SARA GONZALEZ PERDIGÃO MARQUES

TUMORES MAMÁRIOS MALIGNOS EM CADELAS: ESTUDO RETROSPETIVO DE 30 CASOS EM DOIS CONTEXTOS CLÍNICOS DIFERENTES

Orientadora: Prof ª. Doutora Joana Tavares de Oliveira

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

SARA GONZALEZ PERDIGÃO MARQUES

TUMORES MAMÁRIOS MALIGNOS EM CADELAS: ESTUDO RETROSPETIVO DE 30 CASOS EM DOIS CONTEXTOS CLÍNICOS DIFERENTES

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, no dia 27 de março de 2023, perante o júri, com o Despacho de Nomeação Nº 210/2023, de 27 de março de 2023, com a seguinte composição de júri:

Presidente: Prof. Doutora Margarida Alves por delegação da Prof. Doutor Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor Joaquim Henriques

Orientadora: Profa. Doutora Joana Oliveira

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

Se podes olhar, vê. Se podes ver, repara.

José Saramago

Agradecimentos

Esta dissertação de mestrado não seria possível, sem o apoio e colaboração de várias pessoas, ao longo de toda a minha formação académica.

Em primeiro lugar, queria agradecer à Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, por me ter proporcionado um ensino de excelência. À Professora Laurentina, pela oportunidade de contactar com diversos especialistas, nas diferentes áreas de Medicina Veterinária. Ao Dr. José Catarino, por disponibilizar os dados utilizados na dissertação.

À professora Joana, por todo o apoio e disponibilidade durante todos estes meses. A sua orientação foi imprescindível, para esta obtenção de rigor científico. Queria também agradecer o seu contagiante interesse pela Oncologia. Por incentivar e mostrar, que é possível exercer clínica e desenvolver investigação científica, simultaneamente.

À Professora Rita, por me ter guiado, durante os meses de estágio e durante o restante percurso académico. Pela constante preocupação, para que os alunos adquiram os conhecimentos base, essenciais à profissão. A toda a equipa do HVB, por me terem acolhido durante os meses de estágio, por toda a dedicação e profissionalismo. Mas, principalmente, por terem despertado em mim um especial interesse pela Oncologia. Um grande obrigado à Dra. Patrícia Duarte, ao Dr. José Martins, à Rita Filipe, à Joana Farinha, à Cristiana Pinto e à Anastácia Ilyaykina, por toda a paciência e ensinamentos transmitidos. À Raquel, a minha companheira de estágio, pela amabilidade e por tornar a experiência mais leve.

A toda a equipa do HVS, que me viu crescer. Por me fazerem sentir parte da equipa. Obrigada por todas as oportunidades, brincadeiras e amizades, são uma equipa com quem tive imenso gosto de trabalhar. Sei que, aqui, fiz amizades verdadeira e para a vida. Agradeço, também, por se disponibilizarem e ajudarem com a recolha dos dados, tornando esta dissertação possível. Acredito que são uma equipa com imenso potencial e, tenho a certeza, de que vão consegui chegar ainda mais longe.

Aos meus pais, por me terem dado a oportunidade de seguir esta minha vocação. À minha Mãe, que desde tão cedo me incentivou a sair da zona de conforto e me tornar independente. Por me ter aberto as portas a esta profissão, sem nunca esconder os aspetos

menos bons. Mas que, mesmo assim, é uma profissão pela qual vale a pena lutar. Por ser o meu principal exemplo. Ao meu Pai, por toda a ajuda e preocupação, quer a nível académico quer pessoal. Por estar sempre disponível e pronto para ajudar a resolver qualquer adversidade. Sem eles, não seria possível chegar aqui e, por isso, estou extremamente grata.

Aos Avós. Ao Avô Carlos por ser uma verdadeira inspiração e modelo a seguir. Por incentivar o pensamento crítico e rigor, em tudo o que fazemos. Pela ajuda incansável, que me deu ao longo de toda a vida mas, especialmente, nestes últimos meses. À Avó Nita pelos cozinhados, pelas histórias e conversas. Admiro toda a sua força e gosto pela vida. Obrigada por serem os dois grandes pilares e por terem construído esta família tão amiga.

Às Manas, para sempre, as minhas companheiras de vida. Apesar da distância, nunca as sinto longe. Obrigada por todos estes anos de gargalhas, conversas e por vezes arrufos. São as melhores amigas, que não escolhi, mas tive a sorte de ter. Estou muito orgulhosa das mulheres que se estão a tornar. Sei que nunca me vai faltar companhia para dar a volta ao mundo ou para fazer qualquer parvoíce.

Às minhas grandes amigas desta etapa que está, finalmente, a chegar ao fim. Mais desafios virão e sei que estão só a uma "chamada" de distância. Obrigada por me adotarem e tornarem a minha vida académica um pouco mais social. Só vocês sabem por aquilo que passámos, todas as noitadas, lágrimas e frustrações. Mas também só vocês conseguem, realmente, apreciar todas as conquistas. Diana, Fabiana e Francisca, obrigada por tudo. Espero que o contacto nunca se perca, porque esta é uma amizade para a vida.

Aos meus amigos, João Gomes, Diogo, Madalena, Ana, Sofia, João Aleixo, Buno e Rui. Por todos os momentos passados juntos, por me fazerem esquecer todas as preocupações, com as vossas parvoíces. Obrigada pela vossa amizade.

Ao Francisco, o meu maior apoio e amor incondicional. A ti, o maior Obrigado. Obrigada por seres o meu melhor amigo, o meu confidente e porto de abrigo. Obrigada por todos estes anos, por seres a minha voz da razão, por me desafiares todos os dias a ser melhor. Obrigada por todas as conversas intermináveis, mesmo quando os olhos já estão demasiado pesados, para os manter abertos. Obrigada por tornares a minha vida mais leve, animada e feliz. Agradeço também ao Poe, a nossa bolinha de pelo e maior alegria de quatro patas.

Resumo

Os tumores mamários em cadelas são ainda frequentes em Portugal e noutros países do Sul da Europa. Para este tipo de tumores, as terapêuticas pouco têm evoluído nos últimos anos. A sua caracterização e a influência de diversos fatores clínicos e histopatológicos, na resposta à terapêutica e na sobrevida dos animais, são áreas que justificam mais investigação.

O objetivo deste trabalho foi fazer essa caracterização, em dois contextos clínicos distintos e avaliar os fatores de prognóstico, a sobrevida e a evolução da doença, tendo em conta os mesmos. Foi estudada, de forma retrospetiva, uma série de trinta cadelas com tumores mamários malignos. Destas, dezasseis eram provenientes de um hospital universitário e catorze de um hospital pertencente a uma rede internacional. Os animais, foram intervencionados cirurgicamente entre novembro de 2017 e abril de 2022. Os casos provenientes destes dois centros, apresentavam todos ficha clínica e relatório histopatológico, disponíveis para consulta e recolha de dados. Foi organizada uma base de dados a que se aplicaram os métodos estatísticos clássicos, inferencial e a análise de Kaplan-Meier.

O tempo médio de permanência no estudo foi de 8,92 meses na população total, de 12,39 meses no HVS e de 5,58 meses no HFMVUL. Globalmente, o tamanho do nódulo superior a 5 cm teve uma correlação negativa (p=0,002) com a sobrevida. O grau histológico de malignidade teve uma correlação negativa com a sobrevida (p=0,001) e positiva com o aparecimento de metástases (p=0,001). No estadiamento TNM, os estádios III, IV e V, tiveram uma menor sobrevida, na margem da significância (p=0,066). A quimioterapia mostrou uma correlação positiva com a sobrevida (p=0,014).

Nas amostras provenientes dos dois contextos clínicos, verificou-se que existiam diferenças em algumas características. Quanto à raça, os animais sem raça definida predominaram no HFMVUL (p=0,008). O nódulo mamário, como principal motivo da consulta, foi mais frequente no HFMVUL (p=0,018). Quanto ao tamanho do nódulo, no HVS predominaram os nódulos inferiores a 3 cm (p<0,001) e no HFMVUL predominaram os iguais ou superiores a 5 cm (p<0,001). No HFMVUL, verificou-se um maior número de casos com grau de malignidade mais elevado (p=0,013). O número de casos com estádios TNM mais elevados, foi também superior no HFMVUL (p=0,003). Os exames complementares de

estadiamento, foram mais vezes executados no HFMVUL: radiografia torácica (p=0,010) e ecografia abdominal (p=0,001).

A escolha da técnica cirúrgica realizada, foi diferente nos dois CAMVs. No HFMVUL foi mais utilizada a mastectomia radical unilateral (68,8%) e no HVS foi a mastectomia regional (42,9%). A excisão completa do tumor foi mais frequente no HVS (p=0,001) e a excisão do gânglio linfático foi mais frequente no HFMVUL (p=0,003). A terapêutica adjuvante com quimioterapia foi feita em sete casos no HVS e em nenhum no HFMVUL. As metástases, quer no gânglio quer à distância, apenas ocorreram no HFMVUL. Estes dados, apontam para uma maior malignidade dos casos do HFMVUL. Foi comparada a percentagem de animais, do HVS e do HFMVUL, que permaneceram no estudo ao longo do tempo. Aos 6 meses, era de respetivamente 57,1% e 18,8% (p=0,029). Aos 12 meses era de 42,9% e 12,5% (p=0,061). Aos 24 meses era de 28,6% e 6,3% (p=0,102). Verifica-se, assim, uma atenuação da diferença entre os dois CAMVs, ao longo do estudo. A curva de sobrevida de Kaplan-Meier não mostrou diferença, entre os dois CAMVs.

Este estudo permitiu a caracterização clínica, histopatológica, dos fatores de prognóstico e do tempo de sobrevida nesta população de cadelas com tumor mamário. Verificando-se que o contexto dos animais influencia a abordagem clínica e terapêutica.

Palavras-Chave: tumores mamários em cadelas; apresentação clínica; mastectomia; classificação histopatológica; quimioterapia.

Abstract

Canine mammary tumours are a very common neoplasms in south European countries. In veterinary medicine CMT treatment has not evolve in the last years. The clinical and histopathologic factors have influence on the therapeutics response and survival time. Therefore, the continuous investigation on the matter is justifiable.

The aim of this study was to characterize thirty cases of CMT, evaluate the prognostic factors and the influence in the survival time and disease progression. The present study evaluated thirty cases of female dogs, all of them have been diagnosed with CMT and have been already operated. This was a retrospective study where all the animals had clinical records and histopathologic report. A database was organized with the information of two veterinary hospitals, fourteen from the HVS and sixteen from the HFMVUL. For the statistical analysis classic and inferential methods were applied, as well the Kaplan-Meier curve.

The mean time for the length of stay in the study was 8.92 months in the total population. Animals from the HVS stayed 12.39 months, and from the HFMVUL 5.58 months. Nodule size bigger than 5 cm had a negative correlation (p=0.002). The degree of malignancy had a negative correlation with survival (p=0.001) and a positive correlation with the appearance of metastases (p=0.001). In the TNM staging, stages III, IV and V had a lower survival, at the margin of significance (p=0.066). And a positive correlation with chemotherapy (p=0.014).

In the samples from the two clinical, it was found differences in some characteristics. As for race, mixed-breed animals predominated in the HFMVUL (p=0.008). The tumour as the main reason for consultation, was more frequent in the HFMVUL (p=0.018). In the HVS in most cases, the nodules size was smaller than 3 cm (p<0.001), and in the HFMVUL, those equal to or greater than 5 cm were more common (p<0.001). In the HFMVUL, there was a greater number of cases with a higher degree of malignancy (p=0.013). The number of cases with higher TNM stages was also higher in HFMVUL (p=0.003). Image staging tests were performed more often at the HFMVUL thoracic radiography (p=0.010) and abdominal ultrasound (p=0.001). The choice of surgical technique performed was different in the two CAMVs. In the HFMVUL the unilateral radical

mastectomy was used more times (68.8%), and in the HVS it was regional mastectomy (42.9%). Complete tumour excision was more frequent in HVS (p=0.001), and lymph node excision was more frequent in HFMVUL (p=0.003). Adjuvant therapy with chemotherapy was performed in seven cases in the HVS and in none in the HFMVUL. Metastases, whether in the ganglion or at a distance, only occurred in the HFMVUL. These data point to a greater malignancy of HFMVUL cases. The percentage of animals, from the HVS and from the HFMVUL, that remained in the study over time was compared. At 6 months, it was respectively 57.1% and 18.8% (p=0.029). At 12 months it was 42.9% and 12.5% (p=0.061). At 24 months it was 28.6% and 6.3% (p=0.102). Thus, there is an attenuation of the difference between the two CAMVs throughout the study. The Kaplan-Meier survival curve showed no difference between the two CAMVs.

This study allowed the clinical and histopathological characterization of prognostic factors and survival time in this population with canine mammary tumour. Noting that the context of the animals influences the clinical and therapeutic approach.

Key-words: Canine mammary tumours; clinical presentation; mastectomy; histopathological classification; chemotherapy.

Abreviaturas, siglas e símbolos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AINEs – Anti-inflamatório não esteróide

BRCA – BReast CAncer gene

CAMVs – Centro de atendimento Médico Veterinário

CC – Condição corporal

CID – Coagulação Intravascular Disseminada

cm – Centímetros

COMT – Catecol-O-metiltransferase

COX – Ciclooxigenase

COX-1 – Ciclooxigenase-1

COX-2 – Ciclooxigenase-2

EOD – Em dias alternados (Every other day)

GHN – Grau Histológico de Nottingham

GL – Gânglio Linfático

HC – Hormona de Crescimento (GH – Growth Hormone)

HFMVUL – Hospital da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona

HPF – High-power field

HVB – Hospital Veterinário de Berna

HVS – Hospital Veterinário do Seixal

IGF-I – Insulin-like growth factor-I (Factor de crescimento semelhante à insulina I)

ILD – Intervalo Livre de Doença

Kg – Quilograma

m^2 – Metro quadrado

mg – Miligrama

M – Metastização à distância (Sistema de classificação TNM)

MMP-9 – Matriz metalloproteinase-9

MUC – Mucina

N – Gânglios linfáticos regionais (Sistema de classificação TNM)

n – Tamanho da amostra

OMS – Organização Mundial de Saúde

OVH – Ovariohisterectomia

p53 – Proteína citoplasmática, de massa molecular 53

PAAF – Punção Aspirativa com Agulha Fina

PCNA – Antigénio nuclear de proliferação celular

PGE2 – Prostaglandina E2

PGH2 – Prostaglandina H2

PO – Via oral (*per os*)

p – *p*-value nível de significância

PRL – Prolactina

QM – Quimioterapia Metronómica

RE – Recetores de Estrogénio

RM – Ressonância magnética

RP – Recetores de Progesterona

SERMs – Moduladores de RE

SPF – Fração de Fase S

SPN – Síndromes Paraneoplásicas

SPSS – Statistical Package for Social Sciences

T – Tamanho da neoplasia primária (Sistema de classificação TNM)

TC – Tomografia computorizada

TGF – Tumoral Growth Factor (Fator de crescimento tumoral)

TM – Tumores mamários

TMC / CMT – Tumores mamários caninos (canine mammary tumor)

TNM – Tumor-Gânglio-Metástase (Sistema de classificação TNM)

TS – Tempo de Sobrevida

UCI – Unidade de Cuidados Intensivos

uPA – Ativador do plasminogénio da uroquinase

VEGF –Fator de crescimento endotelial vascular

VEGFR – Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

Índice Geral

Epígrafe 3

Agradecimentos 4

Resumo 6

Abstract 8

Abreviaturas, siglas e símbolos 10

Índice Geral 12

Índice de Tabelas 14

Índice de Figuras 15

Índice de Gráficos 15

Parte I – Descrição do estágio curricular 17

Parte II – Introdução 21

1. Anatomia da glândula mamária 22

2. Tumores mamários caninos 25

2.1. Epidemiologia 25

2.2. Etiologia, Fisiopatologia e Fatores de Risco 28

2.3. Apresentação clínica 32

2.4. Síndromes paraneoplásicas 33

2.5. Metástases 35

2.6. Diagnóstico 37

2.7. Diagnóstico Diferencial 40

2.8. Classificação Histopatológica 40

2.9. Grau Histológico 43

2.10. Estadiamento 44

2.11. Tratamento 45

2.11.1. Cirurgia 45

2.11.2. Tratamento Adjuvante 48

2.12. Fatores de Prognóstico 54

2.13. Profilaxia 58

Parte III – Estudo Retrospetivo de 30 casos de TMC malignos 59

1. Material e Métodos 59

2. Resultados 62

2.1. Caracterização da amostra 62

2.1.1. Clínica 62

2.1.2. Histopatologia 69

2.1.3. Estadiamento 72

2.1.4. Tratamento 73

2.1.5. Comparação entre os dois CAMVs 75

2.1.6. Tempo de Sobrevida e tempo de permanência no estudo 76

2.2. Tempo de Sobrevida, Fatores de Prognóstico e Quimioterapia 77

2.3. Análise de sobrevida. Curva de Kaplan-Meier 81

3. Discussão 87

4. Conclusão 100

Referências Bibliográfias 101

Apêndice I 123

Apêndice II 124

Apêndice III 125

Apêndice IV 126

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Irrigação e drenagem linfática da glândula mamária na cadela. 24
Tabela 2 – Classificação Histopatológica de TMC. 42
Tabela 3 – Sistema de classificação do grau histológico. 43
Tabela 4 – Pontuação utilizada na avaliação do grau histológico**Erro! Marcador não definido.**44
Tabela 5 – Classificação TNM de TMC 45
Tabela 6 – Indicação de tratamento adjuvante 49
Tabela 7 –Fatores de Prognóstico e Fatores não Prognósticos 57
Tabela 8 – Idade dos animais 63
Tabela 9 – Características do nódulo 67
Tabela 10 – Exames efetuados na avaliação pré cirúrgica e estadiamento inicial. 68
Tabela 11 – Tipos histológicos dos TMC 69
Tabela 12 – Características de malignidade dos TMC. 70
Tabela 13 – Tipo de cirurgia realizado e quantidade de unidades mamárias excisadas. 73
Tabela 14 – Tempo de sobrevida 76
Tabela 15 – Relação entre o tempo de sobrevida e os fatores de prognóstico no grupo total..78
Tabela 16 – Relação entre o tempo de sobrevida e e os fatores de prognóstico nos grupos HVS e HFMVUL. 79
Tabela 17 –Relação entre o tempo de sobrevida e a quimioterapia no grupo total 80
Tabela 18– Relação entre o tempo de sobrevida e a quimioterapia no grupo HVS. 80
Tabela 19 – Número de casos e eventos nos diferentes tipos de técnica de cirúrgica…….85
Tabela 20 – Número de casos e de eventos nos grupos que fizeram ou não quimioterapia, no grupo HVS……...……...86

Índice de Figuras

Figura 1 – Esquema da região ventral da cadela. 222
Figura 2 – Esquema da unidade da glândula mamária na cadela. 2323
Figura 3 – Esquema da irrigação sanguínea e linfática da glândula mamária na cadela... 234
Figura 4 – Hormonas envolvidas no crescimento da glândula mamária 249
Figura 5 – Múltiplos nódulos mamários numa cadela.. 333
Figura 6 – A cascata metastática 36
Figura 7 – Múltiplas metástases pulmonares num cão com adenocarcinoma simples..... 339
Figura 8– Comparação da extensão de tecido removido com diferentes procedimentos cirúrgicos. 398
Figura 9 – Esquema de abordagem terapêutica de TMC. 493

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição percentual dos animais por espécie e sexo 2018
Gráfico 2 – Casuística percentual observada nas diferentes especialidades..... 2020
Gráfico 3 – Distribuição das diferentes raças. 622
Gráfico 4 – Distribuição das idades. 633
Gráfico 5 – Número de cadelas esterilizadas no momento do diagnóstico. 644
Gráfico 6 – Distribuição dos sinais presentes na admissão 655
Gráfico 7 – Distribuição do tamanho dos nódulos 666
Gráfico 8 – Características do gânglio linfático 677
Gráfico 9 – Localização dos TMC nas diferentes cadeias mamárias 698
Gráfico 10 – Tipos histológicos dos tumores analisados..... 689
Gráfico 11 – Grau histológico dos TMC. 7070
Gráfico 12 – Resultado da cirurgia de excisão do tumor 711
Gráfico 13 – Excisão do gânglio linfático durante a cirurgia efetuada 711
Gráfico 14 – Estadiamento TNM dos tumores avaliados 722
Gráfico 15– Número de unidades mamárias excisadas 733
Gráfico 16 – Tipo de protocolo quimioterápico realizado..... 744

Gráfico 17 – Gráfico de distribuição, mostrando o tempo de sobrevida 777
Gráfico 18 – Tempo de sobrevida, em meses, nos grupos sem ou com quimioterapia... 8080
Gráfico 19 – Gráfico de dispersão do tempo de sobrevida, em meses, nos grupos sem (NQ) ou com (Q) quimioterapia..... 811
Gráfico 20 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, nos grupos HVS e HFMVUL 822
Gráfico 21 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, do grupo com idade superior a 120 meses, com o grupo com idade igual ou inferior..... 822
Gráfico 22 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, nos grupos com tamanho superior a 5 cm, com os iguail ou inferior a 5 cm 843
Gráfico 23 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, nos casos com estadiamento de baixo grau, com os casos de estadiamento de alto grau 833
Gráfico 24 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de aparecimento de metástases em TMC malignos, nos diferentes gaus histológicos. 844
Gráfico 25 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, nos diferentes graus histológicos 834
Gráfico 26 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, relativo ao tipo de cirurgia 855
Gráfico 27 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, com margens cirúrgicas..... 866
Gráfico 28 – Curva de Kaplan-Meier em TMC malignos, nos grupos que fizeram ou não quimioterapia, no grupo HVS..... 866

Parte I – Descrição do estágio curricular

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa (FMVUL) teve a duração de 4 meses no Hospital Veterinário Berna (HVB). A aluna esteve sob orientação e supervisão da Drª. Rita Serras, diretora clínica do HVB, maioritariamente no serviço de Oncologia, Medicina Interna, Cirurgia e Imagiologia. Iniciado em setembro e terminado em dezembro de 2021, a carga horária total foi de aproximadamente 600 horas, repartida em turnos diários de 8 horas, correspondendo a 40 horas semanais, com duas folgas por semana e num regime de rotação nos serviços de consultas, cirurgia, imagiologia e internamento.

A escolha do HVB como local de estágio, baseou-se no facto de ser um hospital de referência na área de Oncologia, mas também por apresentar uma equipa multidisciplinar, onde são prestados cuidados médicos de excelência. Apesar de o HVB ser um hospital direcionado para métodos de diagnóstico e tratamento de doenças oncológicas, a sua casuística não é apenas centrada nesta área, sendo este um fator muito relevante na decisão do local de estágio.

Este hospital situa-se na Avenida de Berna, Nº35C e foi inaugurado em 2012. Encontra-se aberto todo o ano, 24 horas por dia, com serviço de urgência assegurado por um médico veterinário e um enfermeiro ou auxiliar de medicina veterinária. O hospital tem áreas de especialidade como Dermatologia, Oftalmologia, Nutrição, Hematologia, Ortopedia, Cardiologia, Estomatologia, Oncologia, Oftalmologia e Medicina Interna. Relativamente a meios de diagnóstico, o hospital dispõe de equipamentos de radiografia, eletrocardiografia, ecografia, tomografia computorizada (TC) e laboratório de análises. O HVB presta ainda outros serviços, como banco de sangue, bloco operatório, cuidados continuados com internamento 24 horas, entre outros.

A realização do estágio no HVB ofereceu a oportunidade de desenvolver a aprendizagem em Oncologia, área de interesse da aluna, com médicos especializados. Simultaneamente, foi possível integrar, consolidar e pôr em prática os conhecimentos obtidos

durante os 5 anos de curso, nas mais diversas áreas de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia.

Durante o estágio, foi possível acompanhar as diversas especialidades e serviços do hospital. Nas semanas dedicadas à consulta, era dada prioridade a consultas de especialidades como Oncologia, Cardiologia, Oftalmologia e Ortopedia. Durante as consultas, os alunos acompanhavam os médicos veterinários enquanto realizavam anamneses detalhadas, exames de estado geral e exames direcionados, exames de diagnóstico, colheita de amostras biológicas e planeamento de tratamentos. Dependendo da especialidade, a autora assistia e/ou participava em procedimentos mais específicos. No caso das consultas de especialidade de Oncologia, foram realizadas punções aspirativas por agulha fina (PAAF), preparação laboratorial, interpretação microscópica e de relatórios histopatológicos. Nas consultas de enfermagem oncológica, foi possível auxiliar em sessões de quimioterapia. De forma a garantir a segurança destas sessões, havia uma prévia explicação sobre os cuidados a ter no manuseamento de citotóxicos, como fazer a sua administração e os diferentes cuidados, consoante o tipo de terapia e fármaco.

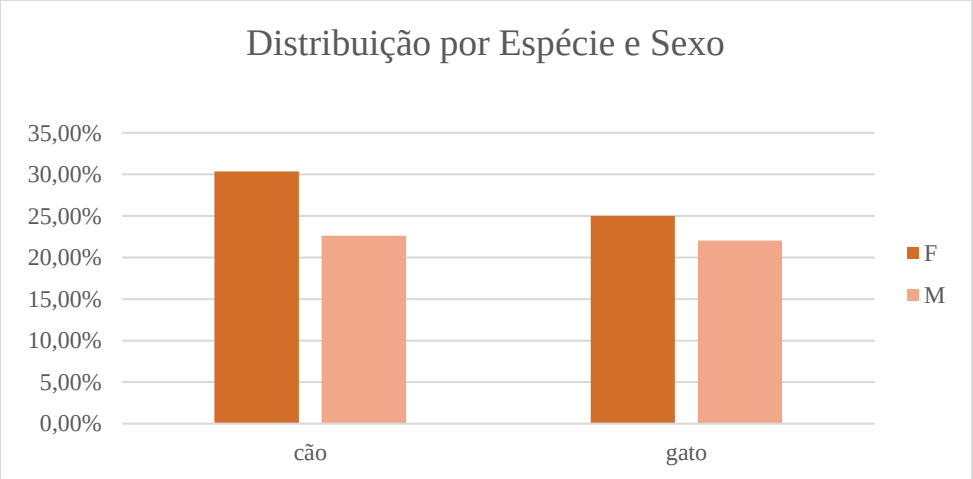
O turno de cirurgia consistia na preparação do paciente, desde a sua chegada até à posterior alta cirúrgica. Este processo era constituído por várias etapas, nomeadamente, exame físico pré-anestésico, preparação pré-cirúrgica, anestesia, cirurgia e recobro. Durante estas semanas foi possível consolidar e adquirir novos conhecimentos sobre anestesia e cirurgia. Foi dada a oportunidade de estudar diversas técnicas peri-cirúrgicas, realizar tricotomia, calcular doses e administrar fármacos, colher amostras biológicas, colocar cateteres, realizar entubação endotraqueal, preparar a monitorização anestésica, desinfetar e fazer a limpeza da zona de incisão, auxiliar na preparação do cirurgião e atuar como assistente durante a cirurgia. Durante os meses de estágio, foram observados diversos tipos de procedimentos cirúrgicos, desde procedimentos eletivos, como castrações e ovariohisterectomias (OVH), cirurgias estomatológicas, destartarizações e remoção de peças dentárias, até cirurgias mais complicadas como enterectomias ou remoção de massas. Foi ainda possível auxiliar em procedimentos minimamente invasivos, como endoscopias.

A semana de Imagiologia teve como principal objetivo acompanhar a médica ecografista nas suas consultas e outros procedimentos clínicos. Observaram-se várias

ecografias com propósitos diferentes, desde ecografias de estadiamento oncológico, avaliação renal, investigação de corpos estranhos, ecografias de controlo de pacientes internados, punções ecoguiadas de massas, colheitas de urina por cistocentese, abdominocenteses e toracocenteses ecoguiadas. Ocasionalmente, em pacientes mais cooperantes, foi possível pôr em prática os conhecimentos de ecografia adquiridos, tendo a supervisão do médico responsável, com posterior discussão do caso. Durante estas semanas, devido aos diversos meios de diagnóstico que o hospital dispõe, foi possível auxiliar em exames radiológicos, ecocardiográficos e TC, assim como na interpretação dos mesmos.

Por último, nas semanas destinadas aos turnos de internamento, a autora acompanhou os casos internados, desde o momento da entrada até à alta médica, assistindo à passagem da informação dos mesmos, que acontecia três vezes por dia. Durante este período, eram discutidos novos desenvolvimentos clínicos do caso, plano de diagnóstico e tratamento. Nestas semanas, era da responsabilidade da aluna auxiliar o médico de internamento e os enfermeiros e/ou auxiliares veterinários. As funções designadas a esta área incluíam a realização de exames físicos, alimentação, preparação e administração de medicação, colocação de cateteres, recolha de amostras biológicas e processá-las, assistir a consultas de urgência e auxiliar na estabilização e monitorização do paciente crítico.

A casuística apresentada é relativa aos casos clínicos observados durante o período de estágio. Por vezes, o mesmo animal apresentava-se no hospital por motivos diferentes, sendo por isso o caso abordado em várias especialidades. Assim, o número de consultas é superior ao número de animais acompanhados.



O Gráfico 1 ilustra a distribuição de casos, divididos por espécie e sexo, acompanhados no HVB. Verificamos que a espécie canina foi a mais observada no HVB, correspondendo a 53% dos animais, em que 57,3% eram fêmeas e 42,7% eram machos. Já a espécie felina representava um total de 47%, em que 53,2% eram fêmeas e os restantes 46,8% eram machos. Assim, na população total, as cadelas representaram 30,36%, os cães 22,62%, as gatas 25,00% e os gatos 22,02%.

Durante o decorrer do estágio foi possível assistir a consultas nas mais diferentes áreas, descritas em percentagem no Gráfico 2. Sendo o HVB um hospital de referência de Oncologia, uma grande parte das consultas, 23,46%, foi referente a esta área, como seria expectável. Outra área muito representada foi a de Imagiologia, também com 23,46%. As áreas sucessivamente mais observadas foram a Medicina Interna, com 18,99%, a Cirurgia, com 9,50%, e as Urgências e Cuidados Intensivos (UCI), com 5,03%.

Gráfico 1 - Distribuição percentual dos animais por espécie e sexo

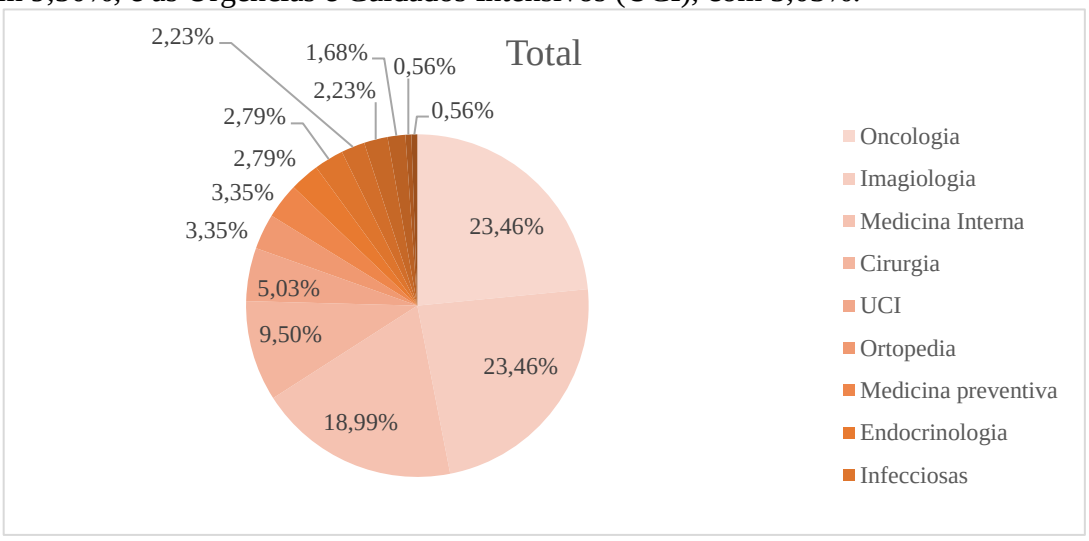


Gráfico 2 – Casuística percentual observada nas diferentes especialidades.

No geral, foi uma experiência muito enriquecedora e de extrema importância, tanto a nível pessoal como a nível académico. Toda a equipa do HVB teve um papel crucial na formação da autora, ajudaram a desenvolver capacidades de raciocínio clínico, novas

aptidões e códigos de ética. Durante este período, foram adquiridas bases e ferramentas fundamentais para o percurso da aluna, não só como futura Médica Veterinária, mas também como pessoa.

Parte II – Introdução

De entre as situações oncológicas em animais de companhia, grande relevância tem sido dada aos tumores mamários em cadelas, a segunda neoplasia mais frequente em fêmeas da espécie canina (Pinello *et al*, 2022c). Para além da sua elevada frequência na clínica diária, os sinais habitualmente presentes são facilmente detetados pelos tutores, especialmente se estiverem alertados para isso. Isto leva a que os animais cheguem às consultas em fases precoces da doença. A abordagem clínica e diagnóstica é, assim, facilitada. Os exames complementares de diagnóstico são agora de mais fácil acesso e a terapêutica tem provado ser eficaz. A histopatologia consolidou-se em classificações desenvolvidas e aceites pela comunidade científica, permitindo uma diferenciação diagnóstica com implicações na terapêutica, quer médica quer cirúrgica, levando a uma maior sobrevida dos animais tratados (Goldsmith *et al.*, 2011).

