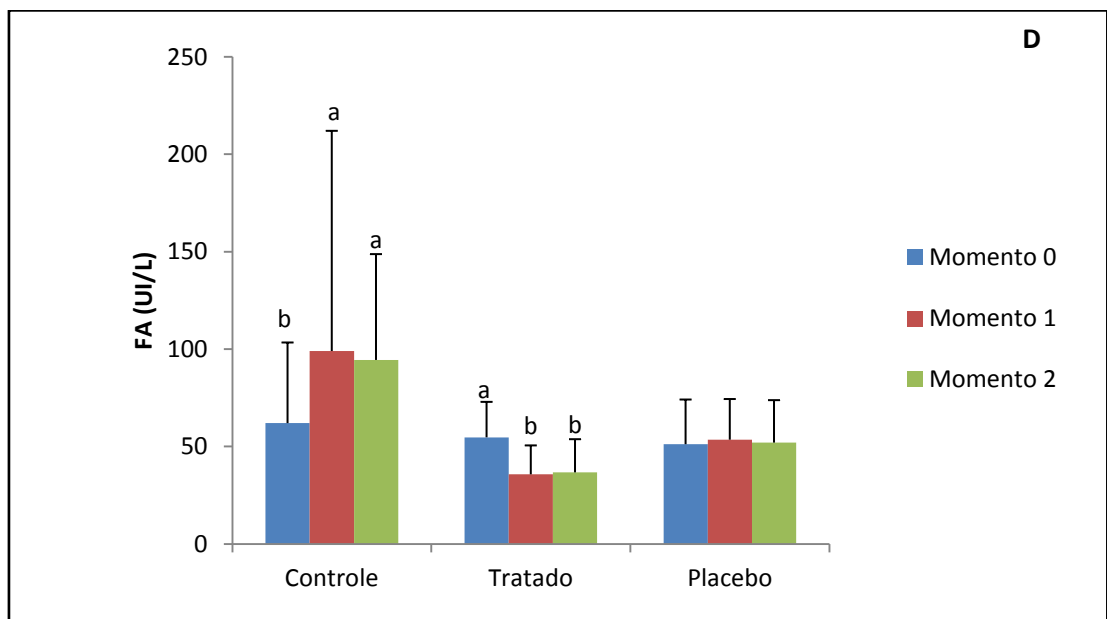
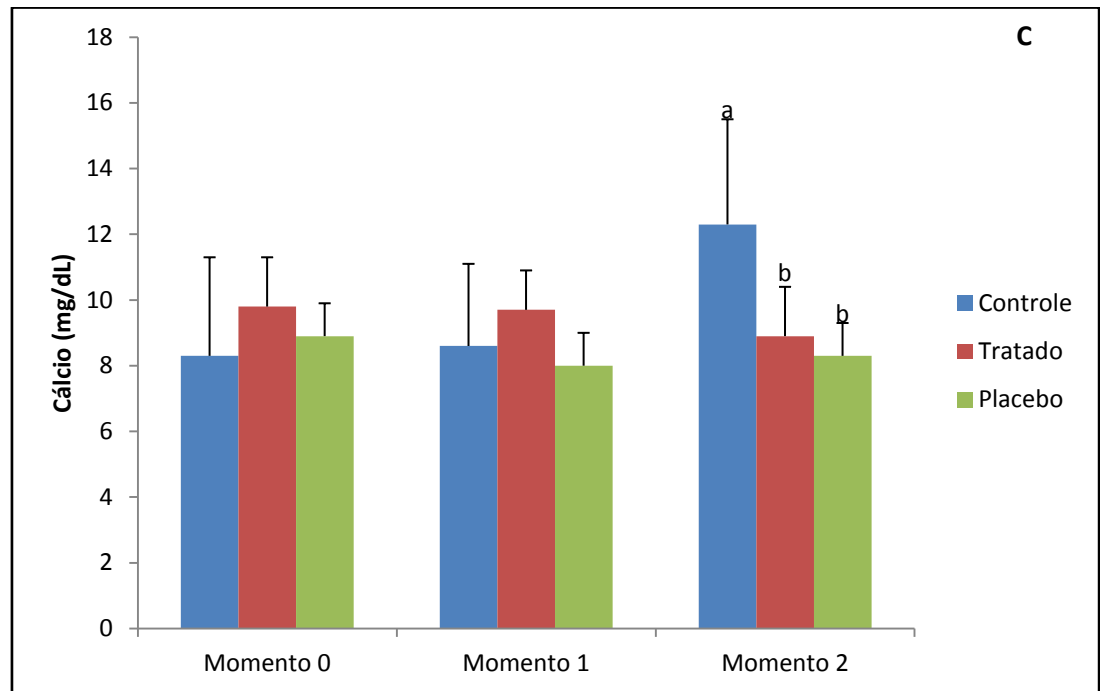


Figura 2 – Gráficos representativos dos valores séricos de PT, albumina, cálcio e FA de animais submetidos à mastectomia radical, tratados ou não com fitoacupuntura no ponto VG14. A. Valores de PT ao longo do tempo. B. Valores de albumina, na comparação entre grupos; C. Valores de cálcio, ao longo do tempo; D. Valores de FA, na comparação entre os grupos (Araçatuba, 2014).

Variações séricas das proteínas de fase aguda são observadas nos casos de neoplasias mamárias (CROSSLEY et al., 2010; VIEIRA, 2009). Os valores podem variar em função do estímulo inflamatório, do tamanho do tumor primário, da presença de metástases e, principalmente, quando há presença de ulcerações tumorais (TECLES et al., 2009), que não se aplicam neste estudo, pois foram incluídos apenas animais classificados no estágio I e II, segundo a classificação proposta por Owen (1980). É possível que estejam representadas pela proteína C reativa (PCR) e haptoglobina (Hp).

Interessantemente, observou-se que, mesmo após a mastectomia radical como modalidade única de tratamento, os valores de PT mantiveram-se elevados nos períodos mais tardios, corroborando o que foi descrito, que as neoplasias malignas promovem inflamação crônica, maior lesão tecidual e necrose tumoral, quando comparadas às neoplasias benignas (PLANELLAS et al, 2009, TECLES et al, 2009). No entanto, trata-se de suposições, pois estas PFA positivas não foram mensuradas no presente trabalho. Apesar da redução dos teores de albumina ser observado em pacientes portadores de neoplasias ulceradas, devido ao aumento expressivo da PCR e Hp como mecanismo de compensação (CALAZANS et al, 2009), salienta-se que o mesmo ocorreu nos pacientes do GC que não tinham neoplasias ulceradas.

O aumento da PT, um mês após o início da terapia adjuvante com visco (M1), pode estar relacionado ao aumento da produção de imunoglobulinas, e não à presença de PFA como observado nas cadelas do GC. Tais resultados, nos permitem inferir que o visco é capaz de controlar o aumento da PCR e Hp, com a vantagem da melhora da imunidade, conforme descreveu Steele et al. (2013). Pelos achados e por esta suposição, as aplicações semanais por até três meses após a cirurgia, não foram capazes de manter os níveis de imunoglobulinas elevados, pois no M2 houve redução dos valores de PT para os níveis normais. Nos quadros clínicos oncológicos há, também, uma elevação das imunoglobulinas devido ao aumento da sua produção endógena, que levam a uma alteração mais pronunciada na relação albumina/globulina.

No entanto, tal mecanismo patológico, ainda, não foi completamente elucidado (FLECK et al., 1985; SCOTT et al., 2011). Testes empregando técnicas de eletroforese seriam necessários para esta constatação. A albumina diminuída no M0 nestes animais (GT) pode estar relacionada à maior inflamação tumoral e peritumoral (ROXBURGH; McMILLAN, 2010) antes do tratamento, porém pelos achados se observou redução dos níveis de albumina aos patamares normais, no M1, com possível controle da inflamação. Estranhamente, os teores desta PFA negativa se elevou no M2.

Os valores de cálcio estiveram normais em todos os animais, no M0 e no M1, e apenas nos animais do GC, ele estava elevado, no M2, diferindo estatisticamente em relação aos demais grupos ($p=0,0102$) (Figura 2C). Aventa-se, portanto, a possibilidade de que esses animais, embora livres do tumor após a cirurgia, estivessem evoluindo na doença oncológica, pela ocorrência de micrometástases, que eram imperceptíveis aos exames clínicos adotados. Uma variedade de mecanismos tenta explicar o aumento de cálcio nos pacientes com neoplasias mamárias, entretanto, é imputada a liberação sistêmica PTHrP tumoral, que leva à HHM com efeitos metabólicos (HORWITZ; STEWART, 2003).