Vários têm sido os autores e os grupos que se dedicaram à investigação desta temática, nas diversas vertentes do diagnóstico, da abordagem terapêutica e do prognóstico (Pinello *et al.*, 2022a; Canadas *et al.*, 2019; Salas *et al.*, 2015; de Oliveira *et al*., 2014; Goldsmith *et al.*, 2011; Sorenmo *et al.*, 2011; de Oliveira *et al.*, 2010; Matos *et al*., 2007).

A ideia deste trabalho, surgiu da necessidade de esclarecer as dúvidas, que ainda persistem, na relação entre os achados histopatológicos, o resultado das abordagens terapêuticas e o prognóstico, de TMC em dois contextos clínicos diferentes.

Este estudo, teve como objetivos:

- Analisar as características clínicas de uma população de cadelas com TMC, todas submetidas a cirurgia e estudo histopatológico.
- Analisar as características histopatológicas dos TMC, no grupo estudado.
- Avaliar diversos fatores de prognóstico, quer no tempo de sobrevida, quer na progressão da doença, na população estudada.

- Avaliar o efeito da abordagem cirúrgica e da quimioterapia no tempo de sobrevida e na progressão da doença, nesta população.
- Comparar as características clínicas e histopatológicas, a abordagem terapêutica e a sobrevida dos animais provenientes dos dois Centros de Atendimento Médico-Veterinários (CAMVs), que integraram o estudo.

1. Anatomia da glândula mamária

As glândulas mamárias têm origem na ectoderme embrionária e são glândulas tubuloalveolares e apócrinas. A glândula mamária é uma glândula ductal ramificada, rodeada de tecido adiposo e fibrovascular. Geralmente são compostas por 10 complexos mamários, os quais podem variar de número, entre 8 e 12. Estes complexos estão dispostos em duas cadeias bilaterais simétricas, estendendo-se desde a zona torácica até à região inguinal (Figura 1). Existem dois pares torácicos (M1 e M2), dois abdominais (M3 e M4) e um inguinal (M5) (Davidson & Stabenfeldt, 2020; Fossum, 2013; König, 2004; Silver, 1966).

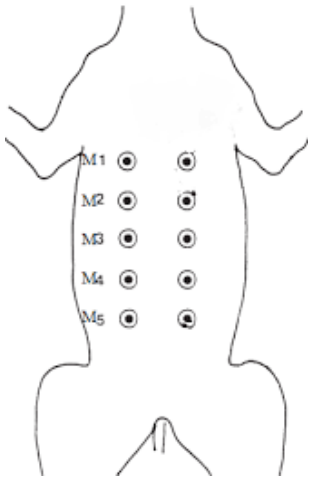


Figura 1 – Esquema da região ventral da cadela ilustrando os cinco pares de mamas: torácicas craniais (M1), torácicas caudais (M2), abdominais craniais (M3), abdominais caudais (M4) e inguinais (M5) (Adaptado de Patsikas *et al*., 2006).

Cada complexo mamário é composto por cinco a vinte unidades mamárias, constituídas por um corpo (*corpus mammae*) de tecido epitelial glandular e por tecido intersticial (*interstitium*) com nervos, vasos sanguíneos e linfáticos. O tecido glandular, em si mesmo, é disposto em lóbulos (*lobulli glandulae mammarie*) separados por tecido conjuntivo interlobular. Estes lóbulos mamários compreendem múltiplos alvéolos, sendo estes responsáveis pela produção e secreção de leite. Os alvéolos são rodeados por células contráteis com forma

estrelada, as células mioepiteliais (Figura 2). O leite produzido nos lóbulos, é transportado através dos ductos lactíferos para os seios lactíferos e terminam nos ductos papilares, que se abrem na extremidade da teta (Sleeckx *et al*., 2011; König, 2004).

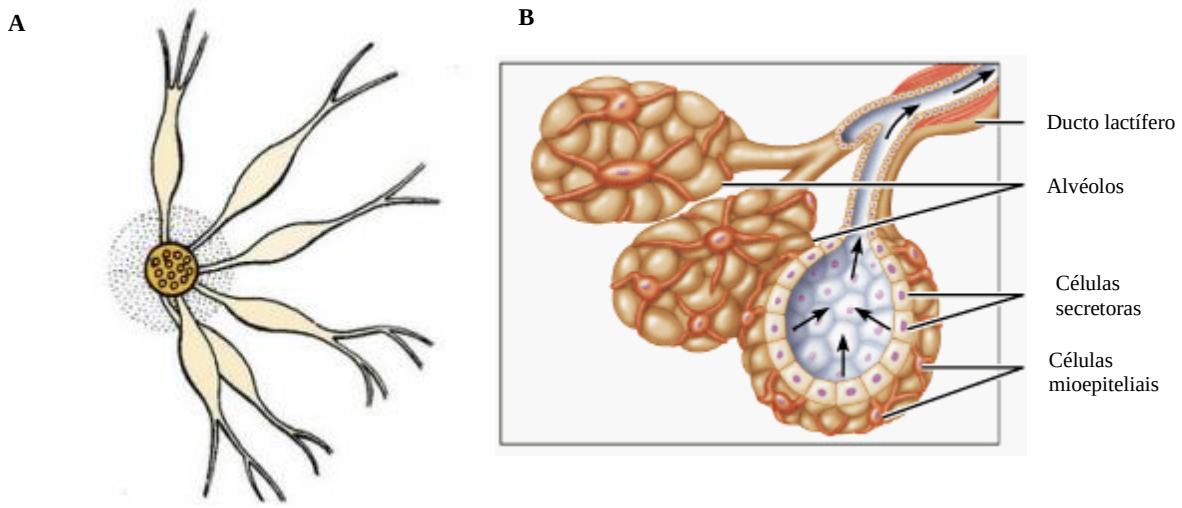


Figura 6 – Esquema da unidade da glândula mamária na cadela. A-Arranjo do sistema de ductos mamários. B-Estrutura do alvéolo e ducto associado (Adaptado de Davidson & Stabenfeldt, 2020).

O tamanho e largura da glândula mamária varia consoante o indivíduo e o seu estádio reprodutivo. Mesmo quando, durante o ciclo reprodutivo, a cadela não fica gestante, há aumento de tamanho e proliferação da glândula mamária. Esta constante proliferação da glândula e subsequente involução, poderá ser um fator predisponente para tumores mamários. Geralmente, a porção de pele que cobre a glândula mamária, é facilmente movível sobre o tecido glandular e só se apresenta aderente em caso de patologia (König, 2004).

O conhecimento detalhado da anatomia, irrigação, inervação e drenagem linfática desta glândula é bastante importante, uma vez que, em caso de neoplasia mamária, é necessário para a remoção cirúrgica. Na Figura 3 apresentamos um esquema da irrigação sanguínea e linfática da glândula mamária na cadela. Este conhecimento é também relevante para a correta avaliação da eventual disseminação metastática. Em carnívoros, a glândula mamária é irrigada por ramos da artéria epigástrica cranial e caudal superficial, ramos das artérias torácica interna e pudenda externa, respetivamente. Recebe também irrigação dos ramos mamários da artéria torácica lateral e intercostal. A circulação venosa é feita pelas veias homólogas respetivas (Fossum, 2013; Sleeckx *et al*., 2011; König, 2004).

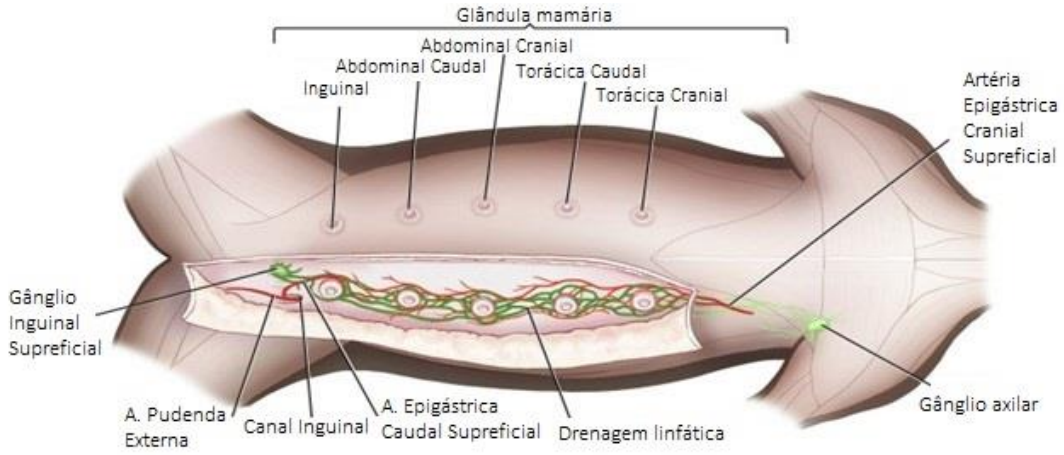


Figura 11 – Esquema da irrigação sanguínea e linfática da glândula mamária na cadela (Adaptado de Krekeler *et al*., 2021).

A linfa dos complexos mamários torácicos craniais (M1) e caudais (M2) é drenada para o gânglio linfático (GL) axilar e, quando presente, para o axilar acessório. O GL cervical superficial recebe linfa dos complexos mamários torácicos craniais (M1). Os complexos mamários abdominais craniais (M3) podem drenar tanto para o GL axilar como para o inguinal superficial, enquanto os abdominais caudais (M4) e os inguinais (M5) drenam para o GL inguinal superficial. Pode existir comunicação linfática entre as cadeias mamárias direita e esquerda (Araújo *et al*., 2015; Sleeckx *et al*., 2011; Patsikas *et al*., 2006; König, 2004; Pereira *et al*., 2003). Na Tabela 1 apresentamos a irrigação e drenagem linfática da glândula mamária na cadela. No estudo de Patsikas *et al*. (2006), observou-se que o padrão de drenagem linfática, em caso de neoplasia, pode estar alterado, através da formação de novos vasos linfáticos (Patsikas *et al*., 2006).

Tabela 1 – Irrigação e drenagem linfática da glândula mamária na cadela (Adaptado de Fossum, 2013 e König, 2004).

Glândula mamária	Irrigação Arterial	Drenagem linfática
M1	A. Epigástrica cranial superficial Rr. Torácica lateral; Rr. intercostais	GL. Axilar e Axilar acessório; GL. Cervical superficial
M2	A. Epigástrica cranial superficial Rr. Torácica lateral; Rr. intercostais	GL. Axilar e Axilar acessório
M3	A. Epigástrica cranial superficial A. Epigástrica caudal superficial	GL. Axilar GL. inguinal superficial
M4	A. Epigástrica caudal superficial	GL. Inguinal superficial
M5	A. Epigástrica caudal superficial	GL. Inguinal superficial

2. Tumores mamários caninos

2.1. Epidemiologia

Os estudos epidemiológicos permitem analisar o comportamento das doenças, definir os seus fatores de risco e estabelecer critérios prognósticos. No caso dos TMC, os estudos epidemiológicos têm apresentado resultados díspares, que variam em função das populações estudadas, das bases de dados a que se reportam e das diferentes raças de animais envolvidas.

2.1.1. Incidência

As neoplasias da glândula mamária são as neoplasias mais comuns em cadelas e a sua incidência ronda os 40%, dependendo dos autores (Pinello *et al*., 2022a; Vascellari *et al*., 2016; Euler, 2011; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007). Num estudo efetuado no Reino Unido, a incidência foi de 205 casos por 100,000 cães, por ano (Dobson *et al*., 2002). Outro estudo realizado na Suécia, reportou um total de 111 tumores mamários por 10,000 cães, por ano (Egenvall *et al*., 2005). Em Itália, os TMC representavam 54% dos tumores em cadelas e a incidência anual foi de cerca de 250 casos de TMC por 100,000 cães, por ano (Vascellari *et al*., 2016). No México, foi encontrada uma incidência anual de TMC de 16,8%, com igual frequência de tumores malignos ou benignos, 47,5% *versus* 47,7% (Salas *et al.*, 2015). Em Espanha, Rodríguez *et al*. (2022), realizaram um estudo durante um período de 18 anos, em que verificaram que a frequência de TMC, quando comparada com o total de tumores, diminuiu ao longo do estudo, de 62,7% para 48,9%. Em Portugal, foi criada uma rede de registo oncológico veterinário, a Vet-OncoNet, que visa identificar a prevalência de neoplasias em animais de companhia (Pinello *et al*, 2022b). Segundo os dados recolhidos entre 2019 e 2020, os TMC, são a segunda neoplasia mais comum, logo a seguir às neoplasias da pele. Num total de 7334 casos de neoplasia canina, 1587 (21,9%) eram TMC (Pinello *et al*, 2022c).

A maioria dos autores refere que, cerca de metade dos TMC, são de carácter maligno. No entanto, esta incidência pode variar entre 88% e 30% (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Salas *et al*., 2015; Andrade *et al*., 2010; Lana *et al*., 2007; Queiroga *et al*., 2005; Jabara, 1960). Os dois principais tipos de carcinoma são o carcinoma misto e o carcinoma complexo que, juntos, representam mais de metade (65%) dos tumores malignos (Kim *et al*., 2016). Sarcomas puros, como fibrossarcomas e osteossarcomas, são uma minoria dos TMC (Stratmann *et al.*, 2008; Lana *et al*., 2007). Os carcinomas inflamatórios são raros, constituindo 1% dos casos

(Borrego, 2017). Quanto à mortalidade, o estudo de Egenvall *et al*., (2005), refere 6% no grupo estudado, com seis mortes por cada 10.000 cães /ano.

2.1.2. Raça

Quanto ao tamanho e raça, não há consenso entre os vários estudos. No entanto, parece haver um aumento da incidência de TMC em animais de raça pura (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Salas *et al.*, 2015). Num estudo realizado no México, as cadelas de raça pura constituíam 80% da população incluída, sendo as raças mais frequentes a Caniche, a Cocker Spaniel e a Pastor Alemã (Salas *et al.*, 2015). Em Itália, predominaram as raças Samoiedo, Dobermann, Schnauzer e Yorkshire Terrier. Observou-se que cães de raça pura, especialmente com idades inferiores a 7 anos, tinham maior propensão para desenvolver TMC malignos (Vascellari *et al*., 2016). No estudo de Rodríguez *et al*. (2022), 37,74% das cadelas eram de raça indeterminada, 18,73% eram Yorkshire Terrier e 5% eram Bulldog Francês. Os restantes tinham uma grande dispersão pelas mais de trinta raças envolvidas.

Raças de grande porte mostram uma maior predisposição para TMC malignos. Esta maior incidência, pode ter que ver com os sistemas de classificação, raças grandes *versus* raças pequenas, utilizados nos estudos (Pastor *et al*., 2018).

As raças de caça, encontram-se sobrerepresentadas nalguns estudos, enquanto noutros tal não se observa (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Euler, 2011; Lana *et al*., 2007). Esta discordância pode ser explicada pela distribuição geográfica onde foram realizados os estudos e, assim, a maior incidência de certas raças consoante o papel que representam em cada comunidade (Euler, 2011).

2.1.3. Idade

A probabilidade de ocorrerem TMC aumenta com a idade (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Salas *et al*., 2015; Euler, 2011; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007). Cadelas com 6 anos tinham um aumento de incidência de 1%, com 8 anos um aumento de 6% e com 10 anos aumentava cerca de 13% (Egenvall *et al*., 2005). No estudo de Vasceralli *et al*. (2016), os TMC ocorreram entre os 8 e os 13 anos em 60% dos casos. Os TMC ocorrem, em média, entre os 8 e os 11 anos, dependendo dos autores (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Salas *et al*., 2015; Lana *et al*., 2007; Egenvall *et al*., 2005). Os animais diagnosticados com TMC malignos,

geralmente apresentam idades mais avançadas que animais com TMC benignos (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016). Esta patologia é raramente observada em animais com idade inferior a 4 anos (Vascellari *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007). No trabalho de Rodríguez *et al*. (2022), foi encontrada uma relação entre a idade do animal, quando foi feito o diagnóstico, e o tipo de TMC. Os TMC benignos foram diagnosticados em idades mais jovens (média de 9,2 anos) do que os carcinomas (média de 9,7 anos) ou do que os sarcomas (média de 10,4 anos).

2.1.4. Ovariohisterectomia

A ocorrência de TMC, tanto malignos como benignos, é drasticamente reduzida com a realização de OVH, em cadelas jovens (Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007). No trabalho de Vascellari *et al*. (2016), em 74% dos casos os TMC ocorreram em fêmeas inteiras. Em países onde a OVH é uma prática comum, como nos Estados Unidos e nalguns países da Europa Ocidental, a sua incidência mostra ser bastante mais reduzida (Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007). Se for realizada antes do primeiro cio, o risco de desenvolver TMC é de 0,5%, se for entre o primeiro e o segundo cio é de 8% e após o segundo cio é de 26% (Schneider *et al*.,1969). No entanto, quando realizada em ciclos posteriores, não existem estudos epidemiológicos que demonstrem haver uma redução no aparecimento de TMC (Vascellari *et al*., 2016). No trabalho de Rodríguez *et al*. (2022), verificou-se ao longo do estudo, um aumento das cadelas esterilizadas de 13,6% no início para 26,9% no final. Existia uma correlação negativa entre o número de cadelas esterilizadas e a frequência de TMC. As cadelas esterilizadas tinham TMC malignos em idade mais avançada do que as cadelas inteiras (10,2 *versus* 9,5 anos). Também no estudo de Salas *et al*. (2015), os TMC predominaram em fêmeas adultas inteiras.

2.1.5. Localização

Os tumores mamários podem ocorrer no mamilo ou, mais frequentemente, no tecido glandular. As glândulas mamárias mais afetadas, cerca de 65% a 70%, são as abdominais caudais (M4) e as inguinais (M5) (Stratmann *et al.,* 2008; Lana, *et al*., 2007). Esta maior incidência, pode ser explicada pela maior quantidade de tecido mamário nestas glândulas (Sleeckx *et al*., 2011; Lana, *et al.,* 2007).

2.2. Etiologia, Fisiopatologia e Fatores de Risco

A etiologia dos TMC é multifatorial (Burrai *et al*., 2020; Thumser-Henner *et al*., 2020; Kaszak *et al*., 2018; Sleeckx *et al*., 2011). Os fatores mais importantes são a idade, a raça e a predisposição genética, os fatores hormonais, os fatores de crescimento, a expressão da cicloxigenase-2 (COX-2) e a dieta (Sleeckx *et al*., 2011). A teoria que prevalece é que a maioria das neoplasias mamárias, tanto na mulher como em cadelas, tem origem em lesões pré-malignas ou benignas presentes nas glândulas, como é o caso das hiperplasias. Por isso, as lesões pré-malignas, poderão ser um fator de risco para o desenvolvimento de TMC. O risco de recorrência de TMC é maior no lado ipsilateral (Sleeckx *et al*., 2011; Stratmann *et al.*, 2008).

2.2.1. Fatores Hormonais e de Crescimento

A exposição a hormonas endógenas ováricas, como o estrogénio e a progesterona, parece ser um dos mais importantes fatores de risco para o aparecimento de TMC (Burrai *et al*., 2020; Sorenmo *et al*., 2019b; Lana *et al*., 2007). Isto explica a relação entre o momento em que é realizada a OVH e a ocorrência de TMC. Também a administração de hormonas ováricas, combinações destas ou a utilização de precursores, como o acetato de medroxiprogesterona, parece estar associada ao aumento de incidência de TMC (Burrai *et al*., 2020; Canadas *et al*., 2019; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al.,* 2007). Apesar de se ter demonstrado que existe uma componente hormonal, os machos também podem desenvolver TMC (Saba *et al*., 2007).

A hormonodependência em neoplasias está bem documentada, assim como o seu papel na carcinogénese (Brunetti *et al*., 2021; Torres *et al*., 2021; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007). As principais hormonas implicadas no desenvolvimento de tumores mamários são o estrogénio, a progesterona, os androgénios, a prolactina (PRL) e a hormona de crescimento (HC) (Spoerri *et al*., 2015; Dias *et al*., 2008; Lantinga-van *et al*., 2000; van Garderen *et al*., 1999; Pérez *et al.*, 1998; van Garderen *et al*., 1997; Rutteman *et al*., 1994; Rutteman *et al*., 1988; Rutteman *et al*., 1986).

As hormonas ováricas são mitogénicas do epitélio mamário, induzem a proliferação celular e promovem o desenvolvimento de ductos e lóbulos. Traduzindo-se no crescimento do tecido mamário (Sorenmo *et al*., 2020a) (Figura 4). O seu efeito é regulado principalmente por recetores de estrogénio (RE) e progesterona (RP), localizados no tecido mamário (Sleeckx *et al*.,

2011). O efeito proliferativo no epitélio pode criar condições propícias para o crescimento neoplásico (Pereira *et al*., 2008; Lantinga *et al*., 2000; van Garderen *et al*., 1997; Rutteman *et al*., 1988). Uma vez que este evento ocorre todos os ciclos, a cadela fica mais suscetível à carcinogénese (Sleeckx *et al*., 2011). Os RP e RE estão presentes tanto em tecido mamário normal como neoplásico. Em tumores malignos, esta propriedade pode ser perdida, em particular em estádios avançados da doença (Brunetti *et al*., 2021; Canadas *et al*., 2019; Sleeckx *et al*., 2011; Lantinga *et al*., 2000; Rutteman *et al*., 1994; Rutteman *et al*., 1988; Rutteman *et al*., 1986). A expressão de RE pode variar durante o decorrer da evolução neoplásica (Canadas *et al*., 2019).

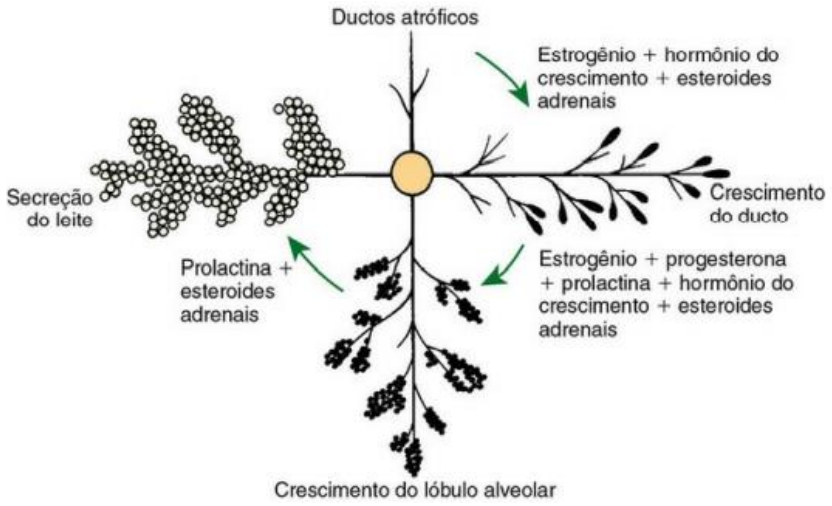


Figura 19 – Hormonas envolvidas no crescimento da glândula mamária e no início da secreção de leite (Adaptado de Davidson & Stabenfeldt, 2020).

A HC induzida pelo progestagénio, participa no desenvolvimento da glândula mamária, mas pode promover a carcinogénese mamária ao estimular a proliferação de células epiteliais mamárias suscetíveis (van Garderen *et al*., 1999; Alenza *et al*., 1998). A HC tem um efeito direto na estimulação do tecido mamário e um efeito indireto, por induzir a produção de um fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) (Bohner *et al*., 2017; Lana *et al*., 2007). O IGF-1 é um fator proliferativo e de sobrevida anti-apoptótico do tecido mamário, regulando a expressão de vários genes envolvidos no aparecimento de TMC (Sorenmo *et al*., 2020a; Bohner *et al*., 2017). A PRL é responsável pela lactogénese. Alguns estudos em medicina humana mostraram que a PRL pode atuar como um fator de crescimento, neurotransmissor ou imunorregulador (Rutteman *et al*., 1986). Foi observado que a administração de PRL aumentava

a taxa de TMC. Também se encontrou correlação entre o aumento dos níveis de PRL, quer com a presença de ulceração, quer com a fixação aos tecidos adjacentes (Queiroga *et al*., 2005).

2.2.2. Fatores Genéticos e Biomarcadores

Os TMC parecem ser prevalentes em cães de raça pura, sugerindo que existe uma componente genética. Não foi identificada uma mutação genética transversal em cães com TMC (Burrai *et al*., 2020; Sleeckx *et al*., 2011). A codificação do genoma canino, identificou biomarcadores que auxiliam na deteção precoce de neoplasias (Thumser-Henner *et al.*, 2020).

Biomarcadores são, geralmente, proteínas que podem ser doseadas no sangue ou nos tecidos, que dão informação sobre uma determinada patologia (Kaszak *et al*., 2018). Nos TMC, foi identificado um conjunto de biomarcadores que expressam a evolução, o grau de malignidade e o prognóstico da neoplasia. A sobreexpressão de MUC1 está relacionada com a metastização à distância em TMC (de Oliveira *et al*., 2009). O aumento da expressão da galectina-3, em células tumorais circulantes e os seus elevados níveis séricos, estão associados a uma maior agressividade dos TMC, à progressão tumoral e à metastização (Ribeiro *et al*., 2016; de Oliveira *et al*., 2015a; Benazzi *et al*., 2014; de Oliveira *et al*., 2014; de Oliveira *et al*., 2010). O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), é uma proteína sintetizada nos grânulos citoplasmáticos das células epiteliais neoplásicas, células endoteliais e células estromais. As células inflamatórias e as plaquetas, bem como as células troncocancerígenas, libertam VEGF. Este foi relacionado com características macroscópicas, como tamanho e fixação tecidual. E também com características microscópicas como tipo, crescimento, necrose, infiltração linfoide, metástases ganglionares, grau histológico e índice de proliferação (Benazzi *et al*., 2014; Santos *et al*., 2010). A maior expressão do receptor-2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR-2) foi encontrado em carcinossarcomas, um tipo histológico particularmente agressivo (Santos *et al*., 2010). Também a sobrexpressão da mucina 6 (MUC6) e do antigénio Tn foi associada aos fenótipos malignos dos TMC, nomeadamente nos carcinossarcomas (Tavares *et al.*, 2012). Existe, pois, forte indicação de que a malignidade dos TMC pode ser avaliada pela expressão de diversas moléculas, que têm vindo a ser identificadas por técnicas imuno-histoquímicas. No trabalho de Santos *et al*. (2013) identificaram-se como marcadores de prognóstico independentes, a metalopeptidase de matriz 9 (MMP-9) e o Ki67 (Santos *et al*., 2013; Santos *et al*., 2012). O Ki67 e o antigénio nuclear de proliferação celular (ANPC) são utilizados como

biomarcadores de proliferação (Kaszak *et al*., 2018). Foram encontradas elevadas expressões estromais da uPA e MMP-9 em tumores mais agressivos (Santos *et al*., 2013; Santos *et al*., 2012).

Têm também sido investigadas outras moléculas que podem vir a constituir marcadores, como a COX-2 (Pereira *et al*., 2009a), a caveolina-1 (CAV-1) (Pereira *et al*., 2010), diferentes genótipos do catechol-O-metiltrasferase (COMT) (Pereira *et al*., 2009b; Pereira *et al*., 2008), a E-caderina (Matos *et al*., 2007; Pinho *et al*., 2007; Matos *et al*., 2006a), a citoqueratina (Matos *et al*., 2006b), o MIB-1LI (Matos *et al*., 2006c), diversos marcadores de células tumorais circulantes (Costa *et al*., 2011), o sulfato de condroitina (Hinrichs *et al*., 1999), a queratina, a vimentina (Vos *et al*., 1993) e a fração de fase S do DNA (SPF) (Alenza *et al*., 1995).

As mutações pontuais no gene p53 foram encontradas na análise do DNA dos TMC, tal como acontece nos tumores mamários humanos (Chu *et al*., 1998; van Leeuwen *et al*., 1996). O p53, o "guardião do genoma", é, um bom exemplo de um marcador de apoptose e transformação neoplásica (Thumser-Henner *et al*., 2020; Kaszak *et al*., 2018).

Os genes BRCA atuam na indução de genes reparadores de ADN, tendo por isso um papel importante na preservação e estabilidade genómica. Em mulheres, sabe-se que mutações nos genes BRCA1 ou BRCA2, podem ser herdados geneticamente e aumentam o risco de desenvolver tumor mamário (Burrai *et al*., 2020; Yoshikawa *et al*., 2015; Sleeckx *et al*., 2011; Eisen *et al*., 2005). No entanto, em cadelas, os resultados são inespecíficos (Burrai *et al*., 2020). O gene BRCA1, pode estar relacionado com o seu carater maligno (Sleeckx *et al*., 2011).

O cancro da mama em humanos apresenta características imuno-histoquímicas semelhantes aos TMC. O que faz com que, em veterinária, se utilize o mesmo tipo de biomarcadores. O grande desafio é a escolha de biomarcadores adequados (Kaszak *et al*., 2018).

2.2.3. Ciclooxigenases

A COX-2, está relacionada com o desenvolvimento e progressão do tumor mamário em mulheres (Millanta *et al*., 2016; Sleeckx *et al*., 2011; Pereira *et al*., 2009a). As COX-1 e 2, também se expressam em TMC (Sleeckx *et al*., 2011). Estas duas COXs têm funções diferentes. A COX-1 é expressa em inúmeros tecidos e desempenha um papel importante na regulação das funções fisiológicas normais. Já a COX-2, por norma, encontra-se ausente em células normais. No entanto, pode ser induzida por fatores de crescimento, resposta inflamatória, promotores

tumorais e oncogenes. A maioria das ações da COX-2 são mediadas pela prostaglandina E2 (PGE2). A COX-2 produz prostaglandina H2 (PGH2), que por sua vez, é convertida em PGE2 (Millanta *et al*., 2016). A PGE2 pode estimular a angiogénese, promovendo o crescimento maligno, o carater invasivo e aumentando a resistência à apoptose (Millanta *et al*., 2016). Vários estudos, demonstram que a expressão de COX-2 é mais frequente e intensa em TMC de caráter maligno. A sua expressão foi também correlacionada com a menor sobrevida (Valdivia *et al*., 2021; Lavalle *et al*., 2012; Sleeckx *et al*., 2011; Pereira *et al*., 2009a).

2.2.4. Dieta/obesidade

A obesidade e uma dieta rica em gordura têm sido associadas a um aumento de tumores mamários em mulheres. Em cães, foi estudada a relação entre a condição corporal (CC) e o desenvolvimento de TMC (Sleeckx *et al*., 2011). Numa análise multivariada, a idade avançada, a obesidade com um ano de idade e o alto consumo de carne vermelha foram fatores independentes associados ao risco de desenvolver TMC e displasias. Pensa-se, também que a leptina, uma hormona produzida pelos adipócitos, possa desempenhar um papel crucial na proliferação de células mamárias cancerígenas. Outros fatores de risco encontrados foram, além do alto consumo de carne bovina e suína, o baixo consumo de frango (Alenza *et al*., 1998).

2.3. Apresentação clínica

Os TMC apresentam-se clinicamente como nódulos únicos ou múltiplos na glândula mamária (Figura 5). Podem ser um achado acidental durante o exame físico numa consulta de rotina. A maioria dos animais está clinicamente saudável quando os nódulos são inicialmente detetados. É mais comum o aparecimento de nódulos múltiplos, principalmente em cadelas que foram expostas a hormonas ováricas (Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007).

Os TMC podem aparecer no mamilo ou, mais frequentemente, no próprio tecido glandular. Os TMC benignos apresentam-se geralmente como nódulos pequenos, bem circunscritos e firmes à palpação. Por outro lado, os sinais clínicos de malignidade incluem crescimento rápido, limites mal definidos, fixação à pele e/ou tecidos adjacentes e em casos mais agressivos, ulceração. Sinais de inflamação, como edema, eritema da pele e aumento de temperatura, são mais frequentes no carcinoma inflamatório (Euler, 2011; Clemente *et al*., 2010; Lana *et al*., 2007).



Figura 23 – Múltiplos nódulos mamários numa cadela. (Adaptado de Sorenmo *et al*., 2020).

Em casos avançados de TMC, já com a presença de metástases, outros órgãos podem encontrar-se afetados (Gundim *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007). Ocasionalmente, foram reportados casos de disseminação metastática retrógrada de tumores mamários para a vagina (Euler, 2011). Dependendo do órgão afetado, podem ser observados diferentes sinais clínicos. Alguns dos sinais inespecíficos são fadiga, letargia, perda de peso, dispneia, tosse, linfedema e claudicação. A gravidade destes sinais é determinada pela localização e extensão das metástases (Sleeckx *et al.,* 2011; Lana *et al.,* 2007).

2.4. Síndromes paraneoplásicas

As síndromes paraneoplásicas (SPN) são sinais provenientes de alterações na estrutura ou função do organismo, associadas à doença neoplásica, que não estão relacionadas diretamente com o tumor primário ou com as metástases. São causadas pela produção ou depleção de hormonas, citocinas ou péptidos, libertados na circulação pelo tumor. Podem também ocorrer devido a uma reposta imunomediada do hospedeiro, ao próprio tumor (Bailey, 2019; Stein, 2017; Mellanby, 2016).