A PTHrP tem sua porção terminal homóloga ao paratormônio (PTH), e compete pelo mesmo receptor. A sua elevação sanguínea induz aos efeitos metabólicos, tais como: ativação dos osteoclastos, diminuição do débito de cálcio renal e aumento da depuração de fosfato renal (HORWITZ e STEWART, 2003). Adenocarcinoma mamário e de ovário, carcinoma de células renais, carcinoma de células transicionais da bexiga, tumores de células insulares do pâncreas, linfoma de células T e feocromocitoma podem produzir a PTHrP (BERGMAN, 2012; CHEUNG et al., 2013).

Informa-se que a maioria dos animais incluídos no estudo era portador de carcinomas mamários, em que já foi confirmada a ocorrência de hipercalcemia por este mecanismo (BERGMAN, 2012; CHEUNG et al., 2013, JASTI et al., 2013). A HHM representa, aproximadamente, 30% e 40% das SPNs em pacientes humanos e caninos, respectivamente (STEWART, 2005;

JASTI et al., 2013). Além disso, neoplasias mamárias podem estimular as plaquetas a produzirem ácido lisofosfatídico no local da metástase, acarretando crescimento tumoral e destruição óssea mediada por citocinas (BOUCHARABA et al, 2004). Portanto, é possível que a fitoacupuntura com visco no ponto VG14 com solução fisiológica, também tenha promovido efeito benéfico quanto ao controle da elevação do cálcio sérico.

A hipofosfatemia é comum em decorrência do efeito fosfatúrico do PTHrP nas HHM, do uso de diuréticos de alça, da própria hipercalcemia ou da menor ingestão alimentar (HORWITZ; STEWART, 2003). No entanto, isto não aplica ao nosso estudo, pois os valores de fósforo mantiveram-se normais em todos os animais e durante toda observação, mas é fato que os animais encontravam-se nos estádios iniciais da doença oncológica.

Apesar de ter sido observada diferença estatística entre os momentos do GC e GT, não houve alteração dos níveis de FA em todos os animais, considerando-se os valores de referência ($p=0,0281$) (Figura 2D). O aumento da atividade dessa enzima pode ocorrer pela presença de metástases ósseas, em que há um aumento da atividade osteoclástica e reabsorção óssea. (SERPIL et al., 2009; SCOTT et al., 2011), mas a sua elevação, também, pode estar relacionada a algumas situações clínicas inespecíficas e a outras doenças. Keshaviah (2007) mensurou várias enzimas em pacientes com metástase ósseas secundárias a neoplasias mamárias e concluiu que, apesar da inespecificidade da FA, ela deve ser escolhida em detrimento à AST e GGT, no monitoramento de pacientes oncológicos.

Os valores de glicose mantiveram-se dentro da normalidade e não oscilaram nos grupos e nem nos momentos. A hipoglicemia é observada devido ao aumento do consumo de glicose pela massa tumoral e/ou suas metástases, bem como, na infiltração maciça da neoplasia no fígado (IGLESIAS; DI´EZ, 2014). Isto não se aplica aos animais incluídos neste estudo, pois apesar da presença das neoplasias mamárias malignas, os animais estavam em boas condições corpóreas, sem sinais de subnutrição, inanição ou caquexia (BORRELLI et al., 2009; BERGMAN, 2012).

Com base no que foi exposto e nas condições aqui adotadas, conclui-se que o tratamento com *Viscum album* no ponto VG14, adjuvante à mastectomia radical em cadelas foi capaz de prevenir alterações nos teores de proteína total, albumina, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e glicose, em uma avaliação em curto prazo da bioquímica sérica. Tais achados permitem inferir que a estimulação do VG14, quer seja com visco ou solução fisiológica, pode promover um controle das possíveis alterações bioquímicas presentes em animais portadores de SPNs, ainda não detectadas. O visco aplicado no VG14 promove uma melhoria do *status* imunitário, importante em pacientes oncológicos, com a vantagem excedente da melhoria de qualidade de vida de cadelas portadoras de neoplasias mamárias tratadas por cirurgia.

4 COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA), sob protocolo n.2013-00495.

5 REFERÊNCIAS

BERGMAN, P. J. Paraneoplastic Syndromes. In: MACEWEN, G.; WITHROW, S.J.: **Small animal clinical oncology**. Missouri: Saunders, p.77-94, 2012.

BORRELLI, A.; MATTIAZZI, L.; CAPUCCHIO, M.T., et al. Cachexia secondary to intracranial anaplastic (malignant) ependymoma in a boxer dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.50, n.10, p.554-557, 2009.

BOUCHARABA, A.; SERRE, C. L.; GRÈS, S. et al. Platelet-derived lysophosphatidic acid supports the progression of osteolytic bone metastases in breast cancer. **J Clin Invest**. v. 114, p. 1714-25, 2004.

CALAZANS, S.G; DALECK, C.R; FAGLIARI, J.J., et al. Proteinograma sérico de cães sadios e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v.61, n.5, p.1044-1048, 2009.

CASSALI, G.D.; LAVALLE, G.E.; ANDRIGO, B.N. et al. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary gland. **Braz. J. Vet. Pathol.** v.4, n.2, p.153-180, 2011.

CERÓN J. J; ECKERSAL P. D; MARTINEZ-SUBIELA S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p.85–99, 2005.

CHEUNG, V., BOURALEXIS, S., GILLESPIE, M. T. PTHrP Overexpression Increases Sensitivity of Breast Cancer Cells to Apo2L/TRAIL. **PLoS ONE**. p. 8, 2013.

CHILDRESS, M. O. Hematologic abnormalities in the small animal cancer patient. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.** v. 42, p. 123-155, 2012.

CROSSLEY, R; COLOMA, A; RÍOS, C; GONZÁLEZ, C. Determinación de proteína C-reactiva en hembras caninas con tumores mamarios benignos y malignos. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.42, p.101-105, 2010.

EGGENSCHWILER, J., VON, B. L., STRITT, B. Mistletoe lectin is not the only cytotoxic component in fermented preparations of *Viscum album* from white fir (*Abies pectinata*). **BMC Complement Altern Med.** v. 7, 2007.

FLECK, A.; COLLEY, C.M. & MEYERS, M.A. Liver export proteins and trauma. **Br. Med. Bull.**v. 4, p. 265-73, 1985.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of zhejiang university science**, v. 6B, p. 1045-1056, 2005.

HORWITZ, M. J., STEWART, A. F. Humoral hypercalcemia of malignancy. In: FAVUS, M. F., ed. **Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism**. 5th ed. Washington D.C.:American Society for Bone and Mineral Research, p. 246-50, 2003.

HU, D; ZHENG, H; LIU, H; LI, M; REN, W; LIAO, W; DUAN, Z; LI, L; CAO, Y. Immunoglobulin expression and its biological significance in cancer cells. **Cellular & Molecular Immunology**. v.5, n.5, p. 319-324, 2008.

IGLESIAS, P.; J DI´EZ, J. A clinical update on tumor-induced hypoglycemia. **European Journal of Endocrinology**. v. 170, p. 147–157, 2014.

JASTI, P.; LAKHANI, V. T.; WOODWORTH, A.; DAHIR,K. M. Hypercalcemia Secondary to Gastrointestinal Stromal Tumors: Parathyroid Hormone-Related Protein Independent Mechanism?. **Endocrine practice**. v. 19, n. 6, 2013.

KESHAVIAH, A.; DELLAPASQUA, S.; ROTMENSZ, N. et al. CA15-3 and alkaline phosphatase as predictors for breast cancer recurrence: a combined analysis of seven International Breast Cancer Study Group trials. **Annals of Oncology**. v. 18, p. 701–708, 2007.

MACEWEN, E.G. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. **Cancer and Metastases Review**, v.9, n.2, p. 125-136, 1990.