Estes sinais podem aparecer em localizações distantes do tumor primário e ser a primeira evidência de doença neoplásica (Stein, 2017). Após o tratamento da neoplasia primária, a SPN pode desaparecer. A recorrência da SPN pode ser um sinal de recidiva da neoplasia, sendo importante monitorizar estes sinais (Stein, 2017; Mellanby, 2016). Ainda assim, certas SPN não

são resolvidas com o tratamento da neoplasia, como é o caso da caquexia e outras patologias de etiologia imune ou neurológica (Bailey, 2019). As SPN, nos TMC, podem ter origem nas citocinas inflamatórias e fatores de crescimento produzidos pelo tumor (Duda *et al*., 2017). As mais descritas em TMC são hipercalcemia, hipoglicemia, coagulação intravascular disseminada (CID), leucocitose por eosinofilia e neuropatia periférica (Mellanby, 2016).

A hipercalcemia maligna (HM) é causada por mediadores libertados pelo tumor, que atuam a nível ósseo e renal (Bailey, 2019; Mellanby, 2016). Em cães, a HM pode ter sinais como inapetência, polidipsia, poliúria, vómitos e fraqueza muscular. O diagnóstico é feito através da apresentação clínica, resultados hematológicos, bioquímicos, urianálise e imagiologia. O tratamento é feito através da remoção do TMC e corrigindo os eletrólitos através de fluidoterapia (Bailey, 2019; Mellanby, 2016). Deve ser monitorizado o cálcio ionizado, por ser mais preciso que o cálcio sérico. Não sendo possível medir o cálcio ionizado, o cálcio total pode dar uma orientação, pois os seus níveis tendem a ser superiores na HM (Bailey, 2019; Stein, 2017).

A hipoglicemia paraneoplásica, nos carcinomas mamários, pode estar associada à produção de IGF-1 e IGF-2, ao hipermetabolismo da glucose ou ao aumento da expressão dos recetores de insulina (Bailey, 2019; Stein, 2017; Mellanby, 2016).

A CID é uma síndrome onde ocorre uma ativação sistémica da cascata da coagulação, levando à formação generalizada de microtrombos (Bailey, 2019). As doenças neoplásicas são uma das causas mais comuns de CID, particularmente o carcinoma inflamatório (Bailey, 2019). O tratamento é difícil e o prognóstico muito reservado (Mellanby, 2016).

A leucocitose por neutrofilia, em processos neoplásicos, é atribuída à inflamação ou à necrose dos tecidos associado ao tumor. Já a leucocitose por eosinofilia, é um achado ocasional e raro em cães (Bailey, 2019; Stein, 2017; Mellanby, 2016).

As neuropatias periféricas paraneoplásicas, quando apresentam sinais, podem ser fraqueza, paraparésia ou tetraparésia progressiva, caracterizadas por disfunção neurogénica do neurónio motor inferior (Bailey, 2019; Mellanby, 2016).

2.5. Metástases

Metástase é o termo usado para o processo de disseminação de células neoplásicas, do seu local primário para órgãos distantes, onde posteriormente proliferam e formam uma massa macroscópica. Tal ocorre através da corrente sanguínea ou dos vasos linfáticos (Argyle *et al*., 2019; Khanna & Foskett, 2017; Dobson, 2016; Lamp *et al*., 2013; Khanna & Hunter, 2005).

O processo inicia-se com a passagem de células cancerígenas pela membrana basal do tumor. A angiogénese e a linfangiogénese, associadas a tumores, correspondem ao processo que gera novos vasos linfáticos. Estes são cruciais na progressão do tumor mamário. A vascularização tumoral, juntamente com o sistema linfático, é a principal via através da qual as células dendríticas, derivadas da medula óssea, se infiltram nos tumores. As próprias células tumorais são capazes de deixar a localização primária e disseminar por via sistémica. Estas células entram na corrente sanguínea, aderem às plaquetas e à fibrina, protegendo-se e evitando o reconhecimento imunológico. Tornam-se, assim, resistentes à apoptose associada à perda de contacto entre células, permitindo viajarem pela corrente sanguínea e chegarem a órgãos distantes (Argyle *et al*., 2019; Khanna & Foskett, 2017; Dobson, 2016; Benazzi *et al*., 2014; Lamp *et al*., 2013). Após a chegada ao local, estas células têm a capacidade de deixar a circulação e sobreviver no microambiente hostil do novo tecido. As células neoplásicas permanecem num estado de dormência, durante um período variável. Este é interrompido quando recebem sinais para proliferar, desenvolver processos de angiogénese e/ou associarem-se a vasos sanguíneos pré-existentes. Com a ajuda da nova irrigação sanguínea, as células multiplicam-se, tornando-se numa lesão metastática (Figura 6). A progressão da doença está associada a repetições deste processo (Argyle *et al*., 2019; Khanna & Foskett, 2017; Dobson, 2016; Lamp *et al*., 2013).

Nos TMC, os locais mais frequentes de metástases são o gânglio linfático e os pulmões (Bulkowska *et al*., 2017). Por vezes, podem ser encontradas metástases no fígado, rins, baço, osso ou cérebro (Gundim *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007).

A disseminação de neoplasias, através de metástases, é um problema relevante em oncologia (Khanna & Hunter, 2005). Em cães com TMC malignos, a avaliação e previsão do aparecimento de metástases é de grande importância, uma vez que estas são a principal causa de morte nestes tumores, sendo, por isso, um fator de prognóstico a ter em consideração (Kim *et al*., 2021; Xu, *et al.*, 2021; Lamp *et al*., 2013; Klopfleisch, *et al.*, 2011).

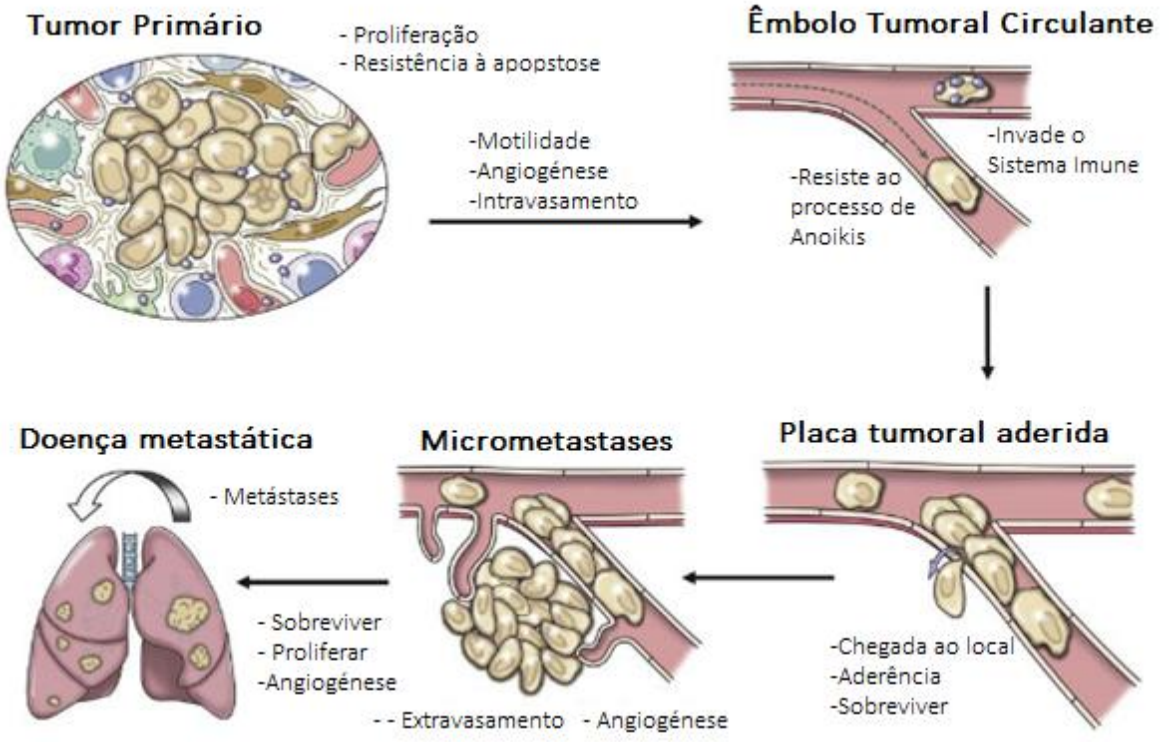


Figura 6 – A cascata metastática (Adaptado de Argyle *et al*., 2019).

Tem sido sugerido o interesse dos biomarcadores como indicadores prognósticos do aparecimento de metástases e do seu grau de malignidade em TMC (Ribeiro *et al*., 2016; de Oliveira *et al*., 2015a; Santos *et al*., 2010; Pereira *et al*., 2009a). Ribeiro *et al*. (2016) mostrou que níveis séricos de galectina-3 permaneciam persistentemente elevados em cadelas com TMC operados e com metástases. Também a COX-2 expressa valores elevados na presença de metástases (Pereira *et al*., 2009a). As galectinas, uma família de proteínas de ligação ao glicano, surgem implicadas na progressão da neoplasia e no aparecimento de metástases, embora os mecanismos desta ação estejam ainda mal esclarecidos (de Oliveira *et al*., 2010). O crescimento rápido da neoplasia e o aparecimento de metástases à distância, parece relacionar-se com alterações na transição epitélio-mesenquimal e com o aumento da atividade das metaloproteinases da matriz. A aspirina, demonstrou resultados favoráveis em diversos tipos de cancro. Em TMC pode impedir a proliferação, migração e invasão neoplásica, ao inibir a sinalização da Wnt/β-catenina e, consequentemente, a metastização (Xu *et al*., 2021).

2.6. Diagnóstico

A avaliação diagnóstica de TMC deve incluir um exame físico completo, um perfil hematológico, um perfil bioquímico sérico e urianálise de rotina, para que se obtenha informação sobre o estado geral do animal. Esta primeira avaliação deve também dar parecer sobre se a patologia é local, loco-regional ou se já se encontra disseminada (Borrego, 2017; Lana *et al.*, 2007).

2.6.1. Anamnese

Durante a anamnese é importante fazer uma recolha dos dados básicos do animal, desde a idade, o sexo, a raça, o estado reprodutivo, em que estádio do ciclo éstrico se encontra e se foi e quando realizada OVH (Sorenmo *et al*., 2020a). Na consulta inicial, devem ser também recolhidas informações como: há quanto tempo notaram a presença do nódulo e se houve crescimento do mesmo, se existem outros sinais clínicos, ciclos reprodutivos, número de gestações, lactação e terapias com anovulatórios (Sleeckx *et al*., 2011; North & Banks, 2009).

2.6.2. Exame físico

No diagnóstico de TMC, é necessário um exame físico geral do animal e um exame específico das glândulas mamárias. Durante o exame físico, deve ser avaliada a condição corporal, uma vez que é um dos fatores de risco. Idealmente, o exame da glândula mamária é feito com o animal em decúbito dorsal. Toda a cadeia mamária deverá ser palpada e inspecionada. O nódulo mamário deve ser palpado e avaliado quanto ao tamanho, se é movel ou se encontra fixo ao tecido subjacente, se existe ulceração ou edema e se existe linfoadenomegalia dos gânglios linfáticos regionais. Os gânglios axilares e inguinais superficiais geralmente não são palpáveis, a não ser que se encontrem aumentados. Um exame retal pode revelar linfoadenomegalia ilíaca interna (Sleeckx *et al*., 2011; North & Banks, 2009; Lana *et al*., 2007).

2.6.3. Exames Complementares de Diagnóstico

2.6.3.1. Análises Hematológicas, Bioquímicas e Urianálise

Os perfis hematológicos, bioquímicos e a urianálise de rotina não são específicos para neoplasia mamária. No entanto, as análises pré-anestésicas são essenciais para a deteção de eventuais patologias concomitantes e SPN (Sleeckx *et al*., 2011).

2.6.3.2. Citologia

A citologia do nódulo, com recurso a PAAF, pode ser útil em alguns tipos de TMC. Este é um procedimento simples e de baixo custo. Os critérios citológicos como o pleomorfismo nuclear e o rácio núcleo/citoplasma elevado, podem ser indicadores de malignidade. Ainda assim, devido à heterogeneidade da maioria dos TMC, a sua avaliação citológica por PAAF pode ser ilusória. Para diferenciar tumores benignos de malignos, esta técnica tem sido relatada como um método pouco sensível. Por isso, para diagnóstico definitivo, deve ser realizada excisão do TMC e avaliação histopatológica (Sleeckx *et al*., 2011; North & Banks, 2009; Lana *et al*., 2007).

2.6.3.3. Biópsia

As biópsias incisionais fornecem mais informações que a citologia e podem ser úteis para auxiliar o estadiamento e planeamento cirúrgico. Ainda que haja uma distinção pré-cirúrgica entre tumor mamário benigno e maligno, não dispensa a necessidade do procedimento cirúrgico e a avaliação histopatológica. As biópsias excisionais são mais apropriadas para o diagnóstico, o prognóstico e o tratamento, numa única etapa. Para evitar a subestimação do potencial de malignidade do tumor, foi demonstrado que o recurso à histopatologia é sempre necessário (Sleeckx *et al*., 2011; North & Banks, 2009; Lana *et al*., 2007).

Os gânglios linfáticos sentinela, são definidos como os primeiros gânglios linfáticos a receber a drenagem linfática de uma neoplasia, apresentando um risco superior de metástase regional. Para o diagnóstico definitivo de metástases, deve ser realizada a histologia destes gânglios. Se positivo, é aconselhada a excisão da zona periganglionar. Se negativo, assume-se que os restantes gânglios regionais também se encontram negativos. Como parte do estadiamento, os gânglios devem ser avaliados por rotina em todos os pacientes com TMC (Beer *et al*., 2018; Borrego, 2017; Sleeckx *et al*., 2011).

Em suma, o exame histológico da massa e gânglios linfáticos excisados, é considerado o *gold standard* para diagnóstico de TMC. (Sleeckx *et al*., 2011).

2.6.3.4. Exames Imagiológicos

A imagiologia é necessária para avaliar a presença de metástases à distância. Neste tipo de exames estão incluídos a radiografia de tórax com 3 projeções, a ecografia abdominal, a tomografia computorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) (Sleeckx *et al*., 2011).

2.6.3.4.1. Radiografia torácica

A radiografia torácica deve ser realizada antes da cirurgia. Para avaliar a integridade dos pulmões e gânglio esternal, devem-se realizar três incidências: plano lateral direito, plano lateral esquerdo e dorso-ventral. Com este exame é possível avaliar a presença de doença metastática pulmonar (Figura 7). Estas lesões geralmente são circulares e com uma radiodensidade bem definida. Contudo, podem também ser encontrados nódulos mal demarcados ou derrame pleural, sem qualquer evidência de patologia pulmonar. Para que estas lesões possam ser detetadas em radiografia, precisam de ter pelo menos 5-7mm de tamanho (Sleeckx *et al*., 2011; Otoni *et al*., 2010; Lana *et al*., 2007). A radiografia torácica pode dar imagens que se confundem com outro tipo de lesões. Portanto, o diagnóstico de metástases não deve ser baseado apenas na imagem radiológica. Esta deve ser sempre confirmada com recurso a PAAF, lavagem bronco alveolar ou outras técnicas de biópsia (Khanna & Foskett, 2017).

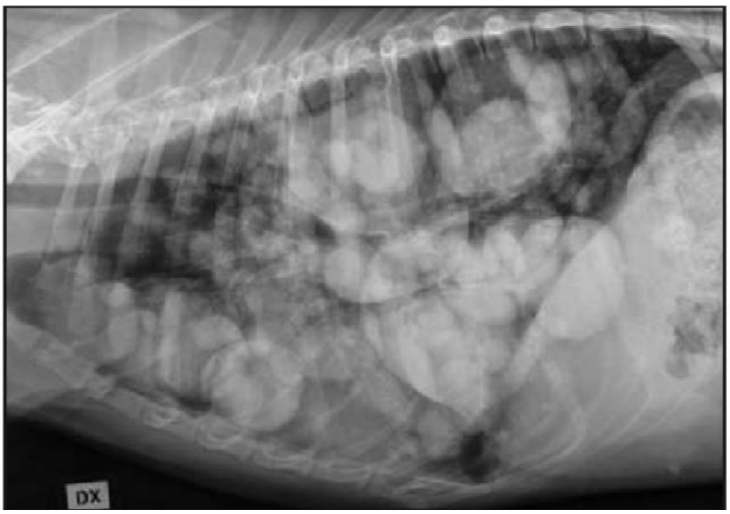


Figura 7 – Múltiplas metástases pulmonares num cão com adenocarcinoma simples (Adaptado de Euler, 2011).

2.6.3.4.2. Ecografia Abdominal

A ecografia abdominal é um exame complementar não invasivo e seguro, que deve ser sempre realizado para um estadiamento completo. Com este procedimento, é avaliada a presença de metástases abdominais. Durante o exame, é investigada a presença de linfoadenopatia metastática locorregional, nos gânglios inguinal superficial, axilar e intra-abdominais. A suspeita de metástases, após realizada a ecografia, deve ser confirmada com citologia por PAAF. Alguns autores tentaram usar a ecografia, como um método adjuvante, na diferenciação de tumores malignos de benignos (Soler *et al*., 2016; Tagawa *et al*., 2016; Nyman *et al*., 2006). Com o

auxílio do Doppler, foi avaliada a composição tecidual e a vascularização. Os TMC tendem a produzir fatores angiogénicos, que estimulam a neovascularização do tecido tumoral e peritumoral. O seu aspeto ecogénico pode aumentar a suspeita de malignidade (Borrego, 2017; Soler *et al*., 2016; Tagawa *et al.*, 2016; Sleeckx *et al.*, 2011; Nyman *et al.*, 2006).

2.6.3.4.3. Outros exames imagiológicos

A TC pode detetar lesões próximas de 1mm, sendo por isso mais sensível que a radiografia. Está aconselhada nos TMC malignos (Sleeckx *et al*., 2011; Otoni *et al*., 2010).

A RM é o meio de diagnóstico mais sensível para detetar patologia na glândula mamária. Em lesões envolvidas por gordura ou sangue, a sua especificidade e sensibilidade são superiores, à radiografia e à ecografia. O elevado custo e o grande número de cortes por cada glândula, limitam o seu uso e não substitui o exame histopatológico (Garamvölgyi *et al*., 2006).

2.7. Diagnóstico Diferencial

Perante um animal com nódulos mamários, deve-se realizar o diagnóstico diferencial para hipertrofia mamária, mastite, granuloma, ectasia de ductos, tumores de pele ou corpos estranhos. A hipertrofia poderá ser excluída com base na anamnese e achados citológicos. No caso de um corpo estranho, como projéteis de chumbo, estes podem ser facilmente identificados através de uma radiografia abdominal. Contrariamente ao carcinoma inflamatório, o edema da mastite é, por norma, mais localizado e ocorre após o estro, parto ou gestação psicogénica (Fossum, 2013). Embora no diagnóstico dos tumores mamários humanos, os biomarcadores já sejam usados, em clínica veterinária ainda não. No entanto, diversos estudos vêm chamando a atenção para a sua fundamentação científica e para o interesse da sua utilização em TMC (Santos *et al*., 2013; Costa *et al*., 2011; Pereira *et al*., 2010).

2.8. Classificação Histopatológica

A histopatologia continua a ser o método diagnóstico *gold standard* para classificar e fornecer informações prognósticas sobre os TMC. Assim, deverá ser incluído nos relatórios histopatológicos, o subtipo do tumor, grau, presença/ausência de invasão linfática, margens de excisão e diâmetro do tumor (Rasotto *et al*., 2017).

Durante cerca de duas décadas, a maioria dos patologistas veterinários utilizava um sistema de classificação histológica reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Canadas *et al*., 2019). Esta classificação tinha como objetivo padronizar a terminologia e a nomenclatura, dividindo os TMC em 14 subtipos de tumores malignos e 6 subtipos de tumores benignos (Euler, 2011; Misdorp *et al*., 1999). Segundo a OMS, o processo de diferenciação tem por base o tipo celular neoplásico, em que a maioria dos tumores mamários têm origem em células epiteliais (Lana *et al.,* 2007). A diferenciação de tumores malignos começa pelos que mais se assemelham à estrutura normal da glândula mamária e termina com os pouco diferenciados, sem estrutura glandular. Foi reconhecido, neste sistema, uma relação entre o nível de diferenciação e o prognóstico, mostrando a sua importância na prática clínica (Euler, 2011).

Goldschmidt *et al*. (2011) propôs um novo sistema de classificação e graduação histológica, morfologicamente mais detalhada, baseado no sistema da OMS de 1999 (Tabela 2). É um esquema que apresenta 7 subtipos benignos e 23 malignos (Canadas *et al*., 2019). Algumas das neoplasias mantêm o nome, como o carcinoma sólido e o carcinoma anaplásico, enquanto outras apresentam-se separadas pertencendo a tipos de carcinoma diferentes, como o carcinoma micropapilar invasivo e o carcinoma ductal. São ainda descritos novos tipos de carcinoma, como o carcinoma inflamatório (Canadas *et al*., 2019; Im *et al*., 2014).

Um dos grandes desafios na classificação de TMC é identificar as neoplasias que são "verdadeiramente" malignas. A presença de algumas células com núcleos aumentados e nucleótidos proeminentes, leva muitas vezes a um sobrediagnóstico de carcinomas mamários (Goldschmidt *et al*., 2011). Para fazer a distinção entre TMC malignos, os critérios mais significativos são o tipo de tumor, o pleomorfismo nuclear, o índice mitótico, a presença de áreas de necrose e a forma como estão distribuídas aleatoriamente pela neoplasia, a presença de invasão peritumoral, a presença de invasão linfática e a presença de metástases nos GL regionais (Goldschmidt *et al*., 2011). Ainda assim, ambos os sistemas de classificação apresentam uma falha na descrição quantitativa da proporção de características morfológicas específicas, como as áreas escamosas ou de necrose, necessárias para o diagnóstico de carcinomas, adenocarcinomas ou comedocarcinomas (Im *et al*., 2014).

Tabela 2 – Classificação Histopatológica de TMC (Adaptado de Goldschmidt *et al*., 2011).

Classificação Histológica Goldschmidt *et al*., 2011			
Neoplasias Malignas	Neoplasias Epiteliais Malignas	Carcinoma – in situ	
		Carcinoma Simples	Tubular
			Túbulo-papilar
			Cisto-papilar
			Cribiforme
		Carcinoma Micropapilar Invasivo	
		Carcinoma Sólido	
		Comedocarcinoma	
		Carcinoma Anaplásico	
		Carcinoma Decorrente de um Adenoma Complexo/Tumor misto	
		Carcinoma Complexo	
		Carcinoma e Mioepitelioma maligno	
		Carcinoma tipo Misto	
		Carcinoma Ductal	
		Carcinoma Papilar Intraductal	
	Neoplasias Epiteliais Malignas Tipos Especiais	Carcinoma das Células Escamosas	
		Carcinoma Adenoescamoso	
		Carcinoma Mucinoso	
		Carcinoma Rico em Lipídios (secretor)	
		Carcinomas de células fusiformes	Mioepitelioma maligno
			Carcinoma de células escamosas – variante de células fusiformes
			Carcinoma - variante de células fusiformes
		Carcinoma Inflamatório	
	Neoplasias Mesenquimais Malignas Sarcomas	Osteossarcoma	
		Condrossarcoma	
		Fibrossarcoma	
		Hemangiossarcoma	
		Outros Sarcomas	
	Tumor Mamário Misto Maligno – Carcinossarcoma		
Neoplasias Benignas		Adenoma Simples	
		Adenoma papilar intraductal (papiloma do ducto)	
		Adenoma ductal (adenoma basalióide)	Com diferenciação escamosa (grânulos de querato-hialina)
		Fibroadenoma	
		Mioepitelioma	
		Adenoma complexo (adenomioepitelioma)	
		Tumor misto benigno	
Hiperplasia / Displasia		Ectasia do duto	
		Hiperplasia lobular (adenose)	Regular
			Com atividade secretora (lactacional)
			Com fibrose – tecido conjuntivo fibroso interlobular
			Com atipia
		Epiteliose	
		Papilomatose	
		Alteração fibroadenomatosa	
		Ginecomastia	
Neoplasias do mamilo		Adenoma	
		Carcinoma	
		Carcinoma com infiltração epidérmica (doença de Paget)	
Hiperplasia/displasia do mamilo		Melanose da pele do mamilo	

2.9. Grau Histológico

O grau histológico não deverá ser confundido com estadiamento. A classificação de grau é atribuída pelo patologista, consoante as características microscópicas apresentadas na amostra. O estadiamento é realizado pelo clínico, com base na extensão da doença, tendo em conta o tamanho do tumor, grau e local de invasão, envolvimento do gânglio e presença de metástases à distância. Apesar de fornecerem informações distintas, quando correlacionadas, afetam a decisão na abordagem do paciente oncológico (Avallone *et al*., 2021).

Foram aplicados ao carcinoma mamário canino os princípios do Grau Histológico de Nottingham (GHN), os mesmos utilizados no cancro da mama em humanos. O GHN avalia a formação de túbulos, o pleomorfismo nuclear e o número de mitoses por cada 10 High-power field (HPF). A cada um destes parâmetros é atribuído um número de 1 a 3 e a soma destes irá determinar o grau histológico do tumor (Tabela 3). O grau I indica tumores bem diferenciados, o II moderadamente diferenciados e o III pouco diferenciados (Tabela 4). Este sistema de classificação só é aplicado a neoplasias epiteliais. Apesar de poder ser utilizado na maioria dos TMC, este método não está indicado para tumores não epiteliais, como o caso dos sarcomas (Avallone *et al*., 2021; Kim *et al*., 2016).

Tabela 3 – Sistema de classificação do grau histológico (Adaptado de Peña *et al*., 2013).

Grau Histológico para TMC Penã *et al*., 2013		
Formação de Túbulos	>75%	**1**
	10% - 75% (formação moderada de arranjos tubulares misturado com áreas de crescimento sólido)	**2**
	< 10% (mínima ou nenhuma formação de túbulos)	**3**
Pleomorfismo Nuclear	Núcleo uniforme ou pequeno e regular e nucléolos ocasionais	**1**
	Grau moderado de variação no tamanho e forma do núcleo, núcleo hipercromático, presença de nucléolos (alguns proeminentes)	**2**
	Variação marcada no tamanho nuclear, núcleos hipercromáticos, muitas vezes com mais que um nucléolo proeminente.	**3**
Mitoses por 10 HPF	0–9 mitoses/10 HPF	**1**
	10–19 mitoses/10 HPF	**2**
	> 20 mitoses/10 HPF	**3**

Tabela 4 – Pontuação utilizada na avaliação do grau histológico (Adaptado de Peña *et al.*, 2013).

Pontuação total	
Pontos	**Grau de malignidade**
3-5	**I** - Baixo, bem diferenciado
6-7	**II** - Intermedio, moderadamente diferenciado
8-9	**III** - Alto, pouco diferenciado

Devido à grande heterogeneidade dos padrões histológicos dos TMC, em 2013, foi proposto um sistema de classificação derivado do GHN (Tabela 3 e 4) (Peña *et al*., 2013). Relativamente à formação de túbulos, em tumores complexos e mistos, a percentagem de formação tubular é pontuada considerando apenas as áreas epiteliais. No mioepitelioma maligno, a sua pontuação é 2, independentemente da quantidade de formação tubular. Em carcinomas heterogéneos, deve ser avaliada a área maligna mais representativa. Quanto ao pleomorfismo, em tumores complexos e mistos, este deve ser avaliado em todas as áreas com componentes malignos. Os campos de visão devem ter um diâmetro de 0,55 mm e devem ser selecionados na periferia ou em zonas que se mostrem mitoticamente mais ativas (Avallone *et al*., 2021; Peña *et al*., 2013).

2.10. Estadiamento

O estadiamento completo de TMC permite estabelecer protocolos de tratamento adequados (Gundim *et al*., 2016). Vários sistemas têm sido propostos para avaliar o prognóstico. O sistema mais utilizado em medicina veterinária é o TNM (Tumor, Gânglio Linfático e Metástases) proposto pela OMS, criado por Owen em 1980 (Tabela 5). Os requisitos mais importantes são: T - avaliar o tamanho do tumor primário; N - avaliar se existem sinais de metástases nos gânglios linfáticos regionais; M - identificar metástases à distância, em gânglios distantes ou nos pulmões. Este sistema é aplicado apenas em tumores epiteliais, excluindo o carcinoma inflamatório. Em casos onde estejam presentes mais que um nódulo, a sua classificação deve ser feita de forma individual, tendo sempre maior peso a neoplasia com pior prognóstico (Gundim *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007). Esta classificação não tem em consideração a localização dos gânglios positivos, o tamanho dos focos metastáticos, a relevância clínica de aglomerados de células neoplásicas isolados ou de pequenas dimensões, nem o método utilizado na deteção de micrometástases (Araújo *et al*., 2015). Ainda assim, vários estudos mostram a

correlação negativa do estádio TNM, sugerindo que um diagnóstico e estadiamento mais precoce, leva a tempos de sobrevida mais longos (Dong *et al*., 2014).

Tabela 5 – Classificação TNM de TMC (Adaptado de Lana *et al*., 2007).

Estádio	TNM	T	N	M
I	**T1** N0 M0	**T1** - < 3cm Ø max	N0 – GL sem metástases	M0 – sem metástases à distância
II	**T2** N0 M0	**T2** – 3-5 cm Ø max	N0 – GL sem metástases	M0 – sem metástases à distância
III	**T3** N0 M0	**T3** - > 5 cm Ø max	N0 – GL sem metástases	M0 – sem metástases à distância
IV	T1, 2 ou 3 **N1** M0	Qualquer tamanho	**N1** – GL com metástases	M0 – sem metástases à distância
V	T1, 2 ou 3 N0 ou 1 **M1**	Qualquer tamanho	N0 ou N1 – GL com ou sem metástases	**M1** – com metástases à distância

As características mais importantes a serem observadas no tumor primário são a existência de crescimento rápido recente, o tamanho, a evidência clínica de invasão, a ulceração e os sinais de carcinoma inflamatório (Gundim *et al*., 2016; Lana *et al*., 2007). Alguns estudos mostram uma forte correlação entre o tamanho do tumor, a presença de metástases e o tempo de sobrevida (Gundim *et al*., 2016; Araújo *et al*., 2015; Dong *et al*., 2014; Sorenmo *et al*., 2009).

2.11. Tratamento

2.11.1. Cirurgia

A remoção cirúrgica continua a ser o tratamento de eleição para os TMC. No entanto, está contraindicada no caso dos carcinomas inflamatórios, uma vez que este tipo de tumor está associado a altas taxas de metastização e reincidência locorregional (Borrego, 2017).

O objetivo da cirurgia é remover precocemente o tumor, na sua totalidade, através do procedimento mais simples e menos invasivo (Borrego, 2017). A excisão incompleta e a citorredução não são terapêuticas curativas (Sorenmo *et al*., 2020a). Não é recomendado o adiamento do tratamento cirúrgico, uma vez que o tamanho do tumor é um fator de prognóstico (Euler, 2011). Não existem estudos que demonstrem haver aumento do tempo de sobrevida, quando comparados o tipo de cirurgia regional *versus* local, desde que este respeite as margens cirúrgicas (Euler, 2011; North & Banks, 2009). O tumor deve ser retirado com uma margem de 2 cm de tecido macroscopicamente normal (Euler, 2011). Relativamente às margens profundas,

pode ser necessário que estas incluam a fáscia muscular abdominal ou mesmo porções da parede abdominal (Sorenmo *et al*., 2020a; Biller *et al*., 2016). Se, após a avaliação histopatológica, o tumor não se encontrar contido nas margens, o prognóstico é mais reservado e aumenta a probabilidade de recidivas, pelo que deve ser feita uma revisão cirúrgica (Euler, 2011).

A OVH pode ser realizada na altura da remoção do TMC. Porém, para que se evite a disseminação de células neoplásicas para a cavidade abdominal, a remoção do tumor deve ser feita posteriormente ao fecho da cavidade abdominal (Borrego, 2017).

A escolha da técnica cirúrgica é determinada pelo tamanho do tumor, se está fixo ao tecido circundante, o número de nódulos e se a remoção total local é possível (Harvey & Miller, 2021; Lana *et al*., 2007). Na Figura 7 faz-se a comparação da extensão de tecido removido, com os diferentes procedimentos cirúrgicos. Tem sido sugerida a utilização de biomarcadores preditivos da recorrência das lesões neoplásicas, no sentido de selecionar a abordagem cirúrgica mais adequada para os TMC (Pereira *et al*., 2009a).

2.11.1.1. Lumpectomia/Nodulectomia

A remoção do nódulo é designada por lumpectomia ou nodulectomia. Esta técnica está indicada em nódulos pequenos, com menos de 0,5 cm, com consistência firme, superficiais e não fixos (Harvey & Miller, 2021; Lana *et al.*, 2007). Geralmente, estes TMC apresentam um caráter benigno. Este procedimento não deve ser realizado, caso o clínico suspeite de que se trata de um TMC maligno (Fossum, 2013; Lana *et al*., 2007). É feita uma incisão na pele e o nódulo é dissecado por inteiro, sem que sejam feitas incisões no tecido mamário (Lana *et al*., 2007). Após o estudo histopatológico, a lesão é classificada como maligna ou benigna. Caso se trate de um TMC benigno, mesmo que a sua remoção tenha sido incompleta, provavelmente não será necessário realizar uma revisão cirúrgica. Caso seja maligno, podem aceitar-se margens entre 1 e 2 cm. Caso contrário, pode ser necessária uma remoção mais agressiva do tumor (Harvey & Miller, 2021; Lana *et al*., 2007).

2.11.1.2. Mamectomia

Mamectomia é a remoção de uma glândula mamária (Harvey & Miller, 2021; Fossum, 2013). Está indicada em lesões que se encontrem contidas na glândula mamária, que sejam superiores a 1 cm e que se apresentem fixas à pele ou à fáscia. Quando envolvidas pela lesão, a pele e a fáscia da parede abdominal devem ser removidas em conjunto. Este tipo de técnica, onde é feita a remoção de uma única glândula, só se justifica se a glândula individual for uma unidade anatómica distinta. Se a individualização do tecido mamário normal for difícil, deve ser ponderada a mastectomia regional (Fossum, 2013; Lana *et al*., 2007).

2.11.1.3. Mastectomia Regional

Faz a remoção de diversas glândulas mamárias, com base na sua irrigação sanguínea e linfática (Harvey & Miller, 2021; Fossum, 2013;). É menos complexa que a mamectomia. Tendo em conta a drenagem linfática, quando o tumor envolve as glândulas M1, M2 ou M3, todas elas são removidas em bloco. O mesmo acontece quando estão envolvidas as glândulas M4 e M5. Quando da remoção, devem ser incluídos com estas os gânglios adjacentes. No entanto, o gânglio axilar só deverá ser removido caso se apresente aumentado e móvel ou se encontre positivo para células malignas (Fossum, 2013; Lana *et al*., 2007).

2.11.1.4. Mastectomia Unilateral

É uma técnica em que é removida toda a cadeia mamária, incluindo todas as glândulas de M1 a M5 e os gânglios superficiais (Harvey & Miller, 2021; Fossum, 2013). Exceto o gânglio axilar, que só deve ser removido quando há suspeita de se encontrar positivo. Esta técnica é recomendada se estiverem presentes vários nódulos ao longo da cadeia mamária ou se o nódulo for de grandes dimensões. Deve ser realizada, sempre que não seja possível uma remoção rápida e ampla através de procedimentos menos invasivos (Lana *et al*., 2007).

2.11.1.5. Mastectomia Bilateral

Remoção de ambas as cadeias mamárias. Deverá ser feita por etapas, com pelo menos três semanas de intervalo (Harvey & Miller, 2021; Fossum, 2013). Desta forma, estamos a promover a cicatrização da sutura e a elasticidade da pele, diminuindo o risco de pressão intra-abdominal pós-cirúrgica, desconforto e deiscência da sutura. Comparativamente à mastectomia regional, esta aumenta o risco de morbilidade, o tempo e recursos gastos, sem que aumente o

tempo de sobrevida. Pelo que não deve ser selecionada de forma profilática, a menos que tal se justifique (Fossum, 2013; Euler, 2011; Lana *et al*., 2007).

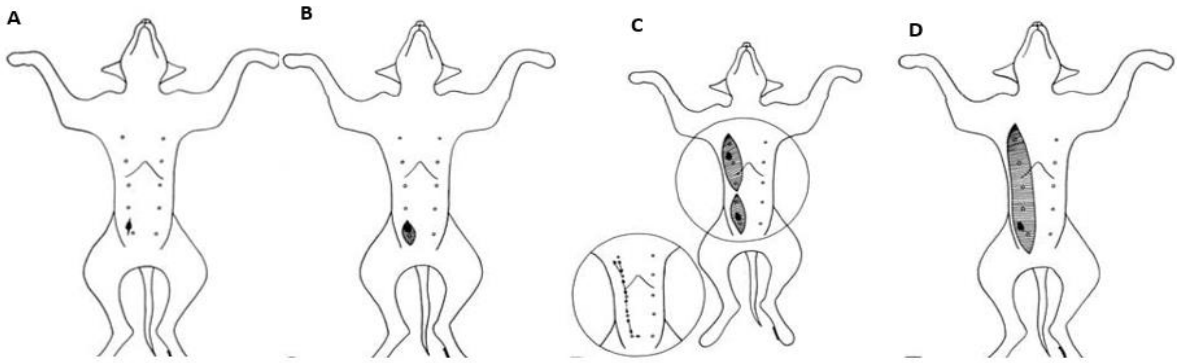


Figura 8 – Comparação da extensão de tecido removido com diferentes procedimentos cirúrgicos. **A** – Lumpectomia; **B** – Mamectomia; **C** – Mastectomia Regional; **D** – Mastectomia Unilateral (Adaptado de Harvey & Miller, 2021).

2.11.1.6. Excisão do Gânglio Linfático Regional

A presença de metástases no gânglio regional é um fator relevante, que influencia o tratamento e prognóstico de TMC. O conhecimento do padrão de drenagem, também conhecido como mapeamento, bem como a localização do GL sentinela, fornecem informações de grande importância aos cirurgião e oncologista (Collivignarelli *et al*., 2021). O mapeamento ganglionar, consiste no estudo da drenagem linfática da glândula afetada, permitindo identificar o gânglio com maior risco de metástases. Para tal, podem ser utilizadas técnicas como a linfocintigrafia, ecografia com contraste e a administração de hemossiderina ou de corantes intraoperatórios (Sorenmo *et al*., 2020a). Para o cirurgião, este conhecimento é útil não só para o planeamento da excisão, mas também para determinar um prognóstico pós-cirúrgico (Collivignarelli *et al*., 2021).

2.11.2. Tratamento Adjuvante

No cancro da mama em humanos, está comprovado que a utilização de quimioterapia, terapia hormonal, imunoterapia ou radioterapia, aumenta a sobrevida e o intervalo livre de doença (ILD). Já em TMC, estes tratamentos mostraram-se pouco eficazes, comparativamente com o tratamento cirúrgico isolado (Euler, 2011).

2.11.2.1. Quimioterapia

Cerca de 50% dos casos de TMC são de caráter maligno e acredita-se que estes pacientes possam beneficiar de tratamento adjuvante com quimioterapia. Em medicina humana, a quimioterapia convencional é utilizada de forma padrão e por rotina no cancro da mama. No entanto, em TMC, a utilização deste tratamento adjuvante não é consensual em todos os casos (Valdivia *et al*., 2021; Sorenmo *et al*., 2020a; Euler, 2011; Lana *et al*., 2007). Foram reportados casos com respostas favoráveis a fármacos como a doxorrubicina, a carboplatina, a mitoxantrona e o paclitaxel. Em estudos com amostras maiores, em que foi utiliza a gemcitabina, a doxorrubicina, o docetaxel e a mitoxantrona, não se observou melhoria no tempo de sobrevida (TS) ou ILD (Valdivia *et al*., 2021; Lana *et al*., 2007).

Devido à falta de quimioterápicos eficazes, animais com TMC malignos apresentam altas taxas de recidiva e prognóstico reservado. A utilização de quimioterapia, baseia-se no facto dos casos de TMC de maior grau, não serem tratados de forma eficaz apenas com cirurgia. Recorre-se a esta terapêutica adjuvante, em casos com alto risco de metástases ou recidivas. Na Tabela 6 apresentam-se as indicações para o tratamento adjuvante com quimioterapia (Valdivia *et al*., 2021; Sorenmo *et al*., 2020a; North & Banks, 2009).

Tabela 6 – Indicação de tratamento adjuvante com quimioterapia (Adaptado de Sorenmo *et al*., 2020).

Tamanho	Gânglio Linfático	Classificação Histopatológica	Indicação para Quimioterapia
< 3cm/40cc	Negativo	Carcinoma	Não*
> 3cm/40cc	Negativo	Carcinoma	Sim**
Indiferente	Positivo	Carcinoma	Sim
Indiferente	Indiferente	Osteossarcoma	Sim
Indiferente	Indiferente	Carcinoma Inflamatório	Sim

*O tratamento quimioterápico pode ser considerado consoante a histologia (presença de invasão vascular ou alto grau).
** Foram incluídos animais com doença de estádio III de acordo com o sistema OMS original. A doença em estádio III incluiu cães com tumores > 5 cm, com ou sem metástase no Gânglio Linfático.

Num pequeno estudo retrospetivo, realizado por Kuntz *et al*. (1998), foram estudados animais com osteossarcoma extra-esquelético. A glândula mamária é um dos locais mais comuns deste tipo de tumores. Neste estudo, os animais tratados com quimioterapia adjuvante, apresentaram maior TS, comparado com os que só receberam tratamento cirúrgico (Sorenmo *et al*., 2020a; Kuntz *et al*., 1998).

A quimioterapia convencional tem como objetivo administrar a máxima dose tolerada do fármaco citotóxico. Uma alternativa à quimioterapia convencional, é a quimioterapia metronómica (QM), onde são utilizadas doses baixas de fármacos citotóxicos de forma contínua (Barros & Repetti, 2015). Este tipo de terapêutica tem vindo a ser estudado desde 2007 (Petrucci *et al.*, 2021; Lana *et al*., 2007). Foi avaliada em tumores como hemangiossarcoma, osteossarcoma, carcinoma neuroendócrino hepático, sarcomas em tecidos moles e carcinomas de células de transição (Valdivia *et al*., 2021). Os fármacos utilizados na QM são a ciclofosfamida, a lomustina e o clorambucil. Nalguns estudos, observaram-se tempos de sobrevida superiores em animais tratados com cirurgia e QM, quando comparado com animais tratados com cirurgia e quimioterapia convencional (Valdivia *et al*., 2021; Campos *et al*., 2018).

2.11.2.2. Inibidores de COX

As COX são um grupo de enzimas que catalisa a conversão do ácido araquidónico em prostanóides, como as prostaglandinas (Valdivia *et al*., 2021; Xu *et al*., 2021). Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), para além de terem efeitos anti-inflamatórios, parecem ter efeitos anti-tumorais, através da inibição da COX-2 (Sorenmo *et al*., 2020a). Na tentativa de evitar efeitos adversos e direcionar especificamente para a COX-2, foram desenvolvidos novos inibidores seletivos da COX-2, os coxibs (Valdivia *et al*., 2021). Tanto os AINEs mais antigos como os coxibs têm efeito na oncogénese. Atuam de forma a inibir o crescimento e a proliferação de células cancerígenas, modulando a atividade apoptótica, reduzindo o potencial metastático e invasivo das células e inibindo a angiogénese. No tratamento dos TMC, estão a ser utilizados fármacos anti-COX-2, não só como anti-inflamatórios, mas também como tratamento adjuvante (Valdivia *et al*., 2021). De acordo com estudos retrospetivos, é benéfica a utilização de AINEs para o tratamento sistémico de carcinomas inflamatórios (Sorenmo *et al*., 2020a).

2.11.2.3. Terapêutica Hormonal

Dado que os TMC parecem ser hormonodependentes, têm sido propostas diversas terapêuticas anti hormonais. Desde logo a OVH aquando da remoção do tumor. Inicialmente, estudos que avaliaram a realização de OVH, em cadelas submetidas a mastectomia, não encontraram benefício para a sua realização (Morris *et al*., 1998). No entanto, estudos recentes, que compraram o efeito da OVH aquando da remoção cirúrgica do TMC, verificaram um

aumento do ILD, quando comparado com os animais que não fizeram OVH no momento da mastectomia. Independentemente de serem esterilizados ou não (Banchi *et al*., 2022).

A inibição hormonal, como terapêutica adjuvante, pode também ser conseguida pela supressão da síntese de estrogénios ou com os moduladores de RE (SERMs) (Sorenmo *et al*., 2020a; Euler, 2011). A goserelina, um análogo da GnRH, que inibe o eixo hipotálamo-hipófise-ovário, foi utilizada num grupo de cadelas com TMC submetidas a cirurgia. Com a sua utilização, foi observada a redução dos níveis séricos do estrogénio e da progesterona, redução do tamanho do tumor, não recorrência de TMC e uma sobrevida de 88% aos 2 anos (Lombardi *et al*., 1999).

O tamoxifeno, um antagonista de RE, é utilizado no tratamento de cancro da mama em mulheres e também foi estudado em TMC. No entanto, a sua atividade anti-tumoral, não se verificou em cadelas. A maioria dos animais teve de interromper a medicação, devido a efeitos adversos, como inchaço vulvar, corrimento vaginal, incontinência, infeção do trato urinário, piómetra e sinais de estro (Tavares *et al*., 2010). Por isso, outros antiestrogénios têm sido investigados (Valdivia *et al*., 2021; Sorenmo *et al.,* 2020a; Euler, 2011; North & Banks, 2009).

A desmopressina é um análogo sintético da vasopressina, uma hormona antidiurética. Foram realizados estudos clínicos onde foi administrada esta hormona antes da cirurgia e observou-se um aumento do ILD e do TS (Hermo *et al*., 2011). Supunha-se que tal se devia às suas propriedades homeostáticas e vasopressoras, que previnem a entrada de células cancerígenas na corrente sanguínea, durante a manipulação cirúrgica. No entanto, o trabalho de Sorenmo *et al*. (2020b) não confirma este benefício. Para confirmar estes resultados, são necessários mais estudos de larga escala (Valdivia *et al*., 2021; Sorenmo *et al.,* 2020b).

2.11.2.4. Radioterapia

A radioterapia é pouco utilizada em TMC. Pode ser ponderada em casos de neoplasia local recorrente ou metástase ganglionar, onde a cirurgia já não é opção. Nestes casos, a radiação é considerada um tratamento paliativo (North & Banks, 2009). Devido à localização das glândulas mamárias, a radiação pode induzir efeitos adversos no trato gastrointestinal (Euler, 2011). No estudo de Rossi *et al*. (2018), em carcinomas inflamatórios, foi avaliada a combinação de piroxicam, toceranib e talidomida, com ou sem radioterapia. Verificou-se um aumento de sobrevida no grupo submetido a ambas as terapêuticas (Valdivia *et al*., 2021; Rossi *et al*., 2018).

2.11.2.5. Imunoterapia

Alguns estudos têm sugerido a utilização de terapêuticas adjuvantes, baseadas no conhecimento dos biomarcadores de malignidade e dos seus inibidores. Assim, em tumores de elevada malignidade, como os carcinossarcomas, poderia ser útil a administração de inibidores da VEGFR-2, uma vez que esta exibe uma alta expressão nesses tumores (Santos *et al*., 2016). Também as moléculas MMP-9 e uPA, cuja expressão surge muito elevada nos TMC malignos, poderiam constituir alvos terapêuticos no tratamento adjuvante pós-operatório destes tumores (Santos *et al*., 2013). Num estudo clínico prospetivo, a atividade antitumoral do tripeptídeo muramil fosfatidiletanolamina (L-MTP_PE), encapsulado em lipossomas, foi avaliada como uma imunoterapia adjuvante em carcinomas simples. Este estudo não mostrou benefício na sua utilização quando comparado com o placebo (Teske *et al*., 1998). Também o bevacizumabe, um anticorpo neutralizante do VEGF, foi aprovado pela United States Food and Drug Administration (FDA), como o primeiro agente anti-angiogénico. Embora apenas para ser utilizado, em combinação com quimioterapia ou terapêutica com citoquinas, em diversos tipos de cancro avançados e metastizados. E em monoterapia, no glioblastoma recorrente (Giantonio *et al*., 2007). Outros agentes anti-angiogénicos, foram aprovados pela FDA, como os inibidores da tirosina quinase (TKIs) do recetor pan-VEGF multialvo (VEGFR). No entanto, os benefícios clínicos destas terapêuticas têm sido escassos ou mesmo controversos, tendo sido retirada a aprovação ao bevacizumabe (Benazzi *et al*., 2014; Kerbel *et al.*, 2006).

Na Figura 9, apresentamos o esquema de abordagem terapêutica de TMC (Adaptado de Euler, 2011). Assim, perante um nódulo na glândula mamária, é tomada a decisão de fazer a cirurgia ou tratamento médico paliativo. A técnica cirúrgica é decidida em função do tamanho do nódulo. Após o exame histopatológico da peça, se as margens cirúrgicas são completas e o estádio é superior a II, deve-se considerar o tratamento adjuvante com quimioterapia. Se o tumor for benigno ou de estádio I ou II, não justifica tratamento adjuvante. Quando as margens não são completas, deve-se considerar a cirurgia de revisão ou tratamento adjuvante com quimioterapia. Independente das margens cirúrgicas, nos casos de sarcoma, carcinossarcoma, carcinoma anaplásico ou carcinoma inflamatório, considerar tratamento com quimioterapia. No caso de não ser possível a cirurgia, está indicado o tratamento médico paliativo (Euler, 2011).

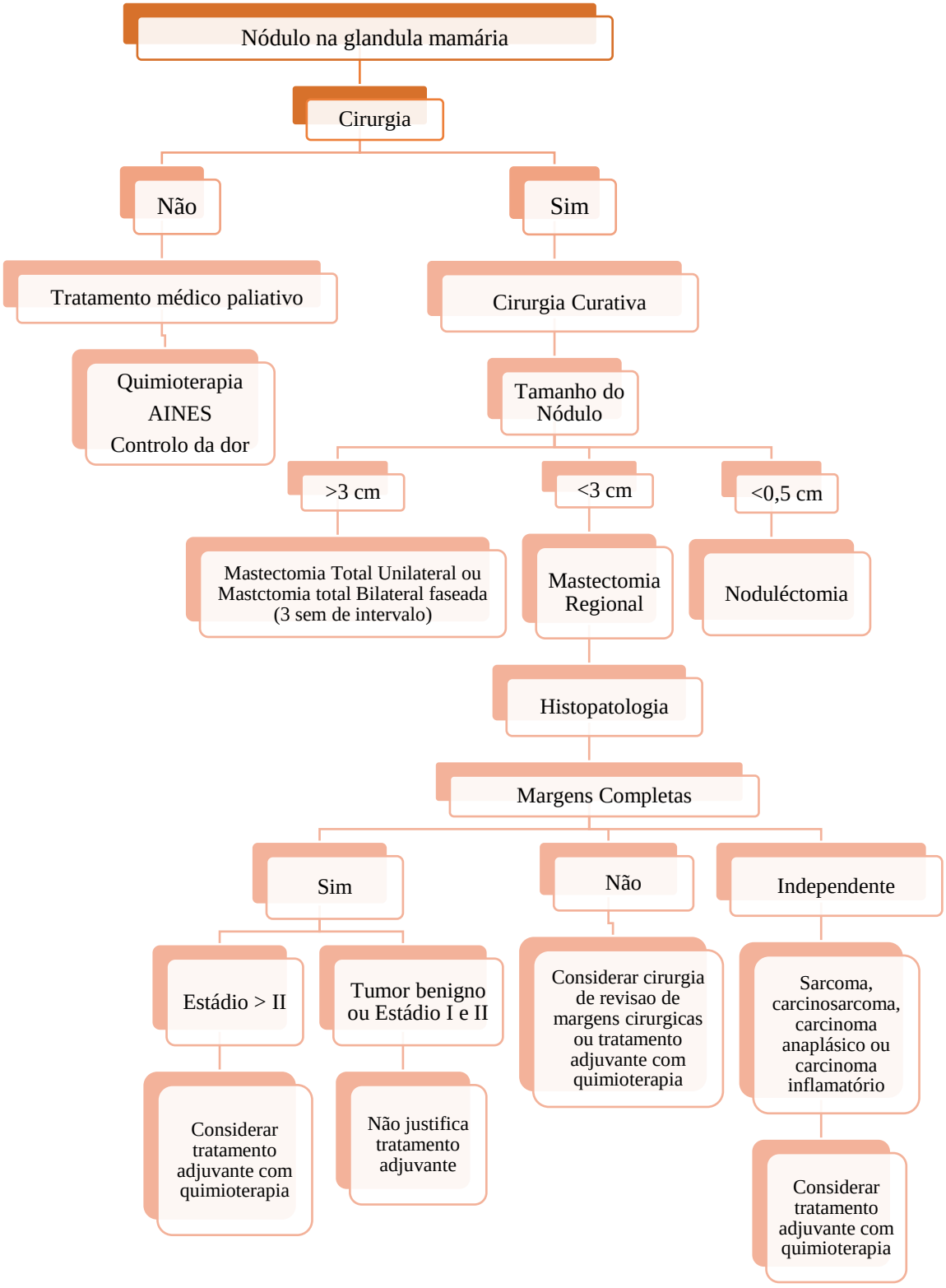


Figura 9 – Esquema de abordagem terapêutica de TMC (Adaptado de Euler, 2011).

2.12. Fatores de Prognóstico

Na avaliação e comparação dos fatores de prognóstico em TMC, não existe consenso quanto aos parâmetros avaliados (Sleeckx *et al*., 2011). Por vezes, o prognóstico é avaliado ao fim de um e dois anos após a mastectomia, com base na percentagem de animais vivos ou no tempo de sobrevida. Outro parâmetro que pode ser avaliado é o ILD, definido pelo intervalo de tempo desde a excisão do tumor até ao aparecimento de metástases ou recidivas. Vários fatores podem influenciar o tempo de sobrevida do animal, pelo que devem ser avaliados diferentes parâmetros para obter um prognóstico mais preciso (Tabela 7) (Sorenmo *et al*., 2019a; Sleeckx *et al*., 2011). Estes fatores podem ser divididos entre fatores clínicos e histopatológicos.

2.12.1. Clínicos

O tamanho do tumor tem sido considerado um importante fator de prognóstico, não só no TS, mas também no aparecimento de recidivas e doença metastática (Rasotto *et al*., 2017). Nódulos com um tamanho superior a 3 cm, têm um pior prognóstico, tanto em termos de remissão da doença como na sobrevida. (Sorenmo *et al*., 2020a). Outros sinais de malignidade, como a ulceração, a fixação a tecidos adjacente e a presença de nódulos múltiplos, são considerados fatores de prognóstico negativos. A ulceração da pele é considerada um fator independente, com pior prognóstico (Queiroga & Lopes, 2002b; Alenza *et al*., 2000).

A presença de metástases é um fator de prognóstico relevante em TMC malignos (Chang *et al*., 2005). A invasão linfática, definida pela infiltração peritumoral dos vasos linfáticos e/ou a infiltração do gânglio linfático regional, é um fator de prognóstico independente. Surgindo associado a TS menores e aumento do risco de recidivas e metástases à distância (Rasotto *et al*., 2017). Pode ser útil na decisão de administrar tratamento adjuvante (Araújo *et al*., 2015). No entanto, as micrometástases, definidas como aglomerados de células que podem variar entre os 0,2 e os 2,0 mm de diâmetro, não se traduziram num pior prognóstico, em comparação com animais sem evidência de metáteses (Araújo *et al*., 2015).

Margens cirúrgicas incompletas mostraram estar associadas ao aumento de reincidência de TMC. No entanto, não mostraram um aumento do risco de metástases ou na diminuição do TS (Rasotto *et al*., 2017). Já a técnica cirúrgica não demonstrou ter impacto no prognóstico da doença (Chang *et al*., 2005).

Variáveis relativas ao estado reprodutivo, como a OVH após aparecimento de TMC, número de gestações e idade da primeira gestação completa, características do ciclo estral e pseudogestações, não mostraram afetar o prognóstico dos TMC (Veronesi *et al*., 2003; Alenza *et al*., 2000).

Quanto à idade, não parece haver consenso sobre ser um fator de prognóstico. Alguns estudos sugerem que a idade mais avançada, aquando do diagnóstico, diminui o TS e o ILD após a mastectomia (Alenza *et al*., 2000). Enquanto outros autores não o observam (Chang *et al*., 2005).

2.12.2. Histopatológicos

Os fatores histopatológicos que influenciam os tempos de sobrevida são o tipo histológico, o grau histológico, a expressão de recetores hormonais (RE e RP) e a presença de marcadores de proliferação (Borrego, 2017).

O tipo histológico é aceite como um fator de prognóstico a ter em conta. Os carcinomas complexos ou mistos foram associados a um melhor prognóstico. Por outro lado, os carcinossarcomas e os comedocarcinomas apresentaram um maior risco de morte relacionado com o tumor (Canadas *et al*., 2019; Goldschmidt *et al*., 2011). Num estudo de Rasotto *et al*. (2017), o tumor anaplásico e o carcinossarcoma, foram os tipos histológicos mais agressivos, com TS de cerca de três meses. Animais com estes tipos histológicos, apresentaram um risco de morte associada ao tumor muito maior que os carcinomas complexos (Rasotto *et al*., 2017). Também os carcinomas inflamatórios apresentaram prognóstico mais reservado (Alonzo-Miguel *et al*., 2022; Marconato *et al*., 2009). A classificação de Goldshimdt *et al.*, (2011) mostrou uma associação com o tipo histológico e o aparecimento de recidivas ou metástases à distância (Rasotto *et al*., 2017).

Quanto aos graus histológicos, o TS foi menor em animais com carcinomas de grau III que em animais de graus I e II (Karayannopoulou *et al*., 2005). O grau histológico III apresentou TS de cerca de 6 meses. O comportamento dos tumores foi semelhante nos graus I e II. Ambos mostraram estar associados a um TS mais prolongado, aproximadamente 30 meses. O grau histológico III foi associado a um caráter mais agressivo, com presença de recidivas e metástases à distância (Rasotto *et al*., 2017).

A avaliação do índice de proliferação é útil para determinar o caráter maligno do tumor. Um índice superior, está relacionado com uma maior taxa de crescimento e com a capacidade de metastização. O Ki67 e o PCNA, são utilizados como biomarcadores de proliferação (Kaszak *et al*., 2018). Uma maior expressão de Ki67, está associada a um caráter mais maligno, como tumores de maior tamanho, inflamação e ulceração da glândula mamária, invasão dos tecidos circundantes e metástases nos gânglios linfáticos (Kaszak *et al.,* 2018). Também a maior expressão do PCNA, está associada a estas características malignas. No entanto, quando comparado com o Ki67, o PCNA apresenta uma expressão mais elevada em tumores de maior grau de malignidade. Este biomarcador não é específico de atividade carcinogénica, por isso, deve ser sempre avaliado em conjunto com outros biomarcadores e fatores de prognóstico (Kaszak *et al.*, 2018). Estes dois biomarcadores continuam a ser utilizados, como fatores independentes, para prever o TS e o caráter histopatológico de malignidade (Carvalho *et al*., 2016).

Em medicina veterinária, uma maior expressão dos recetores hormonais de RE e RP, está associada a prognósticos mais favoráveis. Verificou-se que TMC que expressassem RE negativos e RP positivos, se relacionavam com uma evolução clínica menos favorável. Ainda assim, os TMC com pior prognóstico, mostraram ser os que apresentavam menor expressão de RE e RP (Kaszak *et al*., 2018).

Embora todos os fatores atrás considerados possam influenciar o prognóstico dos TMC, o estudo de Canadas *et al*. (2019), mostrou como fatores independentes a idade, as margens cirúrgicas, o tamanho do tumor, o grau histológico e a invasão do gânglio linfático.

Tabela 7 – Fatores de prognóstico e fatores não prognósticos (Adaptado de North & Banks, 2009).

<table>
<tr><th>Fatores de Prognóstico</th><th>Fatores não prognósticos</th></tr>
<tr><td>Idade avançada: controverso</td><td rowspan="3">Tipo de cirurgia: desde que as margens sejam completas, o tipo de cirurgia é irrelevante</td></tr>
<tr><td>OVH aquando da mastectomia: controverso</td></tr>
<tr><td>Tamanho do Tumor:
< 3cm – maior ILD e TS
3-5cm - ILD de 22 meses
>5 – TS de 14 meses</td></tr>
<tr><td>Tipo histológico do tumor:
Carcinoma anaplásico – TS de 2,5 meses
Carcinoma tubulopapilar – TS de 21 meses
Carcinoma sólido – TS de 16 meses
Outros tipos de carcinomas – TS de 14 meses
Sarcomas e Carcinoma inflamatório têm pior prognóstico que outros tipos de carcinomas</td><td></td></tr>
<tr><td>Estádio do Tumor: estádios superiores – TS menor
I – TS de 24 meses
II – TS de 12 meses
III –TS de 15 meses
IV – TS de 19 meses
V – TS de 6 meses</td><td>Localização da glândula mamária envolvida: não influencia o prognóstico</td></tr>
<tr><td>Grau:
I – 100% TS aos 2 anos (TS de 33,4 meses)
II - 53,3% de TS aos 2 anos (TS de 30, 3 meses)
III - 13,5% de TS aos 2 anos (TS de 6 meses)</td><td rowspan="5">Número de nódulos: não influencia o prognóstico</td></tr>
<tr><td>Margens cirúrgicas: margens curtas apresentam maior risco de recidivas</td></tr>
<tr><td>Tempo de evolução: crescimento rápido – mau prognóstico</td></tr>
<tr><td>Fixação: fixo aos tecidos adjacentes - mau prognóstico</td></tr>
<tr><td>Ulceração: ulcerado – mau prognóstico</td></tr>
<tr><td>Edema no membro: geralmente implica linfática e por isso pior prognóstico</td><td></td></tr>
<tr><td>Linfonodo regional: com metástases - mau prognóstico</td><td rowspan="8">Lactação: não há evidencia que o número de ninhadas, a idade à primeira gestação ou a ocorrência de pseudogestações, tenham efeito prognóstico</td></tr>
<tr><td>Metástases à distância: presentes - mau prognóstico</td></tr>
<tr><td>Expressão de recetores hormonais: baixa – baixo TS e ILD</td></tr>
<tr><td>Expressão de COX-2: alta – baixo TS e ILD</td></tr>
<tr><td>Densidade de microvasos: alta - aumenta risco de recidivas e metástases</td></tr>
<tr><td>Expressão de Ki67: alta - alto risco de metástases e baixo TS e ILD</td></tr>
<tr><td>Grau de malignidade: quanto menos diferenciado, pior o prognóstico</td></tr>
</table>

2.12.3. Novas Abordagens

O microambiente tumoral permite o desenvolvimento de condições de stress para as células cancerígenas, como a hipoxia, o stress oxidativo e alterações do pH, que se podem traduzir na libertação de diversas moléculas e metabolitos (de Oliveira *et al.,* 2015a). Estes funcionariam como marcadores de um processo neoplásico em evolução, podendo ter um valor prognóstico nessa situação. Embora várias moléculas tenham sido associadas à carcinogénese, os resultados dos estudos que procuram estabelecer o valor prognóstico desses marcadores, não tem sido consensual (Santos *et al*., 2013; Pereira *et al*., 2010; de Oliveira *et al.,* 2009).

A expressão da MUC1, que se mostrou aumentada no carcinoma da mama em humanos, foi investigada em TMC. Verificou-se que havia uma associação estatisticamente significativa, entre a sobrexpressão da MUC1 e o desenvolvimento de metástases à distância. No entanto, não se verificou qualquer associação com o tipo e grau histológico, modo de crescimento ou metástase no gânglio linfático (de Oliveira *et al*., 2009).

A deteção de células tumorais circulantes, tem um valor prognóstico comprovado no cancro da mama humano. Tem sido investigada a existência de marcadores da presença destas células em TMC. Embora diversos marcadores tenham sido identificados, não foram ainda estabelecidos critérios para a sua utilização (Costa *et al*., 2011).

Uma elevada expressão do p53 foi também associada a um pior prognóstico e menor TS (Kaszak *et al*., 2018). Assim, apesar da intensa investigação nesta área, a utilização de biomarcadores como fatores de prognóstico em TMC, ainda não entrou na prática clínica (Matos *et al*., 2006c; Chu *et al*., 1998; Alenza *et al*., 1995; Vos *et al*., 1993).

2.13. Profilaxia

A realização de OVH numa idade precoce, idealmente antes do primeiro cio, é a melhor forma de diminuir o risco de TMC (Borrego, 2017; Sleeckx *et al*., 2011). No caso de o animal já apresentar TMC, deve realizar-se a remoção cirúrgica e o acompanhamento regular. Devem ser feitas consultas de rotina de 3 em 3 meses, durante o primeiro ano após a cirurgia, com exame físico e radiografia torácica. O tutor deverá ser sensibilizado para a vigilância das cadeias mamárias, quanto ao aparecimento de novos nódulos (Borrego, 2017; Sleeckx *et al*., 2011).

Parte III – Estudo Retrospetivo de 30 casos de TMC malignos

1. Material e Métodos

O presente trabalho apoia-se num estudo retrospetivo, com o objetivo de caracterizar um grupo de cadelas com TMC malignos, submetidas a cirurgia e com análise histopatológica. Os animais que integram esta amostra eram provenientes de dois CAMVs diferentes. O primeiro grupo é constituído por 14 casos seguidos no Hospital Veterinário do Seixal (HVS). O segundo grupo é constituído por 16 casos seguidos no Hospital Escolar de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona (HFMVUL). O estudo abrangeu um período compreendido entre novembro de 2017 e abril de 2022.

Critérios de inclusão

Foram incluídos, sucessivamente, todos os animais da espécie canina, do sexo feminino, submetidos a cirurgia, com diagnóstico histopatológico de TM maligno e historial clínico registado.

Critérios de exclusão

Foram excluídos todos os animais que não cumpriam os requisitos atrás descritos.

Recolha de dados

Para este estudo, foram incluídas todas as cadelas com relatórios histopatológicos confirmando o diagnóstico de TMC maligno, tendo sido solicitada uma listagem de casos aos laboratórios assistentes de ambos os CAMVs. O HVS tem como laboratório assistente o INNO e a listagem de casos compreendeu o período de 2017 a 2021. O Hospital da FMVUL tem integrado o seu próprio laboratório e a listagem de casos compreendeu o período de 2019 a 2021.

Após a seleção de casos, a amostra final era constituída por um total de 30 cadelas, 14 seguidas no HVS e 16 seguidas no HFMVUL.