MANSKY, P. J.; GREM, J.; WALLERSTEDT, D. B.; MONAHAN, B. P.; BLACKMAN, M. R. Mistletoe and Gemcitabine in patients with advanced

cancer: a model for the phase I study of botanicals and botanical-drug interactions in cancer therapy. **Integr Cancer Ther.** v. 2, p. 345-352, 2007.

MISDORP, W. Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins. **Veterinary Quaterly**, v.10, n.1, p.26-33, 1988.

MORRISON, W. B. Paraneoplastic syndromes and the tumor that cause them. **Cancer in dogs and cats**, p. 731-744, Teton NewMedia, 2 ed., 2001.

MYLONAKIS, M.E.; CERON, J.J.; LEONTIDES, L.; SIARKOU, V.I.; MARTINEZ, S; TVARIJONAVICIUTE, A.; KOUTINAS, A. F.; HARRUS, S. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic Ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n.25, p.211-217, 2011.

OGILVIE, G. Principles of nutrition for the cancer patient. In: Dobson JM, Lascelles BD. **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 2. ed., Gloucester. British Small Animal Veterinary Association. p. 130-135, 2003.

OWEN, L.N. TNM Classification of tumors in domestic animals. **World Health Organization**, Geneva: WHO, p.26-32, 1980.

PAGE, R. Palliative care in companion animal oncology. In: **World Small Animal Veterinary Association World Congress** <http://www.vin.com/VINPub/SearchPB/Proceedings>, 2001.

PELETEIRO, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 89, n.509, p.10-29, 1994.

PLANELLAS, M. et al. Evaluation of serum haptoglobin and C-reactive protein in dogs with mammary tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, v.38, p.348-352, 2009.

ROXBURGH, C.S; McMILLAN, D.C. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. **Future Oncology**, v. 6, p.149-163, 2010.

SCOTT, M. A. Função Hepática. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SERPIL, O.; MERAL, A.; MÜZEYYEN, Ö. et al. Alkaline phosphatase, cytokeratin 7, cytokeratin 8 in the diagnosis of primary lung adenocarcinoma from 148 pleura fluids specimens. **Folia histochemica et cytobiologica**. vol. 47, n. 1, p. 87-92, 2009.

SCHOEN, A. M., **Acupuntura veterinária: da arte antiga à medicina moderna**. São Paulo: Roca, 2006.

STEELE, M. L. Adverse drug reactions and expected effects to therapy with subcutaneous mistletoe extracts (*Viscum album* L.) in Cancer Patients. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2014, p.11, 2013.

STEWART, A. F. Hypercalcemia associated with cancer. **N Engl J Med**. v. 352, p.373-379, 2005.

SUZUKI, S.; SHIBATA, M.; GONDA, K. et al. Immunosuppression involving increased myeloid-derived suppressor cell levels, systemic inflammation and hypoalbuminemia are present in patients with anaplastic thyroid cancer. **Molecular and clinical oncology** 1: 959-964, 2013.

TECLES, F.; CALDIN, M.; ZANELLA, A. et al. Serum acute phase protein in female dogs with mammary tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.21, p.214-219, 2009.

USORO, N. I.; OMABBE, M. C.; USORO, C. A. Calcium, inorganic phosphates, alkaline and acid phosphatase activities in breast cancer patients in Calabar, Nigeria. **African Health Sciences** v. 10, n. 1, 2010.

UVA, P.; AURISICCHIO, L.; WATTERS, J, et al. Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. **BMC Genomics**, v.10, n.135, 2009.

VIEIRA, C. M.; COLETA, F. E. D.; GODOY, A. V., et al. Acute phase protein in canine lymphoma during antineoplastic chemotherapy. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, n.3, v.2, p.86-92, 2010.

YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; MIYAJI, S., et al. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. **Veterinary Research Communications**, v.17, n.2, p.85-93, 1993.

WHITE, R.A.S. Tratamento cirúrgico de distúrbios cutâneos específicos. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3. ed. Barueri: Manole, v.1, cap.25, p. 339-355, 2007.

WEISSENSTEIN, U.; KUNZ, M.; URECH, K.; BAUMGARTNER, S. Interaction of standardized mistletoe (*Viscum album*) extracts with chemotherapeutic drugs regarding cytostatic and cytotoxic effects in vitro. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2014.