Com recurso ao Microsoft® Office 365 Excel versão 2210, foram registadas todas as informações numa base de dados. Através dos relatórios histopatológicos, foram obtidos dados relativos ao tipo histológico, diâmetro do nódulo, localização, aspeto invasivo ou infiltrativo, presença de necrose, margens cirúrgicas, excisão do GL, metastização no GL, percentagem de formação tubular, grau de pleomorfismo celular, índices mitóticos e grau histológico.

A classificação histológica utilizada pelos laboratórios incluídos neste estudo, estava de acordo com a proposta por Goldshimdt *et al.*, (2011). A dimensão dos nódulos foi agrupada em três categorias: nódulos inferiores 3 cm, nódulos com um tamanho entre 3 e 5 cm e nódulos superiores a 5 cm, como consta no sistema de classificação TNM (Sorenmo *et al*., 2013). As margens cirúrgicas foram consideradas completas, sempre que confirmado no relatório pelo histopatologista ou quando era referido que estavam compreendidas entre 1 e 2 cm. Quando o grau histológico não se apresentava classificado pelo patologista, estavam descritas as características microscópicas quanto à formação de túbulos, ao índice mitótico e ao pleomorfismo. Tal permitiu que se calculasse o grau histológico dos restantes TMC, através do sistema de classificação proposto por Peña *et al*. (2013). Relativamente às características tumorais, metastização e excisão do GL, foram consideradas sempre que referido no relatório pelo patologista. Caso contrário, considerou-se que não havia informação.

Dos casos que se encontravam na listagem dos relatórios histopatológicos, foram excluídos os animais em que não foi possível encontrar a ficha clínica. Após a seleção das fichas clínicas, a pesquisa dos dados foi realizada por etapas. A primeira consistiu na recolha de dados relativos à anamnese. Foram recolhidos dados como idade, raça, escala de condição corporal, gestações, utilização de anovulatórios, estado reprodutivo, se a cadela tinha sido esterilizada e quando, se o nódulo tinha sido o motivo da consulta, se apresentava sinais à admissão inicial, antecedentes de TMC, há quanto tempo apresentava o nódulo e se tinha havido crescimento. De seguida, foram pesquisados dados registados durante o exame físico direcionado ao tumor mamário. Procurou-se saber o número de nódulos, tamanho, consistência, presença de dor, eritema ou calor na região, se o nódulo se encontrava ulcerado, com secreção, fixo à pele ou ao músculo. Foi pesquisado se existia registo sobre palpação do GL e a presença de linfoadenomegalia ou assimetria. Quanto à avaliação inicial, foram recolhidos dados relativos ao hemograma, análises bioquímicas, medição do cálcio sanguíneo, radiografia torácica e qual o número de projeções, ecografia abdominal, tomografia computorizada ou ressonância magnética. Após a consulta inicial foram pesquisados, na ficha clínica, dados relativos ao acompanhamento. Nesta etapa, os dados consistiam na presença de metástases à distância, qual o local, se apresentavam sinais, realização de tratamento quimioterápico e qual o protocolo escolhido.

Por fim, cruzaram-se os dados do relatório histopatológico e da ficha clínica para obter informações sobre o tipo de cirurgia, número de unidades mamárias excisadas, estadiamento TNM, tempo de sobrevida e ocorrência de recidivas.

Análise estatística

Para a caracterização da amostra realizou-se uma análise estatística descritiva com auxílio do programa IBM SPSS Statistics®. Este programa foi também utilizado para a realização da estatística inferencial e análise de sobrevida.

Utilizámos a estatística descritiva na organização, resumo e representação de dados da amostra, construindo tabelas de frequência, gráficos e calculando a tendência central (média, mediana e moda). Usámos a estatística inferencial para verificar se os dados da nossa amostra correspondiam à população. Na comparação de amostras independentes, utilizámos os testes não paramétrico Chi-quadrado de Pearson e o teste de Kruskal-Wallis. Considerámos significativo quando <0,05.

Um dos objetivos deste estudo foi fazer uma análise de sobrevida, isto é, o tempo que decorreu até determinado evento, como seja a morte ou o aparecimento de metástases. Foram consideradas diversas variáveis, como o tamanho do tumor, o grau histológico, o tipo de cirurgia ou a quimioterapia. Aqui utilizámos os conceitos de análise de sobrevida expressos por Botelho *et al* (2009) e Clark, *et al* (2003). Na análise de sobrevida, a variável dependente é sempre o tempo que decorreu até ao aparecimento de determinado evento, o que permite, na comparação entre grupos, que se considerem todos os indivíduos que entraram no estudo, mesmo que não desenvolvam o evento em causa, seja porque abandonaram o estudo, tenham sido perdidos no seguimento ou porque o estudo terminou. Quando uma destas situações ocorre, designam-se estes indivíduos por censurados. Assim, censurado significa que o individuo não desenvolveu o evento até ao fim da observação do estudo, independentemente da causa. A vantagem da análise de sobrevida sobre a análise estatística dita clássica, é permitir utilizar a informação de todos os participantes no estudo até ao momento de desenvolverem o evento em causa ou serem censurados (Stel *et al*., 2011). Utilizámos o método de Kaplan-Meier, para fazer a análise de sobrevida e avaliámos a influência de diversos parâmetros clínicos, histopatológicos e de intervenção terapêutica, no tempo de vida e no aparecimento de metástases. Consideraram-se diferenças significativas quando o valor de $p < 0,05$.

2. Resultados

2.1. Caracterização da amostra

A amostra é composta por 30 cadelas, todas com TMC malignos. Todos os casos realizaram cirurgia para excisão do tumor e posterior análise histopatológica. Destes 30 casos, 14 foram acompanhados no HVS e 16 no Hospital Escolar da FMVUL (HFMVUL). Os casos do HVS todos tinham tutores particulares. No HFMVUL, 62,5% casos (n=10/16), tinham um tutor particular e 37,5% (n=6/16) estavam sob a responsabilidade de uma associação de proteção animal.

2.1.1. Clínica

Raça

No Gráfico 3 apresenta-se a distribuição das diferentes raças no grupo total estudado e nos dois centros envolvidos.

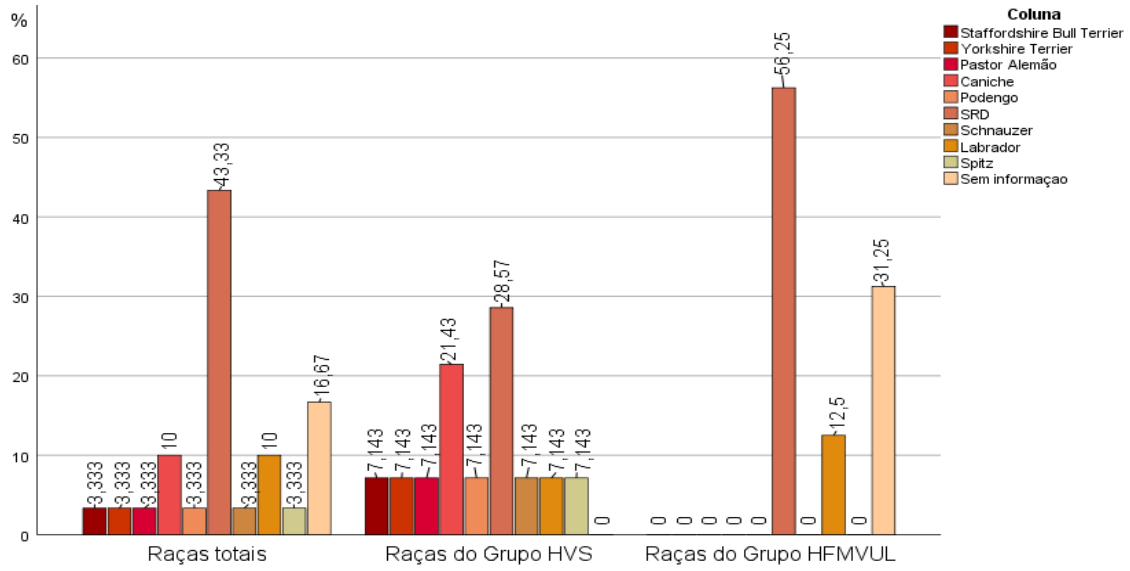


Gráfico 3 – Distribuição das diferentes raças no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Registou-se uma maior incidência de TMC em cadelas sem raça definida: 43,3% (n=13/30) na amostra total, 28,6% (n=4/14) no grupo HVS e 56,3% (n=9/16) no grupo HFMVUL. No grupo total, as raças puras com maior incidência foram a Caniche e a Labrador, 10% (n=3/30) cada uma delas. No grupo HVS todos os casos apresentavam classificação, enquanto no grupo HFMVUL cerca de um terço dos casos não apresentavam informação.

Idade

O intervalo de idades de toda a amostra estava compreendido entre os 6 e os 15 anos. A moda de idades, nos 30 casos, foi 10 anos. Como mostram o Gráfico 4 e a Tabela 8, a média de idades da amostra total foi 10 anos, tanto no grupo HVS como no HFMVUL.

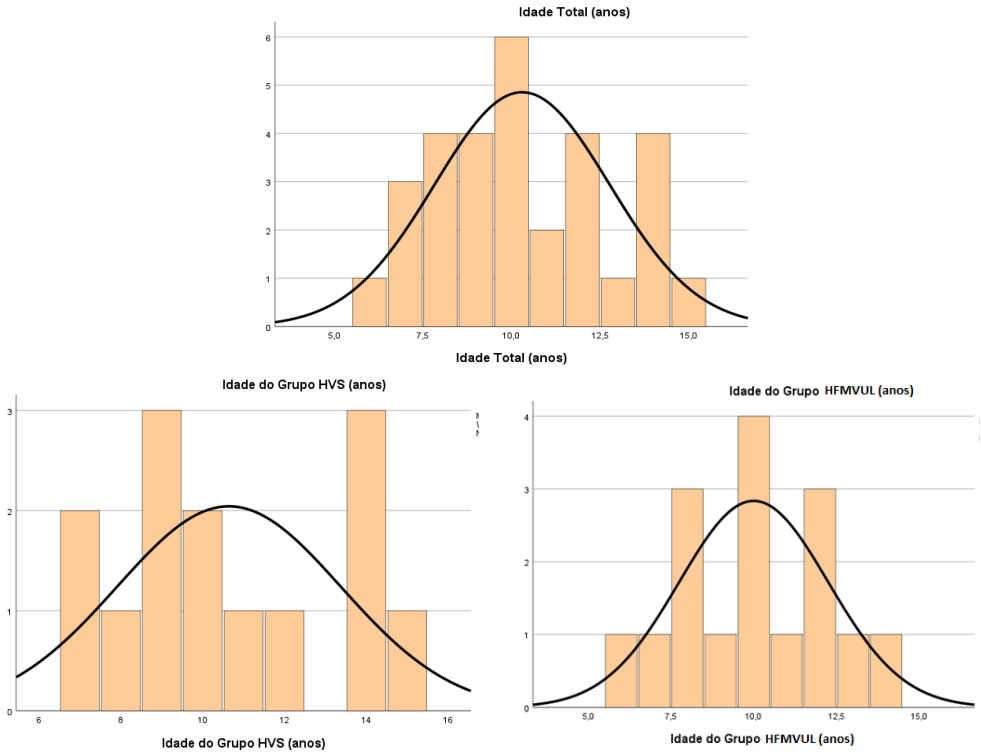


Gráfico 4 – Distribuição das idades. **A** – grupo total; **B** – grupo HVS; **C** – grupo HFMVUL.

Tabela 8 – Idade dos animais no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Idade	**Grupo Total**		**Grupo HVS**		**Grupo HFMVUL**	
	Anos	Meses	Anos	Meses	Anos	Meses
Média	10,30	124,37	10,64	129,36	10,00	120,00
Mediana	10,00	120,00	10,00	120,00	10,00	120,00
Mínimo	6	72	7	84	6	72
Máximo	15	180	15	180	14	168

Condição Corporal

A condição corporal foi classificada de 0 a 5. Este dado não foi registado em 60% (n=18/30) dos casos. Quanto aos casos do grupo HVS, a pontuação mais observada foi de 3, com 21,4% (n=3/14). Os outros dois casos com registo (14,3%) apresentavam uma pontuação de 4. No grupo HFMVUL, 25,0% dos casos (n=4/16) apresentavam uma classificação de 4. Os três casos restantes apresentavam classificações respetivamente de 2, 3 e 5.

Gestações

Mais de 93% dos casos (n=28/30) não apresentavam, na história clínica, informação quanto a gestações prévias. Um dos casos do grupo HFMVUL esteve gestante. No grupo HVS não há registo de nenhum animal que tenha estado gestante.

Utilização de anovulatórios

Dos sete casos em que este dado foi registado, todos eles animais do grupo HVS, em nenhum foram utilizados fármacos anovulatórios.

Estado reprodutivo

Da amostra total, apenas 20% (n=6/30) das cadelas se encontravam esterilizadas no momento do diagnóstico. Não há registo de que alguma tenha sido esterilizada antes do primeiro ciclo reprodutivo (Gráfico 5).

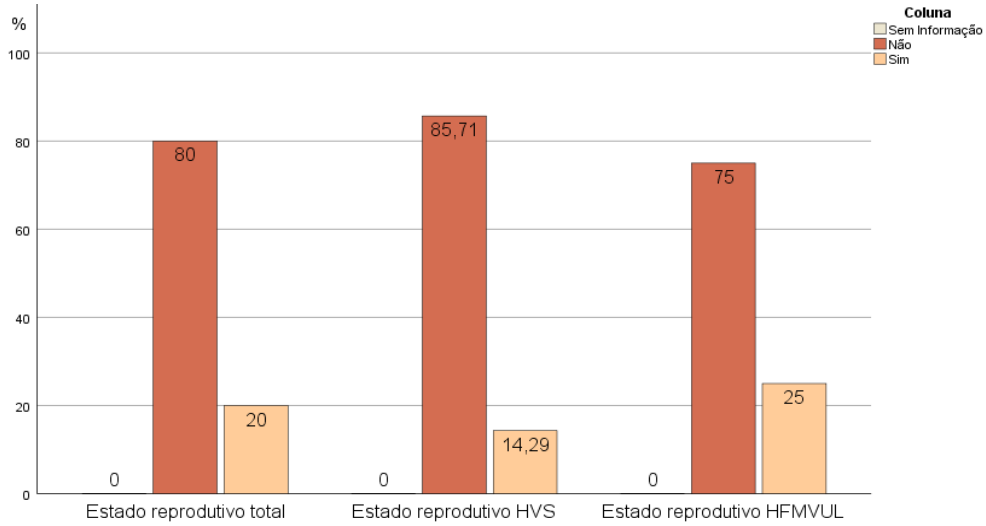


Gráfico 5 – Número de cadelas esterilizadas no momento do diagnóstico, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Motivo da consulta

O nódulo foi o principal motivo de consulta em 76,7% (n=23/30) dos casos na amostra total. No HVS, foram 57,1% (n=8/14) e no HFMVUL, 93,8% (n=15/16).

Sinais na admissão

Na consulta inicial, 60% (n=18/30) dos animais apresentava sinais. No grupo HVS 78,6% (n=11/14) dos casos apresentava sinais na admissão e os restantes 21,4% (n=3/14) não. No grupo HFMVUL metade dos casos com informação apresentava sinais (n=7/14) e a outra metade não (n=7/14), mas em dois casos não havia informação. A apresentação dos sinais foi dividida em grupos, consoante o sistema que estavam a afetar. Foram observados sinais nos sistemas reprodutivo e glândula mamária, urinário, linfático, gastrointestinal, cardiorrespiratório e locomotor. A distribuição dos sinais, presentes na admissão, estão representados no Gráfico 6. Note-se que, um só caso, podia apresentar mais que um sinal e afetar mais que um sistema.

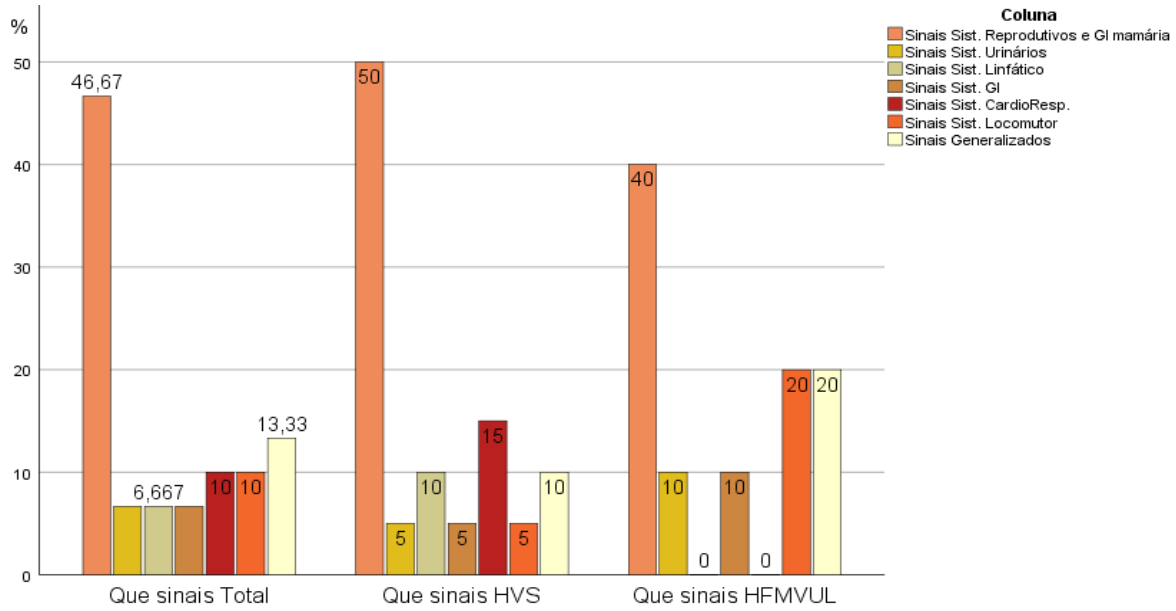


Gráfico 6 – Distribuição dos sinais presentes na admissão, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Podemos observar que, a maioria dos sinais, 46,7% (n=14/30), afetavam o sistema reprodutor e a glândula mamária. Os sinais multissistémicos representavam 13,3% (n=4/30), seguidos de sinais que afetavam o sistema cardiovascular e o sistema locomotor, ambos com uma percentagem de 10% (n=3/30).

Antecedentes de TMC

A maioria dos casos não apresentava historial de TMC. Apenas 20% (n=6/30) da amostra total já tinha tido neoplasias mamárias anteriormente. Destes, dois casos eram do grupo HVS e os outros quatro eram do grupo HFMVUL.

Número de nódulos

Na população total, 60% (n=18/30) apresentava múltiplos nódulos. Dos animais provenientes do grupo HVS, metade apresentava um único nódulo e a outra metade apresentava mais que um. **N**os animais do grupo HFMVUL, 68,8% (n=11/16) apresentava múltiplos nódulos, 25% (n=4/16) só apresentava um e num caso não estava descrito o número de nódulos.

Tamanho do nódulo

No historial clínico, a informação referente ao tamanho do nódulo, na maioria das vezes, não estava presente. Quando existia informação, esta não era expressa em centímetros, mas sim em termos figurativos. Por isso, a informação sobre esta variável foi obtida, maioritariamente, através do relatório histopatológico.

Os dados relativos ao tamanho foram reunidos em três categorias. Nódulos inferiores a 3 cm, nódulos entre os 3 e os 5 cm e nódulos superiores a 5 cm (Gráfico 7).

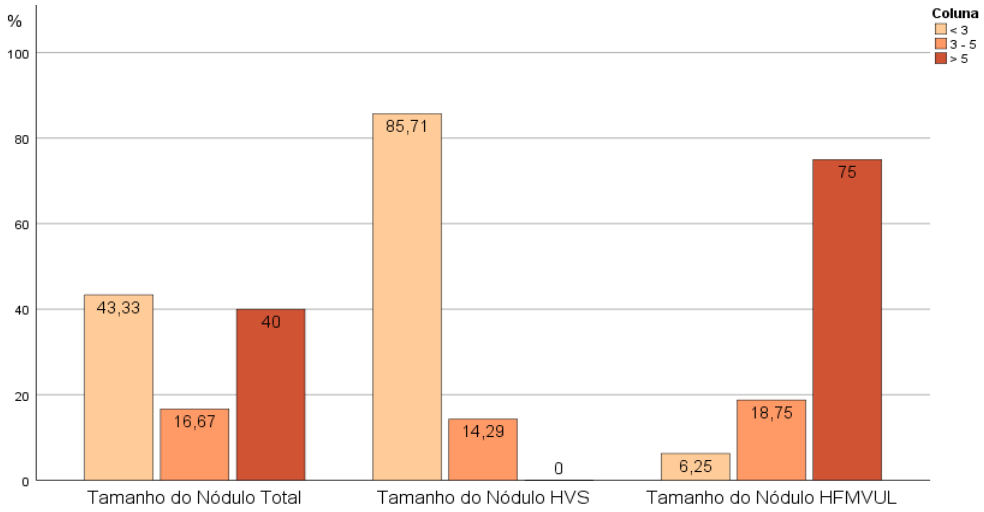


Gráfico 7 – Distribuição do tamanho dos nódulos, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

No grupo total, observou-se que 46,7% (n=14/30) apresentava diâmetros inferiores a 3 cm. O segundo diâmetro mais representado foi o superior a 5 cm, com 40,0% (n=12/30). Por fim, estavam os nódulos entre os 3 e os 5 cm, com uma percentagem de 13,3% (n=4/30). No grupo HVS, 92,9% (n=13/14) dos casos apresentava nódulos de diâmetro inferior 3 cm e não existiam casos com nódulos superiores a 5cm. No grupo HFMVUL, a distribuição foi de 75,0% (n=12/16) para nódulos superiores a 5 cm, 18,8% (n=3/16) para nódulos entre 3 e 5 cm e num caso, 6,3% (n=1/16), o nódulo era inferior a 3 cm.

Consistência do nódulo

A maioria dos nódulos, 66,7% (n=20/30), não foram classificados quanto à sua consistência. Dos que foram (n=10/30), 70,0% (n=7/10) apresentava uma consistência firme, sendo dois casos do grupo HVS e cinco do grupo HFMVUL. Dois casos, um de cada CAMVs, era de consistência média e um caso do grupo HVS era de consistência mole.

Outras características do nódulo

As restantes características dos nódulos podem ser observadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Características dos nódulos, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Características	Sem Informação (total)		Grupo Total (30)		Grupo HVS (14)		Grupo HFMVUL (16)	
	%	n	%	n	%	n	%	n
Crescimento	76,7%	23 / 30	23,3%	7 / 30	21,4%	3 / 14	25,0%	4 / 16
Dor	86,7%	26 / 30	6,7%	2 / 30	7,1%	1 / 14	6,3%	1 / 16
Eritema	80,0%	24 / 30	16,7%	5 / 30	14,3%	2 / 14	18,8%	3 / 16
Nódulo quente	76,7%	23 / 30	16,7%	5 / 30	7,1%	1 / 14	25,0%	4 / 16
Ulceração	33,3%	10 / 30	20,0%	6 / 30	21,4%	3 / 14	18,8%	3 / 16
Secreção	53,3%	16 / 30	26,7%	8 / 30	28,6%	4 / 14	25,0%	4 / 16
Fixo à pele	86,7%	26 / 30	6,7%	2 / 30	0,0%	0 / 14	12,5%	2 / 16
Fixo ao músculo	86,7%	26 / 30	10,0%	3 / 30	0,0%	0 / 14	18,8%	3 / 16

Gânglio Linfático Regional

Em 80% (n=24/30) dos casos totais não havia informação clínica quanto ao GL (Gráfico 8). Nos seis casos em que o GL foi avaliado, cinco apresentavam linfoadenomegalia ou assimetria, 83,3% (n=5/6). No grupo HVS, o único caso apresentava alterações. No grupo HFMVUL, um caso apresentava GL sem alterações e os outros quatro apresentavam aumento ou assimetria.

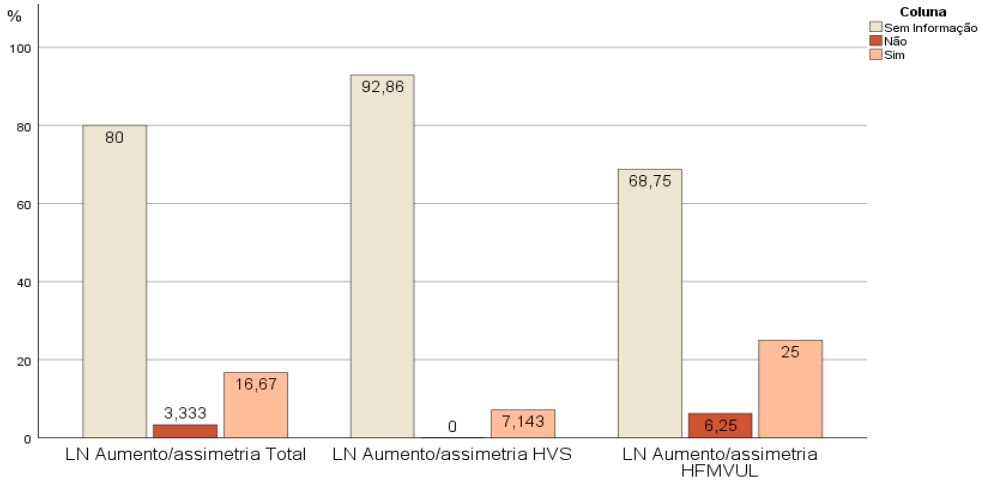


Gráfico 8 – Características do gânglio linfático, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Exames de avaliação pré-cirúrgica e estadiamento

Na avaliação inicial foram efetuados vários exames (Tabela 10).

Tabela 10 – Exames efetuados na avaliação pré cirúrgica e estadiamento inicial, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Exames		Sem Informação (total)		Grupo Total (30)		Grupo HVS (14)		Grupo HFMVUL (16)	
		%	n	%	n	%	n	%	n
Hemograma		10,0%	3 / 30	83,3%	25 / 30	85,7%	12 / 14	81,3%	13 / 16
Bioquímicas		6,7%	2 / 30	86,7%	26 / 30	85,7%	12 / 14	87,5%	14 / 16
Cálcio		26,7%	8 / 30	13,3%	4 / 30	14,3%	2 / 14	12,5%	2 / 16
Radiografia		10,0%	3 / 30	73,3%	22 / 30	57,1%	8 / 14	87,5%	14 / 16
Nº de projeções	**2**	36,0%	9 / 30	23,3%	7 / 30	55,6%	5 / 14	12,5%	2 / 16
	3			36,0%	9 / 30	22,2%	2 / 14	43,8%	7 / 16
Ecografia Abdominal		10,0%	3 / 30	60,0%	18 / 30	28,6%	4 / 14	87,5%	14 / 16
Tomografia Computorizada		3,3%	1 / 30	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16

Localização

A localização dos TMC está representada no Gráfico 9.

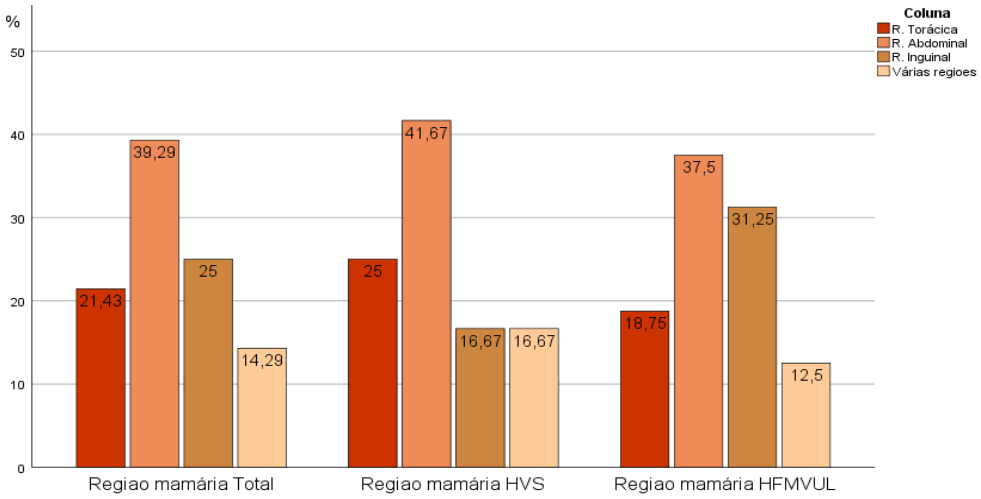


Gráfico 9 – Localização dos TMC nas diferentes cadeias mamárias, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

2.1.2. Histopatologia

Tipo Histológico

Verificou-se que o carcinoma complexo representou 36,7% (n=11/30) da amostra total. Foi o tipo histológico mais frequente no grupo HVS, com 57,1% (n=8/14). No grupo HFMVUL o carcinoma túbulo-papilar foi o TMC com maior expressão, com 25,0% (n=4/16). Este tipo histológico representou 20,0% (n=6/30) da amostra total (Gráfico 10 e Tabela 11).

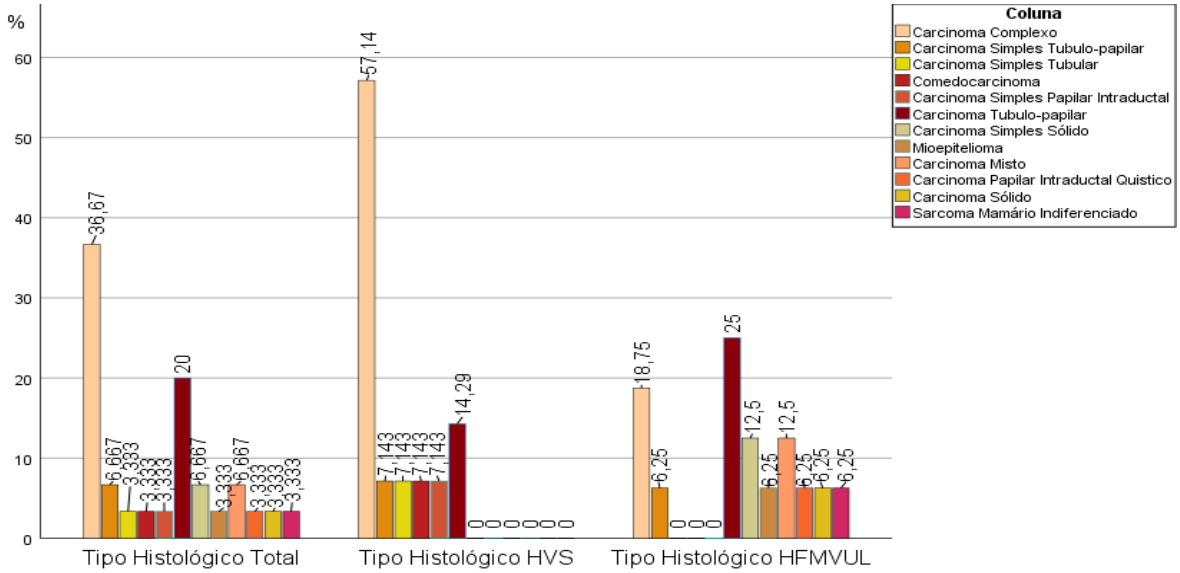


Gráfico 10 – Tipos histológicos dos tumores analisados, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Tabela 11 – Tipos histológicos de TMC, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Tipo Histológico	Grupo Total (30)		Grupo HVS (14)		Grupo HFMVUL (16)	
	%	n	%	n	%	n
Carcinoma Complexo	36,7%	11 / 30	57,1%	8 / 14	18,8%	3 / 16
Carcinoma Simples Tubulo-papilar	6,7%	2 / 30	7,1%	1 / 14	6,3%	1 / 16
Carcinoma Simples Tubular	3,3%	1 / 30	7,1%	1 / 14	0,0%	0 / 16
Comedocarcinoma	3,3%	1 / 30	7,1%	1 / 14	0,0%	0 / 16
Carcinoma Simples Papilar Intraductal	3,3%	1 / 30	7,1%	1 / 14	0,0%	0 / 16
Carcinoma Tubulo-papilar	20,0%	6 / 30	14,3%	2 / 14	25,0%	4 / 16
Carcinoma Simples Sólido	6,7%	2 / 30	0,0%	0 / 14	12,5%	2 / 16
Mioepitelioma	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
Carcinoma Misto	6,7%	2 / 30	0,0%	0 / 14	12,5%	2 / 16
Carcinoma Papilar Intraductal Quístico	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
Carcinoma Sólido	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
Sarcoma Mamário Indiferenciado	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16

Características de malignidade

As características de malignidade reportadas no relatório histopatológico apresentam-se descritas na Tabela 12.

Tabela 12 – Características de malignidade, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Características de malignidade		Grupo Total (30)		Grupo HVS (14)		Grupo HFMVUL (16)	
		%	n	%	n	%	Freq
Capacidade invasiva		43,3%	13 / 30	14,3%	2 / 14	68,8%	11 / 16
Capacidade infiltrativa		16,7%	5 / 30	7,1%	1 / 14	25,0%	4 / 16
Presença de Infiltrado linfoide	Peri	26,7%	8 / 30	35,7%	5 / 14	18,8%	3 / 16
	Intra	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
Presença de Infiltrado de macrófagos		33,3%	10 / 30	42,9%	8 / 14	25,0%	4 / 16
Necrose		56,7%	17 / 30	50,0%	7 / 14	62,5%	10 / 16
Formação tubular	75%	33,3%	10 / 30	28,6%	4 / 14	37,5%	6 / 16
	10%-75%	50,0%	15 / 30	50,0%	7 / 14	50,0%	8 / 16
	10%	16,7%	5 / 30	21,4%	3 / 14	12,5%	2 / 16
Pleomorfismo	Mínimo	23,3%	7 / 30	35,7%	5 / 14	12,5%	2 / 16
	Moderado	40,0%	12 / 30	42,9%	6 / 14	37,5%	6 / 16
	Abundante	36,7%	11 / 30	21,4%	3 / 14	50,0%	8 / 16
Índices mitóticos	0–9 mitoses	70,0%	21 / 30	78,6%	11 / 14	62,5%	10 / 16
	10–19 mitoses	6,7%	2 / 30	7,1%	1 / 14	6,3%	1 / 16
	20 mitoses	16,7%	5 / 30	0,0%	0 / 14	31,3%	5 / 16

Grau Histológico

Quando analisado o grau histológico dos TMC, verificou-se que metade (n=15/30) dos casos eram do grau I (Gráfico 11). Destes, 8 pertenciam ao grupo HVS e 7 ao grupo HFMVUL. Os tumores de grau II representavam 26,7% (n=8/30), 5 em animais do HVS e 3 no HFMVUL. O grau menos representado foi o grau III, apenas 20,0% (n=6/30), todos eles pertencendo ao grupo HFMVUL. Não foi possivel classificar o grau num caso proveniente do HVS.

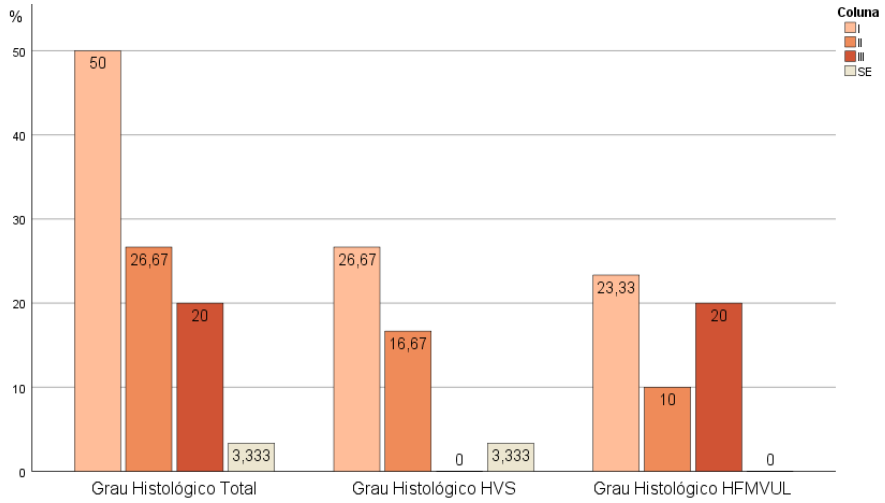


Gráfico 9 – Grau histológico dos TMC, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Margens Cirúrgicas

No que respeita às margens cirúrgicas, observou-se que 63,3% (n=19/30) dos casos apresentava margens completas e 36,7% (n=11/30) incompletas (Gráfico 12). No grupo HVS, todos os TMC foram completamente excisados. Já no grupo HFMVUL, apenas 5 casos mostraram ter margens completas e nos restantes 11 casos o tumor não foi excisado com margens completas.

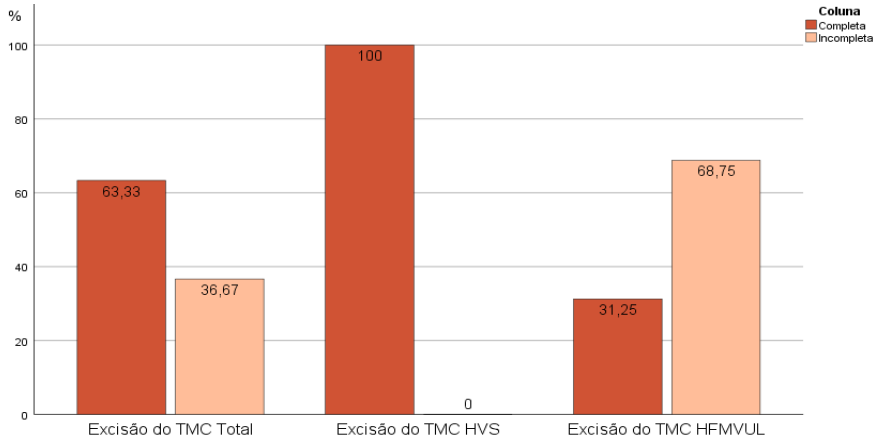


Gráfico 10 – Resultado da cirurgia de excisão do tumor, relativamente às margens cirúrgicas (completas ou incompletas), no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Excisão do Gânglio Linfático Regional

No Gráfico 13, podemos constatar que em 36,7% (n=11/30) dos casos o GL não foi excisado. No grupo HVS, o GLfoi excisado em 35,7% (n=5/14) dos casos, enquanto no grupo HFMVUL foi excisado em 87,5% (n=14/16) dos casos.

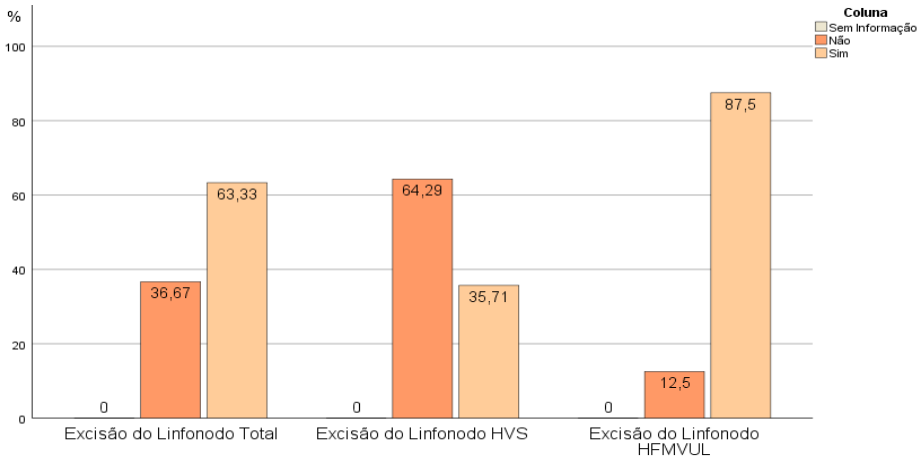


Gráfico 11 – Excisão do gânglio linfático, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Recidivas

Não houve evidência de ter ocorrido recidiva. Foi considerado recidiva todos os TMC que tenham voltado a aparecer no mesmo local do tumor primário, após este ter sido excisado.

2.1.3. Estadiamento

Metastização no Gânglio Linfático Regional

Dos GL que foram excisados, 63,3% (n=19/30), apenas foram encontrados sinais de metástases em dois casos, ambos pertencentes ao grupo HFMVUL.

Metastização à distância

Em seis casos não havia informação sobre a ocorrência de metastização. Em dois casos surgiram metástases à distância, todos do grupo HFMVUL. Dos casos que metastizaram, um deles mestastizou no pulmão e osso e o outro no pulmão e fígado. Como sinais clínicos, o primeiro caso apresentava prostração, claudicação e edemaciação do membro. Ao exame radiográfico observou-se destruição óssea. O segundo caso, apresentava ascite e diarreia.

Estadiamento TNM

O estadiamento apoia-se na classificação TNM, que avalia o tamanho do tumor e a presença ou não de metástases, quer no gânglio linfático quer à distância.

Os TMC foram classificados, quanto ao seu estadiamento, segundo o sistema proposto pela OMS (Misdrop *et al*., 1999). Não foi possível classificar os TMC em 36,7% (n=11/30) dos casos. Nos 19 casos classificados, 63,3% (n=19/30), o estádio com maior número de casos foi o estádio III, 42,1% (n=8/19), seguido do estádio I, 26,3% (n=5/19), do estádio II, 15,8% (n=3/19), do estádio V, 10,5% (n=2/19) e do estádio IV, 5,2% (n=1/19).

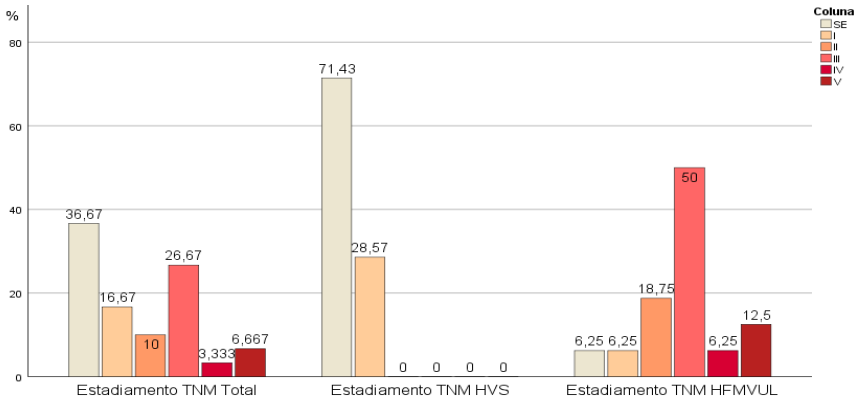


Gráfico 14 – Estadiamento TNM dos tumores avaliados, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos, segundo o sistema proposto pela OMS.

Como é possível observar no Gráfico 14, nos casos do grupo HVS em que foi possível atribuir um estádio, todos eles estavam no estádio I, 28,6% (n=4/14). No grupo HFMVUL mais de metade, 57,9 % (n=11/16) dos casos, foram classificados em estádios iguais ou superiores a III.

2.1.4. Tratamento

Tratamento cirúrgico

Com o cruzamento de informação entre a ficha clínica e o relatório histopatológico, foi possível caracterizar o tipo de cirurgia realizado e a quantidade de unidades mamárias excisada, como se apresenta na Tabela 13 e no Gráfico 15.

Tabela 13 – Tipo de cirurgia realizado no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Tratamento cirúrgico		Grupo Total (30)		Grupo HVS (14)		Grupo UHLT (16)	
		%	n	%	n	%	n
Tipo de cirurgia	Nodulectomia	13,3%	4 / 30	28,6%	4 / 14	0,0%	0 / 16
	Mamectomia	3,3%	1 / 30	7,1%	1 / 14	0,0%	0 / 16
	Mastectomia regional	26,7%	8 / 30	42,9%	6 / 14	12,5%	2 / 16
	Mastectomia radical unilateral	46,7%	14 / 30	21,4%	3 / 14	68,8%	11 / 16
	Mastectomia radical bilateral	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
	Mamectomia + Mastectomia radical unilateral	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16
	Mastectomia regional + Mastectomia radical unilateral	3,3%	1 / 30	0,0%	0 / 14	6,3%	1 / 16

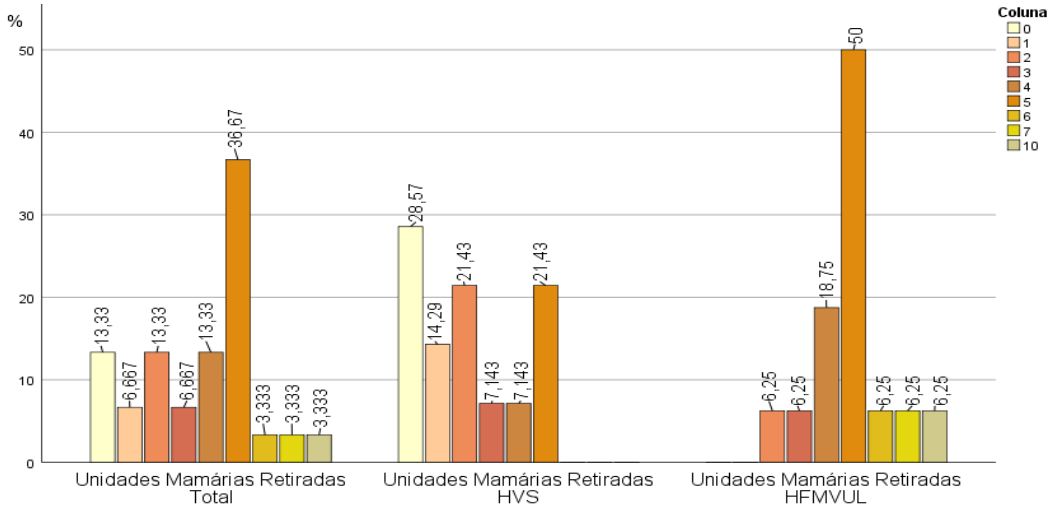


Gráfico 15 – Número de unidades mamárias excisadas em cada caso, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Das 30 intervenções cirúrgicas realizadas, a mastectomia radical unilateral foi a mais utilizada (n=15/30), num caso associada à mamectomia, seguida da mastectomia regional (n=8/30) e da nodulectomia (n=4/30). A mamectomia e a mastectomia radical bilateral foram utilizadas uma vez (Tabela 13). No grupo total, em 36,7% (n=11/30) dos casos, foram excisadas 5 unidades mamárias (Gráfico 15).

Tratamento Quimioterápico

Quando analisado o tipo de terapêutica adjuvante, verificou-se que foi utilizada quimioterapia convencional com doxorrubicina e quimioterapia metronómica com ciclofosfamida associada a firocoxib. O protocolo utilizado para a quimioterapia convencional, foi a administração única endovenosa de doxorrubicina 30mg/m2 em solução isotónica de 0,9% NaCl, a cada três semanas durante doze semanas. O protocolo utilizado para a quimioterapia metronómica, foi a administração de ciclofosfamida 10-20mg/m2 EOD via PO durante 3 ciclos de 3 semanas com 1 mês de descanso. Em combinação com firocoxib 5 mg/Kg/dia, todos os dias.

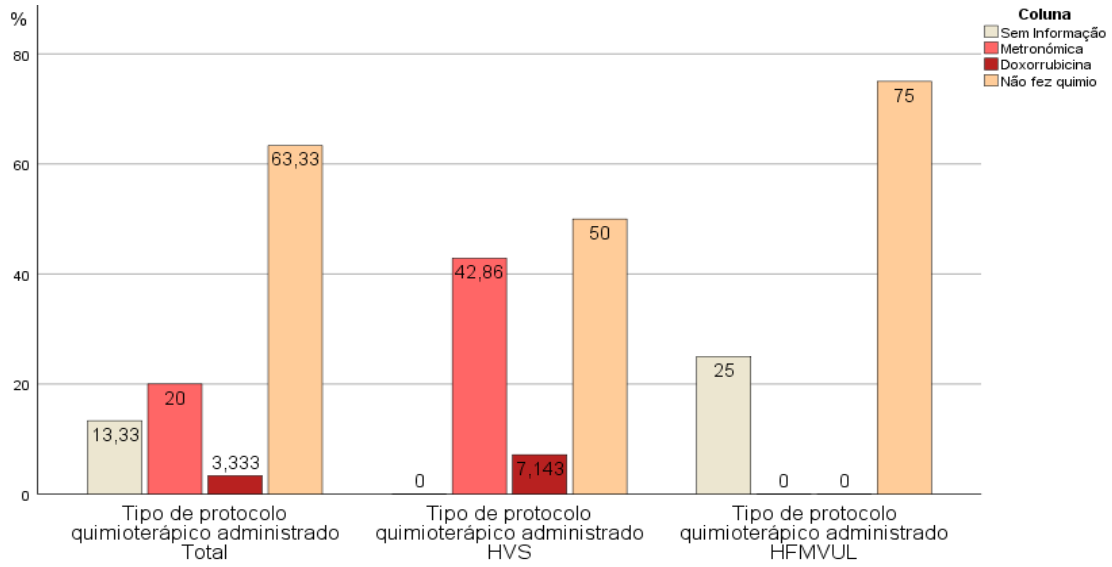


Gráfico 16 – Tipo de protocolo quimioterápico realizado, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Como é possível observar no Gráfico 16, 63,3% (n=19/30) dos casos realizaram excisão cirúrgica do TMC como único tratamento. A quimioterapia foi administrada em apenas 23,3% (n=7/30) dos casos, todos pertencentes ao grupo HVS. Estes casos correspondem a metade da população do grupo HVS (n=7/14). Quanto ao tipo de protocolo utilizado, foi administrada quimioterapia convencional em apenas um caso. Nos restantes seis, foi administrada quimioterapia metronómica.

2.1.5. Comparação entre os dois CAMVs

Dado que os casos que integram este estudo provinham de dois CAMVs com caraterísticas diferentes, um dos objetivos foi comparar as duas populações nas diversas vertentes estudadas, pelo que se utilizou o teste de Pearson. Assim, dos 30 casos incluídos na nossa base de dados, 14 pertenciam ao HVS, uma instituição pertencente a uma cadeia internacional, e 16 ao HFMVUL, um hospital universitário. Quanto ao ambiente social dos animais, verificámos que todos os animais do HVS tinham tutores privados, enquanto dos 16 animais do HFMVUL, 10 tinham tutores privados e 6 eram provenientes de associações de proteção animal.

Na comparação das características clínicas (Gráficos 3, 4, 5 e 7), verificamos que, relativamente à raça, os animais SRD constituíam 28,6% dos animais avaliados no HVS e 56,3% no HFMVUL (p=0,008). Quanto à média de idades, 10,6 anos no HVS e 10,0 anos no HFMVUL, não se verificou diferença. Também quanto aos antecedentes de OVH ou de TMC anteriores, não se verificaram diferenças. A presença de um nódulo mamário, foi o motivo principal na consulta de admissão em 57,1% no HVS e em 93,8% no HFMVUL (p=0,018). Quanto ao número de nódulos, não se verificou diferença. Em relação ao tamanho do tumor, este era diferente nos dois grupos. No HVS, 92,9% dos casos eram inferiores a 3 cm e no HFMVUL, apenas 6% (p<0,001). No HVS, nenhum caso apresentava nódulos com tamanho igual ou superior a 5 cm, enquanto no HFMVUL, estes representavam 75% dos casos (p<0,001).

Quanto aos dados histopatológicos (Gráfico 10 e 11; Tabela 11e 12), o tipo histológico predominante no HVS foi o carcinoma complexo (p=0,029), enquanto no HFMVUL não se encontrou predominância significativa de qualquer tipo histológico. Em relação ao grau de malignidade, 37,5% dos casos do HFMVUL eram de grau III, não se verificando nenhum caso deste grau no HVS (p=0,013). No estadiamento TNM, nos 19 casos em que foi possível avaliar, também houve diferenças nos dois grupos. Todos os casos do HVS eram de estádio I (p<0,001), enquanto 68,8% dos casos do HFMVUL eram de estádio III ou superior (p=0,003).

Em relação aos exames complementares pré-cirúrgicos e de estadiamento (Tabela 10), as análises hematológicas e bioquímicas foram feitas em quase todas os casos em ambos os grupos. Já a radiografia torácica, foi realizada em 57,1% dos casos no HVS e em 87,5% dos casos no HFMVUL (p=0,010). A ecografia abdominal foi realizada em 28,6% nos casos do HVS e em 87,5% nos do HFMVUL (p=0,001).

Quanto aos aspetos cirúrgicos, no HVS a técnica mais utilizada foi a mastectomia regional (42,9%), enquanto no HFMVUL foi a mastectomia radical unilateral (68,8%). As margens eram completas em 100% dos casos no HVS e em 31,25% no HFMVUL (p<0,001). O gânglio linfático foi excisado em 35,7% dos casos no HVS e em 87,5% no HFMVUL (p=0,003). As metástases, quer no gânglio quer à distância, ocorreram em dois casos cada no HFMVUL. A quimioterapia foi usada em 50% dos animais do HVS e em nenhum animal no HFMVUL.

2.1.6. Tempo de Sobrevida e tempo de permanência no estudo

Neste estudo, foi analisada a percentagem de animais que estavam vivos ao fim de 6, 12 e 24 meses. Foi considerado tempo de sobrevida, o período que decorreu entre o momento do diagnóstico histopatológico e o caso ser censurado ou a data da morte do animal. O tempo de sobrevida corresponde, assim, ao tempo de permanência no estudo. Alguns animais que foram censurados, tê-lo-ão sido por morte ou abandono do estudo, mas não foi possível colher esta informação durante o tempo em que o estudo decorreu. Assim, sempre que nos referimos ao tempo de sobrevida, estamos a reportar-nos ao tempo de permanência no estudo.

Como podemos observar na Tabela 14 e Gráfico 17, a média de sobrevida de toda a população foi de 8,92 meses. A média de sobrevida do grupo HVS foi de 12,39 meses e variou entre 0,30 e 37,93 meses. O grupo HFMVUL apresentou uma média de sobrevida de 5,88 meses, variando entre os 0,30 e os 47,76 meses.

Foi também possível observar que, ao fim de 6 meses após o diagnóstico, cerca de 36,7% (n=11/30) das cadelas estavam vivas, ao fim de 12 meses, 26,7% (n=8/30) e ao fim de 24 meses, apenas estavam vivos 16,7% (n=5/30) dos casos.

Tabela 14 – Tempo de sobrevida, no grupo total e nos dois CAMVs envolvidos.

Tempo	**Grupo Total (30)**		**Grupo HVS (14)**		**Grupo HFMVUL (16)**	
	Meses		Meses		Meses	
Média	8,92		12,39		5,88	
Mediana	3,25		8,62		2,58	
Mínimo	0,30		0,30		0,30	
Máximo	47,76		37,93		47,76	
Sobrevida	%	n	%	n	%	n
a 6 meses	36,7%	11 / 30	57,1%	8 / 14	18,8%	3 / 16
a 12 meses	26,7%	8 / 30	42,9%	6 / 14	12,5%	2 / 16
a 24 meses	16,7%	5 / 30	28,6%	4 /14	6,3%	1 / 16

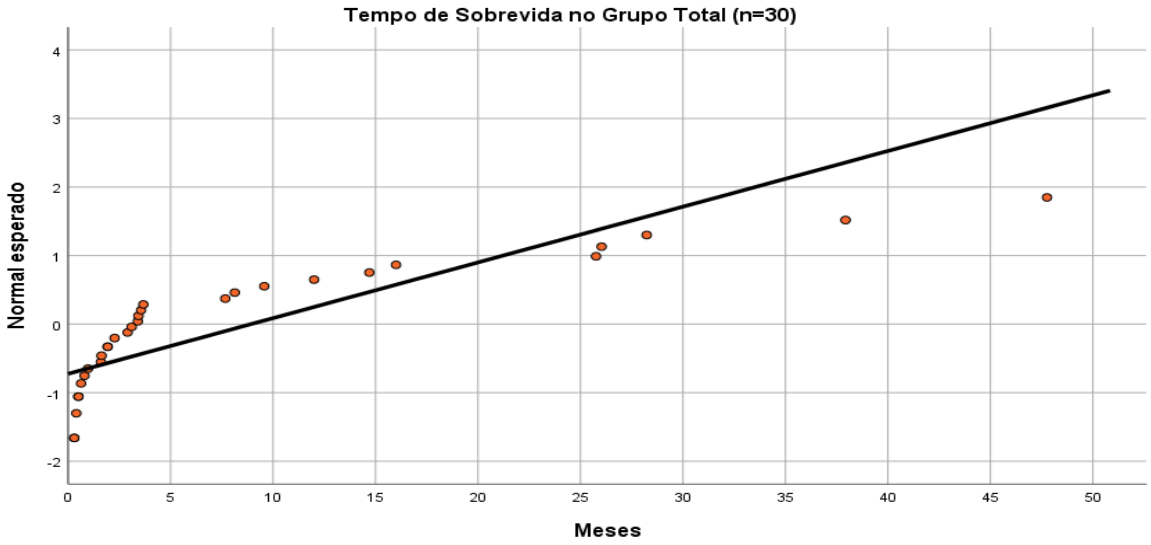


Gráfico 1712 – Gráfico de distribuição, mostrando o tempo de sobrevida, em meses, no grupo total

2.2. Tempo de Sobrevida, Fatores de Prognóstico e Quimioterapia

Foi utilizado o Teste Kruskal Wallis, um teste não paramétrico, para a análise de existência ou não de associação entre as variáveis.

As variáveis estudadas, foram o tempo de sobrevida e os fatores de prognósticos da nossa base de dados: a idade, o tamanho do nódulo, o grau histológico, o tipo histológico, o estádio TNM, as margens cirúrgicas, a fixação do nódulo aos tecidos adjacentes, a presença de ulceração, a metastização no GL e a metastização à distância. Existem outros fatores de prognóstico conhecidos, no entanto apenas foi possível analisar estes.

Foi realizado o teste de Kruskal Wallis, na população total, para o tempo de sobrevida e os fatores de prognóstico, como apresentado na Tabela 15.

Como é possível observar, a única variável que apresentou um valor $p < 0,05$, foi o tamanho do nódulo (p=0,037). Ou seja, existe diferença significativa de sobrevida entre os vários grupos de tamanho do nódulo.

Foi também realizado o teste de Kruskal Wallis para a população dos grupos HVS e HFMVUL, para cada fator de prognóstico (Tabela 16). Não foi observada qualquer diferença significativa para as diversas variáveis consideradas.

Tabela 15 – Relação entre o tempo de sobrevida e os fatores de prognóstico, no grupo total.

Teste de Kruskal Wallis				
Variáveis		**Sobrevida (meses)**		
		Nº casos	**média**	**Valor *p***
Idade	≤120	18	17,58	,112
	>120	12	12,38	
Tamanho do nódulo	< 3 cm	14	17,21	,037
	3-5 cm	4	23,00	
	> 5 cm	12	11,00	
Grau Histológico	I	15	17,60	,231
	II	8	11,88	
	III	6	12,67	
Tipo Histológico	Carcinoma Complexo	11	19,77	,224
	Carcinoma Simples Tubulo-papilar	2	6,50	
	Carcinoma Simples Tubular	1	6,00	
	Comedocarcinoma	1	8,00	
	Carcinoma Simples Papilar Intraductal	1	1,50	
	Carcinoma Tubulo-papilar	6	19,75	
	Carcinoma Simples Sólido	2	14,00	
	Mioepitelioma	1	7,00	
	Carcinoma Misto	2	14,50	
	Carcinoma Papilar Intraductal Quistico	1	18,00	
	Carcinoma Sólido	1	17,00	
	Sarcoma Mamário Indiferenciado	1	1,50	
Estádio TNM	I	5	11,00	,116
	II	3	15,33	
	III	8	6,88	
	IV	1	5,00	
	V	2	14,50	
Margens Cirúrgicas	Completas	19	16,29	,518
	Incompletas	11	14,14	
Fixação à pele	Não	2	2,00	,439
	Sim	2	3,00	
Fixação ao musculo	Não	1	3,00	,655
	Sim	3	2,33	
Ulceração	Não	14	9,86	,458
	Sim	6	12,00	
Metastização no linfonodo	Não	18	10,56	,900
	Sim	2	10,00	
Metastização à distância	Não	22	12,05	,296
	Sim	2	17,50	

Tabela 16 - Relação entre o tempo de sobrevida e os fatores de prognóstico, nos grupos HVS e HFMVUL.

Teste Kruskal Wallis							
Variáveis		**Sobrevida (meses)**			**Sobrevida (meses)**		
		HVS			**HFMVUL**		
		Nº casos	**média**	**Valor *p***	**Nº casos**	**média**	**Valor *p***
Idade	≤120	8 / 14	8,38	,366	10/16	9,85	,143
	>120	6 / 14	6,33		6/16	6,25	
Tamanho do nódulo	< 3 cm	13 / 14	7,31	,535	1/16	13,00	,070
	3-5 cm	1 / 14	10,00		3/16	13,33	
	> 5 cm	0 / 14	-		12/16	6,92	
Grau Histológico	I	8 / 14	8,63	,057	7/16	9,00	,915
	II	5 / 14	4,40		3/16	7,67	
	III	0 / 14	-		6/16	8,33	
Tipo Histológico	Carcinoma Complexo	8 / 14	9,88	,126	3/16	6,33	,559
	Carcinoma Simples Tubulo-papilar	1 / 14	2,00		1/16	6,00	
	Carcinoma Simples Tubular	1 / 14	3,00		0/16	-	
	Comedocarcinoma	1 / 14	4,00		0/16	-	
	Carcinoma Simples Papilar Intraductal	1 / 14	1,00		0/16	-	
	Carcinoma Tubulo-papilar	2 / 14	8,00		4/16	11,50	
	Carcinoma Simples Sólido	0 / 14	-		2/16	9,00	
	Mioepitelioma	0 / 14	-		1/16	4,00	
	Carcinoma Misto	0 / 14	-		2/16	9,50	
	Carcinoma Papilar Intraductal Quistico	0 / 14	-		1/16	12,00	
	Carcinoma Sólido	0 / 14	-		1/16	11,00	
	Sarcoma Mamário Indiferenciado	0 / 14	-		1/16	1,00	
Estadio TNM	I	4 / 14	2,50	-	1/16	12,00	,086
	II	0 / 14	-		3/16	12,33	
	III	0 / 14	-		8/16	5,50	
	IV	0 / 14	-		1/16	4,00	
	V	0 / 14	-		2/16	11,50	
Margens Cirúrgicas	Completas	14 / 14	7,50	-	5/16	7,90	,734
	Incompletas	0 / 14	-		11/16	8,77	
Fixação à pele	Não	-	-	Sem avaliação	2/16	2,00	,439
	Sim	-	-		2/16	3,00	
Fixação ao musculo	Não	-	-	Sem avaliação	1/16	3,00	,655
	Sim	-	-		3/16	2,33	
Ulceração	Não	7 / 14	5,57	,909	7/16	4,71	,210
	Sim	3 / 14	5,33		3/16	7,33	
Metastização no linfonodo	Não	6 / 14	3,50	-	12/16	7,42	,855
	Sim	0 / 14	-		2/16	8,00	
Metastização à distância	Não	8 / 14	4,50	-	14/16	7,93	,204
	Sim	0 / 14	-		2/16	12,50	

Foi testada a hipótese de a sobrevida ser ou não diferente entre os grupos que tinham realizado ou não quimioterapia (Tabela 17).

Tabela 17– Relação entre o tempo de sobrevida e a quimioterapia, no grupo total

Teste de Kruskal Wallis				
Variáveis		**Sobrevida (meses)**		
		Nº casos	**média**	**Valor *p***
Quimioterapia	Não	19	11,26	,014
	Sim	7	19,57	

Como se pode observar, existe uma diferença significativa de sobrevida entre os grupos que fizeram ou não quimioterapia (p=0,014).

Dado que apenas os animais provenientes do grupo HVS tinham realizado quimioterapia, foram feitos testes de estatística inferencial para estudar esta população.

Como é possível observar na Tabela 18, o valor de p obtido foi inferior a 0,05 (p=0,018). Assim, existe associação entre o tempo de sobrevida e a variável fazer quimioterapia.

Tabela 18 – Relação entre o tempo de sobrevida e a quimioterapia, no grupo HVS.

Teste de Kruskal Wallis				
Variáveis		**Sobrevida (meses)**		
		Nº casos	**média**	**Valor *p***
Quimioterapia	Não	7	4,8	,018
	Sim	7	10,14	

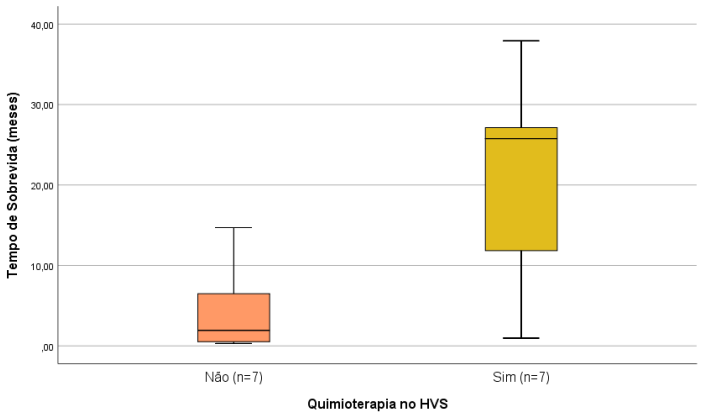


Gráfico 18 – Tempo de sobrevida, em meses, nos grupos sem ou com quimioterapia.

No gráfico 18, verifica-se que, no grupo NQ, a permanência no estudo foi, em média, de 4,42 meses, variando entre 0,30 e 14,70. No grupo Q, a permanência foi, em média, de 20,37 meses, variando entre 0,97 e 37,93.

No Gráfico 19, compara-se a dispersão dos casos, quanto ao tempo de sobrevida, nos grupos que não fizeram (NQ) ou fizeram (Q) quimioterapia. Verifica-se que, no grupo NQ, aos 15 meses estavam todos censurados, não havendo informação quanto à sobrevida. No grupo Q, verificaram-se dua mortes, respetivamente aos 25,76 e 28,23 meses. Os restantes casos, aos 40 meses, estavam todos censurados.

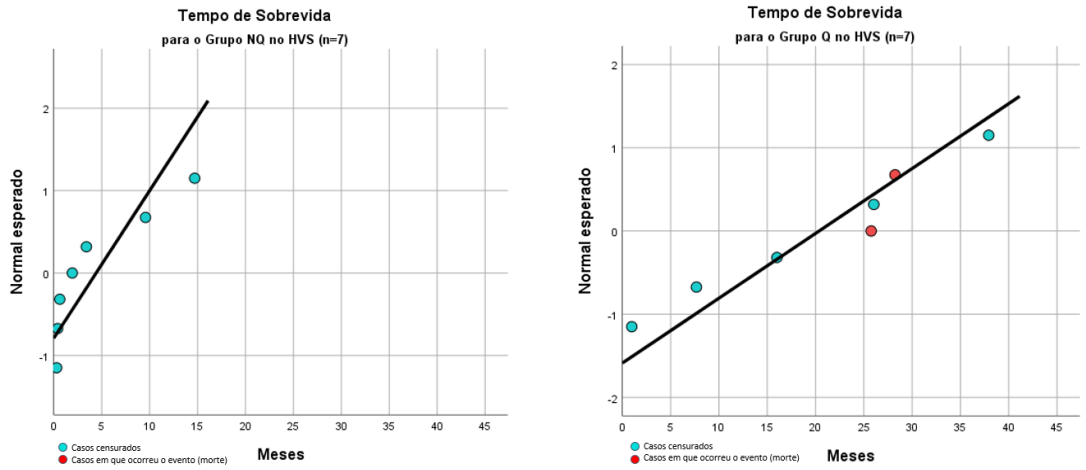


Gráfico 19 – Gráfico de dispersão do tempo de sobrevida, em meses, nos grupos sem (NQ) ou com (Q) quimioterapia.

2.3. Análise de sobrevida. Curva de Kaplan-Meier

Com a realização da curva de sobrevida de Kaplan-Meier, é possível conhecer a evolução de um paciente, desde o diagnóstico até à ocorrência de dado evento. O prognóstico é avaliado estimando-se o tempo médio de sobrevida e a probabilidade cumulativa de sobrevida, após um determinado intervalo de tempo. Neste estudo assumem-se os 6, 12 e 24 meses.

O tempo de sobrevida é estimado desde o momento da cirurgia, até o caso ser censurado ou até à altura do evento. O tempo censurado é a quantidade de tempo que os animais contribuíram para o estudo. Isto é, são considerados censurados, os animais em que, não tendo ocorrido o evento, permaneceram no estudo até ao final ou animais que se perderam no acompanhamento.

Para este estudo, o tempo avaliado foi definido como a quantidade de meses que os animais nele permaneceram. O evento foi definido como a morte do animal ou o aparecimento de metástases.

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para os dois CAMVs

Foi estudada a sobrevida dos dois grupos HVS e HFMVUL, em que a variável considerada foi apenas a origem do caso (Gráfico 20). Dos 14 casos do grupo HVS, foram censurados 85,7% (n=12/14). Dos 16 casos do grupo HFMVUL, foram censurados 75,0% (n=12/16).

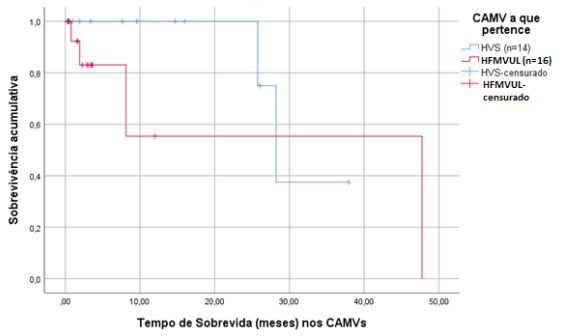


Gráfico 20 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, nos grupos HVS e HFMVUL (*p*=0,281).

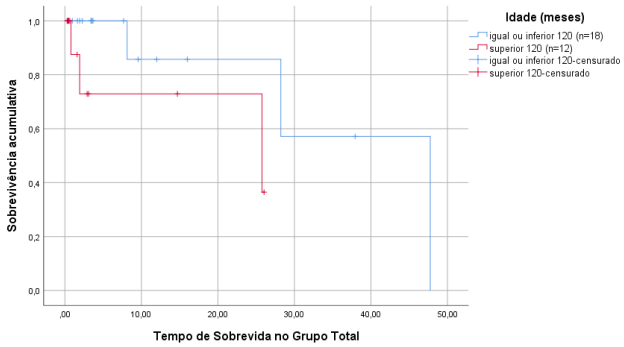


Gráfico 21 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, do grupo com idades superiores a 120 meses, com o grupo com idades iguais ou inferiores (*p*=0,076).

Ao fim de 6 meses, existiam em estudo 8 dos 14 casos pertencentes ao grupo HVS, seis tinham sido censurados. Dos 16 casos do grupo HFMVUL, apenas restavam três. No grupo HVS, nenhum animal morreu, no grupo HFMVUL, três morreram e os restantes foram censurados. Aos 12 meses, existiam em estudo 6 dos 14 casos pertencentes ao grupo HVS, oito tinham sido censurados. Dos 16 casos do grupo HFMVUL, restavam dois. Entre os 6 e os 12 meses, no grupo HVS, nenhum animal morreu. Quatro dos animais do grupo HFMVUL morreram e os restantes foram censurados. Aos 24 meses, existiam apenas 4 dos 14 casos pertencentes ao grupo HVS. Dos 16 casos pertencentes ao grupo HFMVUL, apenas restava um. Entre os 12 e os 24 meses, nenhum animal morreu, todos os que deixaram de pertencer ao estudo, foram censurados. Quando comparados os tempos de sobrevida entre os dois grupos, não foi encontrada diferença significativa (*p*=0,281).

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para a idade dos animais

Foi comparada a sobrevida no grupo de animais com idade superior a 120 meses, com o grupo com idade igual ou inferior a 120 meses (Gráfico 21). Existiam 18 animais com idade inferior ou igual a 120 meses e 12 animais com idade superior a 120 meses. Dos 18 casos do grupo com idade ≤ 120 meses, foram censurados 83,3% (n=15/18). Dos 12 casos do grupo com idade > 120 meses, foram censurados 75,0% (n=9/12). Embora no Gráfico 21, pareça que o grupo com idade superior a 120 meses teve uma menor sobrevida, verificou-se, no teste de Log Rank, que *p*=0,076. Logo, não significativo.

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para o tamanho do nódulo

Foi comparada a sobrevida no grupo de animais com tamanho do nódulo superior a 5 cm, com o grupo igual ou inferior a 5 cm (Gráfico 22). Existiam 18 casos com nódulos ≤ 5 cm. Destes, foram censurados 83,3% (n=15/18). Nos 12 casos com nódulos > 5 cm, foram censurados 75% (n=9/12). Ao fim de 6 meses, existiam em estudo 10 dos 18 casos pertencentes ao grupo de animais com nódulos ≤ 5 cm. Ao fim de 12 meses, existiam 7 casos e ao fim de 24 meses, 4 casos. Todos os casos deste grupo morreram após os 24 meses.

No grupo de 12 animais com nódulos > 5cm, só um estava em estudo ao fim de 6 meses. Nenhum caso permaneceu no estudo mais do que 8,13 meses. Dos três casos que morreram, este evento aconteceu aos 0,8, aos 1,9 e aos 8,13 meses. Todos os outros casos foram censurados.

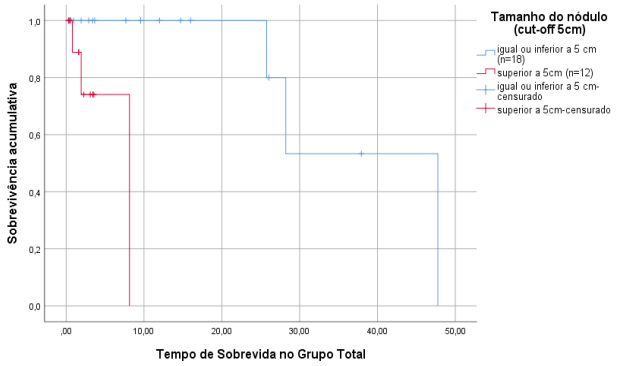


Gráfico 22 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, nos grupos com tamanhos superiores a 5 cm, com os iguais ou inferiores a 5 cm (*p*=0,002).

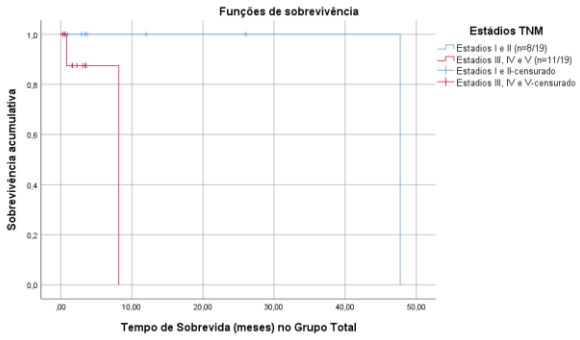


Gráfico 23 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, nos casos com estadiamento de baixo grau (graus I ou II), com os casos de estadiamento de alto grau (gaus III, IV ou V) (*p*=0,066).

Verificou-se que *p*=0,002, mostrando, portanto, uma menor sobrevida no grupo com nódulos de tamanho superior a 5 cm.

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para o estadiamento TNM

Foi comparada a sobrevida nos diferentes graus de estadiamento, segundo a classificação TNM. Os casos estavam distribuídos da seguinte forma: cinco no grau I, três no grau II, oito no grau III, um no grau IV e dois no grau V. Na análise de sobrevida, em que o evento considerado foi a morte, o grupo com estadiamento de baixo grau (graus I ou II, n=8/19), foi comparado com o grupo de estadiamento de alto grau (graus III, IV ou V, n=11/19).

O Gráfico 23, mostra a sobrevida no grupo de baixo grau no estadiamento TNM, comparado com a sobrevida no grupo de alto grau. Verificou-se uma correlação negativa, nas margens da significância (*p*=0,066).

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para o grau histológico

Quanto ao grau histológico, foi comparada a sobrevida nos grupos classificados como I, II e III. Foi também avaliado o aparecimento de metástases, nos diferentes graus histológico. O número de casos estava distribuído da seguinte forma: 15 casos tinham grau histológico de I, 8 casos grau histológico de II e 6 casos grau histológico III. Na análise de sobrevida em que o evento considerado foi a morte, o grupo com grau histológico I apresentava 86,7% (n=13/15) de casos censurados. No grupo de grau II, 87,5% (n= 7/8) e no grupo de grau III, 50,0% (n=3/6).

No Gráfico 24, foi definido como evento o aparecimento de metástases. Estas, só ocorreram em dois casos, no grupo com grau histológico III, aos 3,43 meses e aos 8,13 meses. Quando comparado com os grupos de grau I e II, a diferença foi significativa (*p*=0,001).

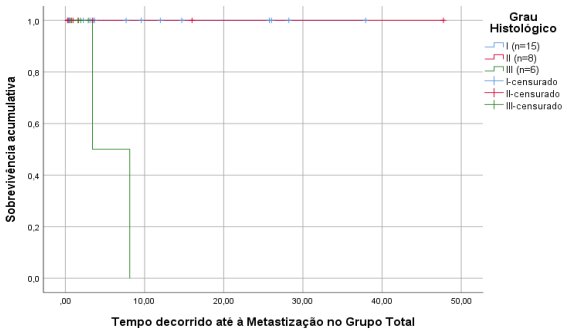


Gráfico 24 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de aparecimento de metástases em TMC malignos, nos diferentes gaus histológicos (*p*=0,001).

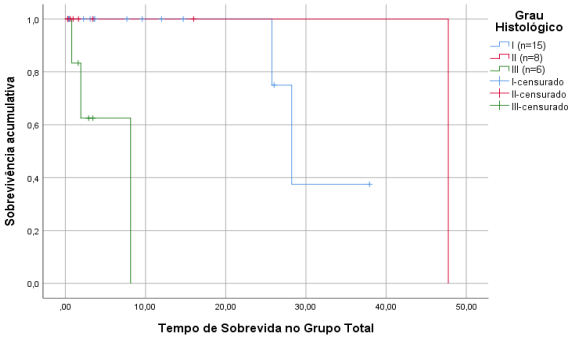


Gráfico 25 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, nos diferentes gaus histológicos (*p*=0,001).

O Gráfico 25, mostra que a sobrevida do grupo com grau histológico III, foi bastante inferior aos outros dois grupos. No grau III, não existia nenhum caso ainda em estudo, aos 10 meses. Enquanto nos outros dois grupos, todos os casos, não censurados, estavam vivos ao fim de 24 meses. Quando comparados os tempos de sobrevida dos três grupos, verificou-se uma diferença significativa (p=0,001).

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para as várias técnicas cirúrgicas

Foi estudada a sobrevida, nos diferentes tipos de técnica cirúrgica (Tabela 19).

Tabela 19 – Número de casos e eventos nos diferentes tipos de técnica cirúrgica.

Sobrevida nos diferentes tipos de técnica cirúrgica				
Tipo de Cirurgia	**n**	**n de eventos**	**Censurados**	
			n	**%**
Nodulectomia	4	0	4	100,0%
Mamectomia	1	1	0	0,0%
Mastectomia regional	8	1	7	87,5%
Mastectomia radical unilateral	14	3	11	78,6%
Mastectomia radical bilateral	1	1	0	0,0%
Mamectomia + Mastectomia radical unilateral	1	0	1	100,0%
Mastectomia regional + Mastectomia radical unilateral	1	0	1	100,0%
Total	30	6	24	80,0%

A sobrevida, nos diferentes tipos de técnica cirúrgica utilizada, não se mostrou diferente (p=0,405) (Gráfico 26).

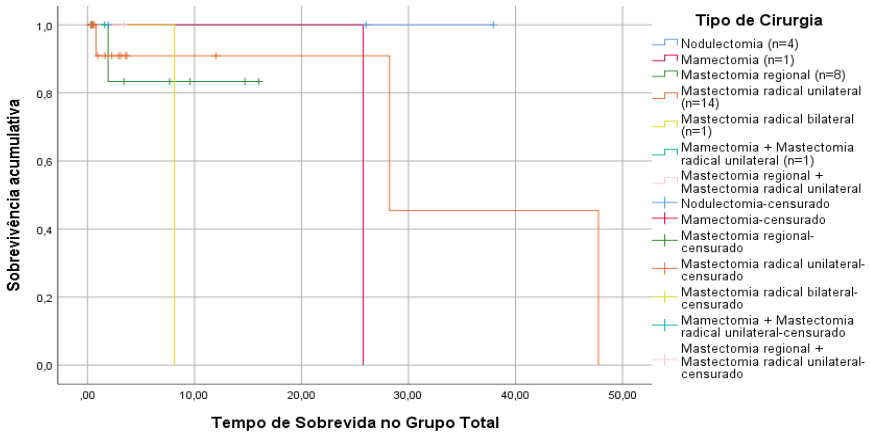


Gráfico 26 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos excisados, com o tipo de cirurgia (p=0,405).

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier para as margens cirúrgicas

As margens cirúrgicas, completas ou incompletas, foram avaliadas quanto à sua sobrevida. Dos 19 casos com margens completas, foram censurados 84,2% (n=16/19). Dos 11 casos com margens cirúrgicas incompletas, foram censurados 72,7% (n=8/11) (Gráfico 27).

Não foi encontrada diferença significativa, entre os dois grupos (*p*=0,589).

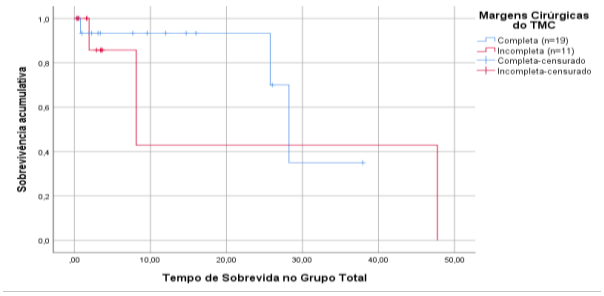


Gráfico 27 – Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em TMC malignos, com margens cirúrgicas completas ou incompletas.

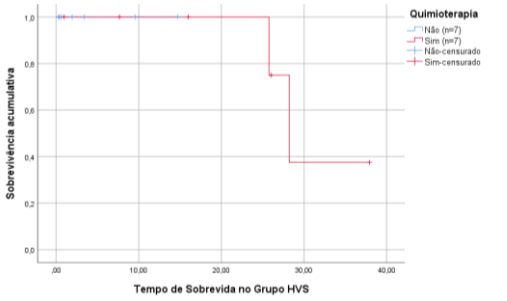


Gráfico 28 – Curva de Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida em TMC malignos, nos grupos que fizeram ou não quimioterapia, no grupo HVS.

Análise de sobrevida de Kaplan-Meier sobre o efeito da quimioterapia

Apenas a população do HVS foi estudada quanto à administração ou não de quimioterapia (Tabela 20 e Gráfico 28). A população total correspondia a 14 casos. Em sete casos tinha sido administrada quimioterapia e nos outros sete não.

Tabela 20 – Número de casos e de eventos nos grupos que fizeram ou não quimioterapia, no grupo HVS.

Sobrevida nos grupos Q e NQ				
Quimioterapia HVS	**n**	**n de eventos**	**Censurados**	
			n	**%**
Não	7	0	7	100,0%
Sim	7	2	5	71,4%
Total	14	2	12	85,7%

Terminado o estudo, verificou-se que sete casos do grupo que não fez quimioterapia (NQ), foram todos censurados (n=7/7). Dos 7 casos do grupo que fez quimioterapia (Q), foram censurados 71,4% (n=5/7). Não foi possível fazer a comparação dos tempos de sobrevida entre os dois grupos NQ e Q, uma vez que, no grupo NQ, todos os casos foram censurados.

3. Discussão

Nesta série, predominaram os animais SRD. Das raças puras, as mais observadas foram a Caniche e a Labrador. Em cinco casos, a raça não estava especificada (Gráfico 3). Vários estudos apontam a raça como um fator relevante para a incidência de TMC. No trabalho de Vascellari *et al*. (2016) os cães de raça pura têm uma maior probabilidade de ter TMC, quando comparado com os cães de raça indeterminada. Diversos estudos relatam a incidência de TMC noutras raças puras (Rodríguez *et al*., 2022; Pastor *et al*., 2018; Salas *et al.,* 2015). Isto sugere uma componente genética no aparecimento de TMC. No Registo Oncológico Nacional, 2020 – Rede Vet-Onconet, desenvolvido por Pinello *et al*. (2022a), as raças Yorkshire Terrier e Caniche foram as que tiveram maior incidência de TMC malignos. Neste estudo, tal não se observou, provavelmente pelo pequeno número de casos incluído. Outra possível razão, pode ter que ver com o facto de parte dos casos do grupo HFMVUL serem provenientes de Associações e havendo por isso maior expressão de animais SRD. Tal não permitiu qualquer conclusão sobre a predisposição da raça para os TMC. Dado a grande variedade de raças nos animais de companhia, só com um número mais elevado de casos se poderiam tirar conclusões representativas da população.

No presente estudo, a média de idades foi de aproximadamente 10 anos, tanto no grupo total como em qualquer dos CAMVs (Gráfico 4 e Tabela 9). Estes dados estão de acordo com o descrito na literatura (Pinello *et al*., 2022a; Rodríguez *et al*., 2022; Pastor *et al*., 2018; Vascellari *et al*., 2016; Salas *et al.,* 2015; Lana *et al*., 2007). Sleeckx *et al*. (2011) verificou que a maioria dos TMC surge em animais com idade entre os 8 e os 10 anos, sendo raros antes dos 6 anos. No entanto, em cadelas esterilizadas, a idade de aparecimento pode ser mais elevada (Vascellari *et al*., 2016). A idade de ocorrência dos TMC também depende do tempo médio de vida das várias raças. Regra geral, as raças de maior porte têm uma vida naturalmente mais curta e, portanto, os animais tendem a ser mais jovens no momento do diagnóstico, do que os das raças de menor porte (Rivera *et al*., 2009; Egenvall *et al*., 2005). Neste estudo não foi avaliado o porte dos animais. Verificou-se, na análise de sobrevida de Kaplan-Meier, que não houve diferença entre os grupos com idade superior a 120 meses e igual ou inferior a 120 meses (Tabelas 16 e 18 e Gráfico 22), pelo que a idade não foi um fator de prognóstico. Já North & Banks (2009), comparando diversos estudos, haviam considerado a idade como um fator de prognóstico controverso.

Relativamente aos antecedentes estrogénicos, às gestações prévias e aos anovulatórios, a insuficiente informação colhida não permitiu tirar conclusões. No entanto, este é um dado relevante a ter em conta, dado que as cadelas sujeitas a terapêuticas hormonais anovulatórias, parecem apresentar maior risco de TMC, pelo que o uso de contracetivos, como os progestagénios injetáveis, deve ser evitado (Sorenmo *et al*., 2020a; Stovring, 1997).

Um dado interessante, no presente estudo, foi o facto de 80% das cadelas não estarem esterilizadas no momento do diagnóstico (Gráfico 5). Foi também verificado que, nas restantes cadelas, já esterilizadas, em nenhuma dela terá sido realizada OVH antes do 1º ciclo éstrico. Tal está de acordo com o descrito na literatura, que sugere que o nível estrogénico e a exposição hormonal, possam ter influência no aparecimento dos TMC (Burrai *et al.*, 2020; Sorenmo *et al*., 2020a; Pastor *et al.*, 2018; Vascellari *et al*., 2016; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al.*, 2007). Dado que os TMC parecem ser hormonodependentes, a OVH precoce preveniria o seu aparecimento. As cadelas esterilizadas antes do primeiro estro, tinham um risco de TMC de 0,5%, se antes do 2º estro, o risco era de 8% e se antes do 3º estro, era de 26% (Schneider *et al*.,1969). O benefício da OVH, efetuada quando da remoção do TMC, é controverso (Borrego *et al*., 2017; Priester *et al.*, 1979). Também, como não existe consenso quanto à maior incidência de outras neoplasias, em cadelas esterilizadas (Arlt *et al*, 2017; Smith, 2014).

No trabalho de Sorenmo *et al*. (2011), é referido que os TMC benignos se possam tornar malignos ao fim de alguns meses e que a forma carcinomatosa seja o seu processo final, o que aconselharia a excisão de qualquer tumor, independentemente do grau de malignidade. Esta evolução parece estar também associada ao aumento do tamanho do tumor e a um aumento da sua agressividade (Gedon *et al*., 2021; Sleeckx *et al*., 2011; Sorenmo *et al*., 2009).

O aparecimento de um nódulo foi o que motivou a consulta em 80% dos casos, dos quais 94% no HFMVUL e 64% no HVS. Dezanove animais apresentavam queixas e sintomas diversos, alguns relacionáveis com o tumor mamário: corrimento sanguinolento, galactorreia, tumefação de toda a cadeia mamária, nódulo exuberante e ulcerado. Ainda que muitas vezes assintomáticos, os animais podem apresentar sinais, mais frequentes nos casos já muito evoluídos ou metastizados (Sorenmo *et al*., 2020a). As metástases, dependendo da sua localização, condicionam o aparecimento e a gravidade dos sinais, geralmente inespecíficos e comuns a outras patologias. Podem manifestar-se como perda de peso, fadiga, apatia, tosse, dispneia, e

linfedema, entre outros. Embora a metastização mais frequentemente se dê para os linfonodos e pulmão, também podem surgir metástases no fígado, baço, osso ou cérebro (Gundim *et al.,* 2016; Sleeckx *et a.l,* 2011; Lana *et al.*, 2007).

O nódulo já fora detetado pelos tutores, em média, cerca de 56 semanas antes, no grupo do HFMVUL, e cerca de 34 semanas antes, no grupo do HVS. Em relação ao tamanho, tal como se verificou no exame clínico, os tumores do HFMVUL eram maiores do que os do HVS. No HFMVUL tinham mais de 5 cm em 75% dos casos, enquanto no HVS eram todos inferiores 5 cm. Este diagnóstico mais precoce, verificado no HVS, pode dever-se ao facto de os tutores estarem mais atentos e atuaram mais rapidamente, quando notam alterações no estado físico do animal. Uma vez que no HFMVUL, 37,5% (n=6/16) dos animais provinham de associações de proteção animal, isto sugere que possa haver uma menor vigilância.

A presença de mais de um tumor, numa ou mais glândulas mamárias, é frequente nas cadelas. Estes tumores são geralmente independentes, apresentando diferentes tipos histológicos (Sorenmo *et al*., 2011). No nosso estudo, cerca de 60% dos TMC apresentavam nódulos múltiplos, o que está de acordo com a literatura (Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al.*, 2007).

Nos diversos estudos, os TMC apresentam-se como nódulos firmes e individualizados, móveis ou fixos aos tecidos envolventes, de tamanho variável e por vezes ulcerados. Neste trabalho, a informação quanto às características do nódulo, foi escassa, o que não permite tirar conclusões. Embora todos os casos fossem TMC malignos, só 20% se apresentavam ulcerados. Quanto à fixação aos tecidos envolventes, os casos do HFMVUL apresentavam características de maior malignidade, comparativamente com os do HVS. Salientamos que é o conjunto de todas estas características, que ajudam a definir o prognóstico e a delinear um plano terapêutico (Sorenmo *et al*., 2020a; Borrego *et al*., 2017b; Euler *et al*., 2011; North & Banks, 2009). Estas observações chamam a atenção para a premente necessidade de alertar os tutores, para que devem estar atentos a estes sinais e que a palpação das unidades mamárias deve entrar na sua rotina, especialmente nos animais geriátricos.

A avaliação laboratorial, hematológica e bioquímica foi feita em quase todos os casos (Tabela 10). Já a medição do cálcio, não foi realizado de forma sistemática. O cálcio sérico total, foi medido em quatro dos trinta casos. Embora os exames laboratoriais, hematológicos ou bioquímicos, não tenham especificidade nos TMC, a sua avaliação é importante para a

caracterização clínica, a programação terapêutica, o plano anestésico e a deteção de síndromes paraneoplásicas. Também o cálcio, de preferência ionizado, deve ser realizado por rotina de estadiamento, para a deteção de HM (Bailey *et al.*, 2019; Stein *et al.*, 2017; Sleeckx *et al.*, 2011).

Nos animais que integram este estudo, não foram pesquisados biomarcadores. Estes, constituem hoje, uma nova abordagem no estabelecimento de um prognóstico e eventual terapêutica adjuvante em TMC (de Oliveira *et al.*, 2015a; de Oliveira *et al.*, 2015b; Santos *et al*., 2012; Pereira *et al.*, 2009b). Na abordagem clínica de TMC, esta é uma área que se deveria dar mais importância. Em medicina humana recorre-se com frequência a biomarcadores, como o CA15,3, uma MUC1, cuja sobrexpressão está associada ao carcinoma mamário metastizado. No entanto, dado a sua baixa sensibilidade, não é utilizado para o diagnóstico precoce, mas apenas no seguimento e associado a outros biomarcadores como o CEA. Em medicina veterinária, tal não entrou na prática clínica, quer por razões económicas, quer porque ainda decorrem estudos sobre a sua utilização (Vafaei *et al*., 2022; Kaszak *et al*., 2018).

Já os exames de imagem, como a radiografia torácica e a ecografia abdominal, são essenciais para avaliar a presença de metástases (Nemanic *et al.*, 2006). A realização de radiografia torácica, apesar de não ser o método mais sensível, é o mais prático e económico e, por isso, o mais realizado (Otoni *et al*., 2020; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al*., 2007). Por outro lado, pode também dar informação sobre a situação cardíaca do animal, como cardiomegalia ou estase pulmonar, que pode condicionar a abordagem cirúrgica ou anestésica. No presente trabalho, a radiografia torácica foi realizada em 16 dos 30 casos (59,3%). A ecografia abdominal, realizou-se em 18 dos 30 casos (60,0%) (Tabela 10). Os CAMVs deveriam implementar como rotina, no estadiamento dos TMC, a radiografia do tórax em três projeções e a ecografia abdominal. São exames complementares não invasivos, seguros e de baixo custo. Apesar de não permitirem um diagnóstico definitivo, ajudam a ter uma visão geral do estado de saúde do animal e da progressão da doença.

Quanto à localização, os TMC são mais frequentes nas glândulas inguinal, abdominal caudal e abdominal cranial, ocasionalmente nas glândulas torácico caudal e cranial. O que poderá ter que ver com a maior quantidade de tecido mamário das glândulas que se encontram nestas localizações (Sleeckx *et al*., 2011; Lana, 2007). No nosso estudo, as regiões mais afetadas foram

também a abdominal e a inguinal, sendo a distribuição semelhante em ambos os CAMVs (Gráfico 9).

É no exame histopatológico que assenta o diagnóstico, a classificação e o estadiamento dos TMC (Sorenmo *et al*., 2011). O tipo histológico que predominou neste estudo, foi o carcinoma, nas suas diferentes formas. Os tipos de carcinomas mais observados foram o carcinoma complexo, em pouco mais de 35% dos casos, e o carcinoma tubulo-papilar em cerca de 20% daqueles. Não foi observado nenhum caso de carcinoma inflamatório e apenas um caso de sarcoma (Gráfico 10 e Tabela 11). A classificação histológica das neoplasias e displasias mamárias em cadelas, proposta por Goldschmidt *et al*. (2011), é a mais utilizada. A sua boa correlação com o prognóstico foi demonstrada no trabalho de Rasotto *et al*. (2017). A maioria dos TMC malignos são carcinomas (95%), quase sempre carcinomas simples, sendo os sarcomas cerca de 5% (Sorenmo *et al*., 2020a). O mesmo encontrámos no nosso estudo.

Quando avaliadas as características de malignidade do nódulo, o grupo do HFMVUL apresentava maior percentagem de casos com características malignas, como por exemplo, o grau de invasão. Com exceção, da presença de infiltrado macrofágico e da percentagem de formação tubular, que foram superiores no grupo HVS. Quanto à presença de infiltração e de necrose, não houve diferenças entre os dois grupos.

As caraterísticas histológicas de um TMC, permitem estabelecer o seu grau de malignidade e consequente prognóstico (Avallone *et al.*, 2021). Como mostra o Gráfico 11, metade dos casos do grupo total correspondiam ao grau I. O grau III foi o menos representado (20,0%) e só foi observado no grupo HFMVUL. Dos trinta casos que entraram no estudo, só não foi possível classificar um. A observação da Tabela 12 e do Gráfico 11 mostra-nos que, quer as características macroscópicas de malignidade, quer as microscópicas, tiveram uma maior expressão no grupo do HFMVUL.

No relatório histopatológico foram avaliadas as margens cirúrgicas, classificadas como completas ou incompletas. No grupo total observou-se que, mais de 60% dos casos (n=19/30), apresentaram margens completas. Quando comparados os dois CAMVs, verificou-se que no HVS, em todos os casos, as margens estavam completas. O mesmo não se verificou no HFMVUL. Estes resultados podem ter sido influenciados pelo tamanho do tumor, pelo número

de nódulos, pelo seu caráter maligno, pela experiência do cirurgião ou mesmo pela região onde se localiza o nódulo.

Nos seis casos em que o GL foi avaliado, cinco apresentavam linfoadenomegalia ou assimetria, 83,3% (n=5/6). No grupo HVS, o único caso registado apresentava alterações. No grupo HFMVUL, um caso apresentava linfonodo sem alterações e os outros quatro apresentavam aumento ou assimetria (Gráfico 8). A escassa informação sobre a avaliação do GL na consulta inicial, pode impedir uma correta avaliação da gravidade do caso, nesta primeira abordagem. Esta última dificulta uma correta gestão das expetativas dos tutores.

A excisão do GL é necessária para que seja possível atribuir um estádio TNM, avaliar a progressão da doença e, por consequência, a necessidade de tratamento adjuvante. Nos trinta casos em estudo, o GL não foi excisado em 36,7% dos casos. No HFMVUL foi excisado na maioria dos animais, o mesmo não acontecendo no HVS (Gráfico 13). Dos GL excisados (n=19/30), apenas foram encontrados sinais de metástases em dois casos, ambos do HFMVUL. A experiência do cirurgião, a localização do GL e a condição corporal do animal, são alguns aspetos que podem condicionar a remoção do GL. Um bom planeamento cirúrgico e um mapeamento dos GL, poderão ajudar a aumentar a taxa de sucesso na sua excisão.

Deve ser investigado o aparecimento de metástases, a principal causa de morte em TMC malignos. No nosso estudo, foram observadas metástases em dois animais, do grupo HFMVUL. O seu local de metastização foi, em ambos, o pulmão. Um deles também mestastizou no osso e o outro no fígado. Estas localizações, tal como os sinais associados, são concordantes com os já reportados noutros estudos (Gundim *et al*., 2016; Sleeckx *et al*., 2011; Lana *et al.*, 2007).

Para além da classificação histológica, a OMS aconselha um sistema de estadiamento das neoplasias mamárias, baseado na avaliação da dimensão do tumor primário (T), na presença ou não de metastização nos GL regionais (N) e na presença ou não de metástases à distância (M) (Queiroga & Lopes, 2002a). Este sistema permite atribuir uma classificação da evolução da doença em cinco estádios (Sorenmo *et al.*, 2020a). Os diversos estudos enfatizam a importância do estadiamento completo de um TMC. Este fornece informação sobre o prognóstico e tem repercussão no plano terapêutico. No nosso estudo, dos 30 casos, em 19 foi possível atribuir um estádio TNM. No total, verificámos que cinco se encontravam no estádio I, três no estádio II, oito no estádio III, um no estádio IV e dois no estádio V. No grupo HVS, os quatro casos que foi

possível estadiar, estavam no estádio I. Já no grupo HFMVUL, dos onze casos classificados, mais de metade pertenciam a estádios mais graves, com uma classificação igual ou superior a III (Gráfico 14). Atribuindo assim maior gravidade aos casos deste grupo. Em alguns casos, não foi possível atribuir uma classificação, ou por falta de informação referente ao GL, por este não ter sido excisado, ou por falta de exames complementares de estadiamento, como a radiografia torácica. Adiante voltaremos a este assunto.

Os dois sistemas de classificação são usados pela generalidade dos patologistas, pois há evidência de que, quer os tipos histológicos quer os graus da classificação TNM, têm uma boa correlação com a malignidade e são bons indicadores prognósticos. O estudo de Canadas estabelece uma boa correlação entre as duas classificações e a sobrevida (Canadas *et al*., 2019).

A cirurgia é o tratamento de eleição para a maioria dos TMC (Cassali *et al*., 2020; Sorenmo *et al*., 2020a; Borrego, 2017; Fossum, 2013; Cassali *et al*., 2011). O tipo de cirurgia depende do tamanho do tumor, da localização e do estado clínico do animal. Deve-se eleger a intervenção mais simples e menos invasiva, mas de modo a remover todos os nódulos e tecido linfático adjacente (Cassali *et al*., 2020; Sorenmo *et al*., 2020a; Fossum, 2013). Na verdade, aquando da intervenção cirúrgica, podem já existir metástases não detetáveis, o que se traduz num agravamento do prognóstico, apesar da intervenção adequada. A excisão cirúrgica precoce e completa é essencial e deve ser seguida da avaliação histopatológica, no sentido de se estabelecer um prognóstico e uma terapêutica complementar, se necessário (Misdorp *et al.*, 2002). Os tipos histologicamente mais agressivos ou já metastizados, podem justificar tratamentos adjuvantes. Mais adiante abordaremos a quimioterapia. Nesta série, a nodulectomia realizou-se em quatro casos, a mastectomia simples num, a mastectomia regional em oito, a mastectomia radical unilateral em dezasseis e a mastectomia radical bilateral num caso. No entanto, o tipo de cirurgia efetuado foi diferente quando se comparam os dois CAMVs. No HVS, dos catorze casos operados, apenas em três foi efetuada uma cirurgia radical, sendo nos restantes onze realizada uma cirurgia menos agressiva. Já no HFMVUL, dos dezasseis casos operados, catorze foram submetidos a mastectomia radical e os restantes dois a mastectomia regional (Tabela 13 e Gráfico 15). Isto confirma a marcada gravidade que já se fazia notar na avaliação clínica inicial e no estadiamento dos casos, do grupo do HFMVUL, obrigando a intervenções terapêuticas mais agressivas.

O tipo de cirurgia realizada, para além de ter como orientação as recomendações, foi escolhido de acordo com as caraterísticas da massa a remover: tamanho, localização e presença de caraterísticas de malignidade. No HVS, por serem maioritariamente tumores de pequena dimensão e sem metastização noutros órgãos, a cirurgia mais realizada foi a mastectomia regional. Esta técnica é utilizada quando temos vários tumores presentes ou quando o tumor se localiza entre duas glândulas mamárias, devendo ser sempre associada ao exame histopatológico (Cassali *et al*., 2020; Horta *et al*., 2015; Fossum, 2013). A remoção em bloco destas glândulas e dos GL envolvidos, diminui o risco de metastização e de recidiva tumoral (Cassali *et al*., 2020). No grupo do HFMVUL, dado as características de malignidade da maior parte dos casos, o tipo de cirurgia mais realizado foi a mastectomia radical. Certamente que a extensão da cirurgia, para além de determinada pelas caraterísticas da massa, também terá sido influenciada pela preferência do cirurgião e pela sua opinião quanto à capacidade preventiva da remoção de mais tecido mamário no reaparecimento de massas. (Cassali *et al*., 2020; Horta *et al*., 2015).

Neste estudo, apenas sete dos animais operados, todos do HVS, fizeram quimioterapia. Dos sete casos que fizeram quimioterapia, em seis foi aplicada quimioterapia metronómica, com ciclofosfamida em combinação com firocoxib e apenas em um caso a quimioterapia convencional, com um esquema de doxorrubicina. Embora não haja diretrizes estabelecidas para o tratamento, além da cirurgia, advogam alguns autores que os casos com doença metastática ou com um tipo histológico agressivo, possam beneficiar de tratamento adjuvante (Valdivia *et al*., 2021; Sorenmo *et al*., 2020a). Existem diversos estudos sobre o efeito da quimioterapia no tratamento dos TMC, a maioria dos quais são retrospetivos e incluem um pequeno número de animais com tumores diferentes, pelo que as conclusões não são decisivas (Santos & Matos, 2015; Sleeckx *et al*., 2011).

A quimioterapia convencional tem como objetivo administrar a máxima dose tolerada do fármaco citotóxico. É uma terapia não especifica, uma vez que atua tanto em tecidos neoplásicos como em outros tecidos de alta divisão mitótica. A sua administração implica um intervalo entre cada dose, para observação de eventuais efeitos adversos e adequado tratamento de suporte (Barros & Repetti, 2015). A doxorrubicina é um antibiótico do grupo das antraciclinas, utilizado como antineoplásico e imunomodulador, para o tratamento de várias neoplasias, entre as quais os TMC. O seu efeito antineoplásico é devido à inibição da replicação do ADN. Os

principais efeitos adversos são a mielossupressão e a toxicidade gastrointestinal. Em cães, também está documentada a cardiotoxicidade. O desenvolvimento de resistências é uma das causas de insucesso da doxorrubicina (Gustafson & Bailey, 2019; medac, 2019; Lana & Dobson, 2016). Na administração metronómica, são utilizadas doses baixas de fármacos citotóxicos de forma contínua. Tem sido usada a ciclofosfamida em combinação com alguns AINEs, como o firocoxib. Esta terapêutica promove efeitos citotóxicos, antiangiogénicos e imunomoduladores. A forma de administração contínua, limita a reparação e replicação celular e altera o microambiente do tumor. Devido à sua baixa dose, os seus efeitos adversos e a resistência aos quimioterápicos são menores. O TS e o ILD, têm sido utilizados como indicadores de resposta. Em medicina veterinária, as combinações de fármacos, doses e a sua eficácia, estão ainda em investigação (Alonso-Miguel *et al*., 2022; Gustafson & Bailey, 2019; Campos *et al*., 2018; Denies *et al*., 2017; Matsuyama & Mutsaers, 2017; Lana & Dobson, 2016).

Tem sido demonstrado que, agentes antiangiogénicos em combinação com quimioterapia ou radioterapia, podem ter efeitos aditivos ou sinérgicos. O que sugere um efeito quimiossensibilizante da terapêutica antiangiogénica, explicada por três mecanismos. Por um lado, a terapêutica antiangiogénica pode normalizar a vasculatura tumoral, resultando em melhor oxigenação, melhor perfusão sanguínea e, portanto, melhor entrega de fármacos quimioterápicos. Por outro, parece que a quimioterapia metronómica, danifica preferencialmente as células endoteliais da neovasculatura tumoral. Por fim, os fármacos antiangiogénicos diminuem a proliferação celular, retardando o crescimento tumoral e a sua disseminação entre os ciclos de quimioterapia (Benazzi *et al.*, 2014; Klement *et al.*, 2006; Browder *et al*., 2000). Neste estudo, não foi avaliado o efeito na qualidade de vida nem os efeitos secundários. No entanto, tem sido investigado o potencial efeito que destas terapêuticas. Os fármacos utilizados podem promover o aumento da agressividade do tumor, pela indução de hipoxia no microambiente tumoral, que parece estar associada a um fenótipo metastático (de Oliveira *et al*., 2015a).

Embora este estudo tenha sido realizado apenas em TMC malignos, não houve evidência de terem ocorrido recidivas em nenhum nos casos. De qualquer modo, a curta duração do estudo não permitiu um alargado seguimento dos animais.

Neste trabalho, a análise da sobrevida sobrepõe-se à análise da permanência no estudo, dado que os casos que não permaneceram no estudo, ou morreram ou foram censurados por

abandono do estudo. Este abandono do estudo pode ocorrer por morte ou falta de *compliance* dos tutores, mas não foi possível esclarecer este ponto durante o tempo em que o estudo decorreu. Assim, é possível que alguns dos casos censurados antes do final do estudo tenham morrido, o que poderá alterar os números da mortalidade, embora não altere os números do tempo de sobrevida, quando considerados como tempo de permanência no estudo.

Foi analisada, através de estatística descritiva, a sobrevida dos animais desta série. O tempo médio de sobrevida da população total foi de 8,92 meses, sendo de 12,39 meses no HVS e de 5,88 meses no HFMVUL (Tabela 15 e Gráfico 18). Foi calculada a percentagem de animais que estavam vivos aos 6, 12 e 24 meses após o diagnóstico. Aos 6 meses, estavam vivos 57,1% dos animais no HVS e 18,8% no HFMVUL, aos 12 meses respetivamente 42,9% e 12,5%, e aos 24 meses respetivamente 28,6% e 6,3%. Os TS dos animais do grupo HVS pareciam ser superiores aos dos animais do HFMVUL. Estes dados correspondiam ao esperado, tendo em conta as características dos tumores de cada grupo. Uma vez que os animais do grupo HFMVUL apresentavam tumores de caráter mais agressivo, seria de esperar que o TS fosse também menor. No entanto, a análise de Kaplan-Meier não mostrou diferença significativa (Gráfico 20).

Na Tabela 8, apresentámos os fatores de prognóstico dos TMC, propostos por North & Banks (2009). Discutiremos agora a análise de sobrevida desses diversos fatores, que apresentámos nos resultados. Assim, na Tabela 16, temos os resultados do teste de Kurskal Wallis, aplicado aos fatores de prognóstico (idade, tamanho do nódulo, grau histológico, estádio TNM, margens cirúrgicas, critérios de malignidade do nódulo, metastização no GL ou à distância), no grupo total. Verificamos que apenas o tamanho do nódulo mostrou diferença significativa (p=0,037). No entanto, na comparação entre os dois CAMVs, não se observaram diferenças, quanto à sobrevida, nos diferentes fatores de risco considerados (Tabela 17).

Os grupos que fizeram ou não quimioterapia, apresentaram TS diferentes, quer no grupo total (p=0,014), quer no HVS (p=0,018) (Tabelas 17 e 18; Gráficos 18 e 28).

Os resultados que obtivemos neste estudo, com a aplicação das curvas de sobrevida de Kaplan-Meier, quer na comparação da sobrevida entre os dois CAMVs, quer nos diversos fatores de prognóstico, foram interessantes. Na comparação entre os dois CAMVs, não se verificaram diferenças significativas quanto à sobrevida (Gráfico 20). Quanto à análise dos vários fatores de prognóstico, verifica-se que também não houve diferenças quanto à idade (Gráfico 22) e ao

estádio TNM (Gráfico 26). No entanto, como mostra o Gráfico 23, quanto ao tamanho do nódulo, verificou-se diferença significativa na sobrevida, (p=0,002). O mesmo se observou para o grau histológico (Gráfico 24), que mostrou diferença significativa quer para o tempo de sobrevida, (p=0,001) quer para o aparecimento de metástases, (p=0,001) (Gráfico 25).

Como seria de esperar, não se verificaram diferenças quando se compararam as técnicas cirúrgicas utilizadas (Gráfico 27), o que está de acordo com o trabalho de North e Banks (2009). Também para as margens cirúrgicas completas ou incompletas, não se encontrou diferença quanto à sobrevida (Gráfico 28).

Quanto à quimioterapia (Tabelas 17 e 18; Gráficos 18 e 19), o teste de Kruskal Wallis mostrara haver diferença na sobrevida entre os grupos que fizeram ou não quimioterapia. Na análise de sobrevida, não foi possível tirar conclusões na comparação entre os dois CAMVs, pois apenas os doentes do HVS fizeram quimioterapia (Tabela 20; Gráfico 28).

Na comparação dos dois CAMVs, verificou-se que existiam diferenças significativas em algumas características. Quanto à raça, os animais SRD predominaram no HFMVUL. O nódulo mamário, como principal motivo da consulta, foi mais frequente no HFMVUL. Quanto ao tamanho do nódulo, no HVS predominaram os nódulos inferiores a 3 cm e no HFMVUL predominaram os iguais ou superiores a 5 cm. No HFMVUL, verificou-se um maior número de casos com grau de malignidade mais elevado. O número de casos com estádios TNM mais elevados, foi também superior no HFMVUL. Os exames complementares de estadiamento, foram mais vezes executados no HFMVUL: radiografia torácica e ecografia abdominal.

Encontraram-se ainda outras diferenças estatisticamente significativas tais como a escolha da técnica cirúrgica realizada, que foi diferente nos dois CAMVs, no HFMVUL foi mais utilizada a mastectomia radical unilateral e no HVS foi a mastectomia regional. A excisão completa do tumor foi mais frequente no HVS e a excisão do gânglio linfático foi mais frequente no HFMVUL. A terapêutica adjuvante com quimioterapia foi feita em sete casos no HVS e em nenhum no HFMVUL. As metástases, quer no gânglio quer à distância, apenas ocorreram no HFMVUL.

Estes dados, apontam para uma maior malignidade e complexidade das situações clínicas dos animais do HFMVUL. O que pode ser explicado pelo contexto deste CAMV, um

hospital escolar de referência, com especialidade de oncologia. Mas, também, com o facto de ter acordos solidários com instituições de proteção animal. Como já referido, seis dos dezasseis animais seguidos neste CAMV, eram provenientes deste tipo de instituições. Sendo os TMC uma neoplasia de gestão clínica relativamente fácil, é de esperar que em CAMVs não especializados, sejam tratados os casos de menor malignidade. Consequentemente, casos em estádios mais avançados ou de maior malignidade, são encaminhados para CAMVs de referência. Os exames de estadiamento foram mais vezes executados no HFMVUL. Quer por os estádios serem mais avançados dos casos, quer pela maior disponibilidade de recursos de um hospital escolar. Por outro lado, no HVS, um contexto em que as situações clínicas aparentam menor gravidade, os tutores estão menos disponíveis para suportar a investigação clínica.

Foi comparada a percentagem de animais, do HVS e do HFMVUL, que permaneceram no estudo ao longo do tempo. Aos 6 meses, era de respetivamente 57,1% e 18,8% (p=0,029). Aos 12 meses era de 42,9% e 12,5% (p=0,061). Aos 24 meses era de 28,6% e 6,3% (p=0,102). Apesar do maior grau de malignidade e complexidade dos casos do HFMVUL, a sobrevida só se mostrou significativamente diferente na avaliação feita aos 6 meses. Nas avaliações posteriores esta diferença foi-se atenuando e a curva de sobrevida de Kaplan-Meier não mostrou diferença, entre os dois CAMVs.

Um conceito interessante, adaptado da oncologia humana, é o de sobrevida condicional. Este baseia-se na análise da possibilidade de os doentes operados sobreviverem ao primeiro ano após a cirurgia e sobreviverem ou não no 2º ano. O conceito de sobrevida condicional pode ser dividido em absoluto e relativo. A sobrevida condicional absoluta é calculada a partir de uma única coorte de doentes, enquanto sobrevida condicional relativa compara as probabilidades de sobrevida entre uma coorte e uma população de referência saudável pareada por idade (Hieke *et al*., 2015). No trabalho de Chocteau *et al*. (2021) foi analisada a sobrevida condicional a um ano em 344 cadelas operadas por carcinomas mamários invasivos. Neste grupo de cadelas operadas, a sobrevida a um ano foi de 80%, sendo a sobrevida condicional absoluta no segundo ano de 59%. Quando investigaram os parâmetros relacionados com a maior sobrevida condicional, encontraram uma boa correlação com o grau histológico, a invasão linfovascular, a idade do animal, o estádio TNM do tumor e a margem cirúrgica. Por outro lado, o tamanho do tumor e o grau histológico não alteraram significativamente a sobrevida condicional. No presente estudo,

não foi possível fazer o seguimento dos animais, pelo que não foi calculada a sobrevida condicional. Esta análise poderá tornar-se uma ferramenta interessante, para os veterinários equacionarem um prognóstico sobre o resultado provável dos sobreviventes ao tratamento dos TMC (Chocteau *et al.*, 2021).

Em medicina humana, o ILD é uma análise bastante utilizada. Em medicina veterinária, este é um parâmetro mais difícil de avaliar (Sorenmo *et al.,* 2019a). Este dado, tem especial importância, para enfatizar a eficácia do tratamento dos animais com TMC, junto dos tutores. A falta de seguimento dos animais que integraram o nosso estudo, não permitiu avaliar este parâmetro.

Este trata-se de um estudo retrospetivo. Como acontece nos estudos retrospetivos, a base de dados está dependente dos dados colhidos e anotados por terceiros, sem que estes tenham sido envolvidos no projeto de investigação. Isto fez com que, em muitas fichas clínicas, os dados se apresentassem incompletos, o que para algumas variáveis limitou o tratamento estatístico, prejudicando os resultados e as conclusões. Também a falta de seguimento dos animais, limitou a recolha de dados quanto aos eventos que nos interessava avaliar, como a morte, o aparecimento de metástases, as recidivas, a sobrevida condicional, o ILD e outras complicações. No sentido de tornar a recolha de dados mais sistemática e homogénea, propomos um conjunto de protocolos de recolha de dados para a consulta inicial (Apêndice I e II), estadiamento (Apêndice III) e seguimento (Apêndice IV). Outra limitação deste estudo é o tamanho da amostra. Embora com um total de 30 casos incluídos, o que para um estudo de caracterização de uma população submetida a tratamento cirúrgico e análise de sobrevida de uma patologia homogénea, pareça razoável, o facto de algumas variáveis não terem sido colhidas ou adequadamente relatadas nas fichas clínicas de avaliação e seguimento, reduziu o tamanho da amostra em diversas caraterísticas avaliadas. Também o facto de o trabalho ter envolvido dois centros diferentes, tendo embora permitido algumas comparações e conclusões interessantes, introduziu algumas dificuldades na recolha de dados e homogeneização da amostra.

Postas estas limitações, o desenho do estudo e o protocolo que seguimos mostrou-se adequado aos objetivos definidos. O que, aliado à experiência que nele foi adquirida, nos estimulou o gosto por este tipo de projetos, que gostaríamos de, numa oportunidade, desenvolver de forma prospetiva, multicêntrica e com uma maior amostra.

4. Conclusão

Neste trabalho foi possível caracterizar, clínica e histopatologicamente, 30 casos de TMC submetidos a cirurgia. Dos vários fatores de prognóstico analisados, apenas se encontrou uma correlação negativa entre o tempo de sobrevida e o tamanho do tumor. Uma correlação positiva entre a quimioterapia e a sobrevida. Quanto às características histopatológicas, o tamanho do nódulo e o grau de malignidade tiveram igualmente correlação negativa com a sobrevida. O grau de malignidade teve também uma correlação positiva com o aparecimento de metástases. No estadiamento TNM, os estádios mais elevados tiveram uma correlação negativa com a sobrevida.

Atualmente, existe pouca informação disponível sobre a utilização de quimioterapia metronómica, como terapêutica adjuvante isolada, em TMC. Assim, apesar do baixo número de casos, este estudo é pioneiro, na medida em que avalia este tipo de terapêutica. O principal objetivo e inovação deste trabalho foi comparar e esclarecer a importância do contexto clínico dos CAMVs. Onde mostrou que este influencia o tipo de casos que assiste e a sua abordagem diagnóstica e terapêutica. Finalmente, durante o decorrer da investigação, foram encontradas algumas limitações. A fim de atenuar a insuficiente informação registada nas fichas clínicas, propomos um conjunto de *check lists*, que poderão ser úteis para futuros investigadores.

Um estudo caso-controlo prospetivo, com uma amostra mais alargada e um maior tempo de seguimento, poderia colmatar algumas lacunas e clarificar algumas dúvidas, que o limitado número da amostra e o seu carater retrospetivo nos deixou.

Referências Bibliográfias

Alenza, M. D. P., Rutteman, G. R., Kuipers-Dijkshoorn, N. J., Peña, L., Montoya, A., Misdorp, W., & Cornelisse, C. J. (1995). dna flow cytometry of canine mammary tumours: the relationship of dna ploidy and S-phase fraction to clinical and histological features. *Research in Veterinary Science*, *58*(3). https://doi.org/10.1016/0034-5288(95)90109-4

Alenza, M. D. P., Rutteman, G. R., Peña, L., Beynen, A. C., & Cuesta, P. (1998). Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, *12*(3). https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1998.tb02108.x

Alonso-Miguel, D., Valdivia, G., García-San José, P., Alonso-Diez, Á., Clares, I., Portero, M., Peña, L., & Pérez-Alenza, M. D. (2022). Clinical outcome of dogs diagnosed with canine inflammatory mammary cancer treated with metronomic cyclophosphamide, a cyclooxygenase-2 inhibitor and toceranib phosphate. *Veterinary and Comparative Oncology*, *20*(1). https://doi.org/10.1111/vco.12760

Andrade, F. H. E., Figueiroa, F. C., Bersano, P. R. O., Bissacot, D. Z., & Rocha, N. S. (2010). Malignant mammary tumor in female dogs: Environmental contaminants. *Diagnostic Pathology*, *5*(1). https://doi.org/10.1186/1746-1596-5-45

Araújo, M. R., Campos, L. C., Ferreira, E., & Cassali, G. D. (2015). Quantitation of the Regional Lymph Node Metastatic Burden and Prognosis in Malignant Mammary Tumors of Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *29*(5), 1360–1367. https://doi.org/10.1111/jvim.13576

Argyle, D. J., Khanna, C., & Giancristofaro, N. (2019). Tumor Biology and Metastasis. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 36–60). Elsevier.

Arlt, S., Wehrend, A., & Reichler, I. M. (2017). [Neutering of female dogs - old and new insights into Pros and Cons]. *Tierarztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere*, *45*(4).

Avallone, G., Rasotto, R., Chambers, J. K., Miller, A. D., Behling-Kelly, E., Monti, P., Berlato, D., Valenti, P., & Roccabianca, P. (2021). Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. In *Veterinary Pathology* (Vol. 58, Issue 5). https://doi.org/10.1177/0300985821999831

Bailey, D. B. (2020). Paraneoplastic Syndromes. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 98–112). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-59496-7.00005-0

Banchi, P., Morello, E. M., Bertero, A., Ricci, A., & Rota, A. (2022). A retrospective study and survival analysis on bitches with mammary tumours spayed at the same time of mastectomy. *Veterinary and Comparative Oncology*, *20*(1). https://doi.org/10.1111/vco.12759

Barros, V. T. M., & Repetti, C. S. F. (2015). *Quimioterapia metronômica em cães: revisão de literatura Metronomic chemotherapy in dogs: a review* (Vol. 110).

Beer, P., Pozzi, A., Rohrer Bley, C., Bacon, N., Pfammatter, N. S., & Venzin, C. (2018). The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: A comparison with current approaches in human medicine. In *Veterinary and Comparative Oncology* (Vol. 16, Issue 2). https://doi.org/10.1111/vco.12372

Benazzi, C., Al-Dissi, A., Chau, C. H., Figg, W. D., Sarli, G., Oliveira, J. T. D., & Gärtner, F. (2014). Angiogenesis in spontaneous tumors and implications for comparative tumor biology. *The Scientific World Journal*, *2014*. https://doi.org/10.1155/2014/919570

Biller, B., Berg, J., Garrett, L., Ruslander, D., Wearing, R., Abbott, B., Patel, M., Smith, D., & Bryan, C. (2016). 2016 AAHA oncology guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *52*(4). https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6570

Bohrer, E. R., Löhr, C. v., & Kutzler, M. A. (2017). Prolactin and growth hormone immunoactivity in canine mammary adenomas and adenocarcinomas. *Reproduction in Domestic Animals*, *52*. https://doi.org/10.1111/rda.12821

Borrego, J. F. (2017). Urogenital and Mammary Gland Tumors. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman, & E. Côté (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., Vol. 2, pp. 5153–5161). Elsevier, Inc.

Botelho, F., Silva, C., & Cruz, F. (2009). Epidemiologia explicada–análise de sobrevivência. *Acta Urológica*, *26*(4).

Browder, T., Butterfield, C. E., Kräling, B. M., Shi, B., Marshall, B., O'Reilly, M. S., & Folkman, J. (2000). Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Research*, *60*(7).

Brunetti, B., Bacci, B., Angeli, C., Benazzi, C., & Muscatello, L. V. (2021). p53, ER, and Ki67 Expression in Canine Mammary Carcinomas and Correlation with Pathological Variables and Prognosis. *Veterinary Pathology*, *58*(2). https://doi.org/10.1177/0300985820973462

Bulkowska, M., Rybicka, A., Senses, K. M., Ulewicz, K., Witt, K., Szymanska, J., Taciak, B., Klopfleisch, R., Hellmén, E., Dolka, I., Gure, A. O., Mucha, J., Mikow, M., Gizinski, S., & Krol, M. (2017). MicroRNA expression patterns in canine mammary cancer show significant differences between metastatic and non-metastatic tumours. *BMC Cancer*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s12885-017-3751-1

Burrai, G. P., Gabrieli, A., Moccia, V., Zappulli, V., Porcellato, I., Brachelente, C., Pirino, S., Polinas, M., & Antuofermo, E. (2020). A statistical analysis of risk factors and biological behavior in canine mammary tumors: A multicenter study. *Animals*, *10*(9). https://doi.org/10.3390/ani10091687

Campos, C. B., Lavalle, G. E., Monteiro, L. N., Arantes Pêgas, G. R., Fialho, S. L., Balabram, D., & Cassali, G. D. (2018). Adjuvant thalidomide and metronomic chemotherapy for the treatment of canine malignant mammary gland neoplasms. *In Vivo*, *32*(6). https://doi.org/10.21873/invivo.11429

Canadas, A., França, M., Pereira, C., Vilaça, R., Vilhena, H., Tinoco, F., Silva, M. J., Ribeiro, J., Medeiros, R., Oliveira, P., Dias-Pereira, P., & Santos, M. (2019). Canine Mammary Tumors: Comparison of Classification and Grading Methods in a

Survival Study. *Veterinary Pathology*, *56*(2). https://doi.org/10.1177/0300985818806968

Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., Lobo, L., & Queiroga, F. L. (2016). Ki-67 and PCNA Expression in Canine Mammary Tumors and Adjacent Nonneoplastic Mammary Glands: Prognostic Impact by a Multivariate Survival Analysis. *Veterinary Pathology*, *53*(6). https://doi.org/10.1177/0300985816646429

Cassali, G. D., Jark, P. C., Gamba, C., Damasceno, K. A., Estrela-Lima, A., de Nardi, A. B., Ferreira, E., Horta, R. S., Firmo, B. F., Sueiro, F. A. R., Rodrigues, L. C. S., & Nakagaki, K. Y. R. (2020). Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine and feline mammary tumors-2019. In *Brazilian Journal of Veterinary Pathology* (Vol. 13, Issue 3). https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v13i3p555-574

Cassali, G. D., Lavalle, G. E., de Nardi, A. B., Ferreira, E., Bertagnolli, A. C., Estrela-Lima, A., Alessi, A. C., Daleck, C. R., Salgado, B. S., Fernandes, C. G., Sobral, R. A., Amorim, R. L., Gamba, C. O., Damasceno, K. A., Auler, P. A., Magalhães, G. M., Silva, J. O., Raposo, J. B., Ferreira, A. M. R. F., … Campos, C. B. (2011). Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. In *Brazilian Journal of Veterinary Pathology* (Vol. 4, Issue 2).

Chang, S. C., Chang, C. C., Chang, T. J., & Wong, M. L. (2005). Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 Cases (1998-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *227*(10). https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1625

Chocteau, F., Mordelet, V., Dagher, E., Loussouarn, D., Abadie, J., & Nguyen, F. (2021). One-year conditional survival of dogs and cats with invasive mammary carcinomas: A concept inspired from human breast cancer. *Veterinary and Comparative Oncology*, *19*(1). https://doi.org/10.1111/vco.12655

Chu, L. L., Rutteman, G. R., Kong, J. M. C., Ghahremani, M., Schmeing, M., Misdorp, W., van Garderen, E., & Pelletier, J. (1998). Genomic organization of the canine p53

gene and its mutational status in canine mammary neoplasia. *Breast Cancer Research and Treatment*, *50*(1). https://doi.org/10.1023/A:1006010526813

Clark, T. G., Bradburn, M. J., Love, S. B., & Altman, D. G. (2003). Survival Analysis Part I: Basic concepts and first analyses. In *British Journal of Cancer* (Vol. 89, Issue 2). https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601118

Clemente, M., Pérez-Alenza, M. D., & Peña, L. (2010). Metastasis of canine inflammatory versus non-inflammatory mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*, *143*(2–3). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.02.002

Collivignarelli, F., Tamburro, R., Aste, G., Falerno, I., Signore, F. del, Simeoni, F., Patsikas, M., Gianfelici, J., Terragni, R., Attorri, V., Carluccio, A., & Vignoli, M. (2021). Lymphatic drainage mapping with indirect lymphography for canine mammary tumors. *Animals*, *11*(4). https://doi.org/10.3390/ani11041115

Costa, A., Oliveira, J. T., Gärtner, F., Kohn, B., Gruber, A. D., & Klopfleisch, R. (2011). Potential markers for detection of circulating canine mammary tumor cells in the peripheral blood. *Veterinary Journal*, *190*(1). https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.09.027

Davidson, A. P., & Stabenfeldt, G. H. (2020). The Mammary Gland and Lactation. In B. G. Klein (Ed.), *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology* (6th ed., pp. 458–470). Elsevier, Inc.

de Oliveira, J. T., de Matos, A. J. F., Gomes, J., Vilanova, M., Hespanhol, V., Manninen, A., Rutteman, G., Chammas, R., Grtner, F., & Bernardes, E. S. (2010). Coordinated expression of galectin-3 and galectin-3-binding sites in malignant mammary tumors: Implications for tumor metastasis. *Glycobiology*, *20*(11). https://doi.org/10.1093/glycob/cwq103

de Oliveira, J. T., de Matos, A. J., Barros, R., Ribeiro, C., Chen, A., Hespanhol, V., Rutteman, G. R., & Gartner, F. (2014). Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in canine non-malignant and malignant mammary tissues and in progression to metastases in mammary tumors. *Anticancer Research*, *34*(5).

de Oliveira, J. T., Pinho, S. S., de Matos, A. J., Hespanhol, V., Reis, C. A., & Gärtner, F. (2009). MUC1 expression in canine malignant mammary tumours and relationship to clinicopathological features. *Veterinary Journal*, *182*(3). https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.09.007

de Oliveira, J. T., Ribeiro, C., Barros, R., Gomes, C., de Matos, A. J., Reis, C. A., Rutteman, G. R., & Gärtner, F. (2015a). Hypoxia up-regulates galectin-3 in mammary tumor progression and metastasis. *PLoS ONE*, *10*(7). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134458

de Oliveira, J. T., Santos, A. L., Gomes, C., Barros, R., Ribeiro, C., Mendes, N., de Matos, A. J., Vasconcelos, M. H., Oliveira, M. J., Reis, C. A., & Gärtner, F. (2015b). Anti-influenza neuraminidase inhibitor oseltamivir phosphate induces canine mammary cancer cell aggressiveness. *PLoS ONE*, *10*(4). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121590

Denies, S., Cicchelero, L., de Rooster, H., Daminet, S., Polis, I., van de Maele, I., & Sanders, N. N. (2017). Immunological and angiogenic markers during metronomic temozolomide and cyclophosphamide in canine cancer patients. *Veterinary and Comparative Oncology*, *15*(2). https://doi.org/10.1111/vco.12203

Dobson, J. M. (2016). Clinical staging and the TNM classification. In J. M. Dobson, B. Duncan, & X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3rd ed., pp. 20–29). BSAVA.

Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., & Wood, J. L. N. (2002). Canine neoplasia in the UK: Estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *Journal of Small Animal Practice*, *43*(6). https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x

Dong, F., Irshad, H., Oh, E. Y., Lerwill, M. F., Brachtel, E. F., Jones, N. C., Knoblauch, N. W., Montaser-Kouhsari, L., Johnson, N. B., Rao, L. K. F., Faulkner-Jones, B., Wilbur, D. C., Schnitt, S. J., & Beck, A. H. (2014). Computational pathology to discriminate benign from malignant intraductal proliferations of the breast. *PLoS ONE*, *9*(12). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114885

Duda, N. C. B., Valle, S. de F., Matheus, J. P., Angeli, N. C., Vieira, L. C., Oliveira, L. O., Sonne, L., & González, F. H. D. (2017). Paraneoplastic hematological, biochemical, and hemostatic abnormalities in female dogs with mammary neoplasms. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, *37*(5), 479–484. https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000500009

Egenvall, A., Bonnett, B. N., Öhagen, P., Olson, P., Hedhammar, Å., & von Euler, H. (2005). Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Preventive Veterinary Medicine*, *69*(1–2). https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.01.014

Eisen, A., Lubinski, J., Klijn, J., Moller, P., Lynch, H. T., Offit, K., Weber, B., Rebbeck, T., Neuhausen, S. L., Ghadirian, P., Foulkes, W. D., Gershoni-Baruch, R., Friedman, E., Rennert, G., Wagner, T., Isaacs, C., Kim-Sing, C., Ainsworth, P., Sun, P., & Narod, S. A. (2005). Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: An International Case-Control Study. *Journal of Clinical Oncology*, *23*(30). https://doi.org/10.1200/JCO.2004.00.7138

Euler, H. von. (2011). Tumours of the mammary glands. In J. M. Dobson & B. Duncan X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3rd ed., pp. 237–243). British Small Animal Veterinary Association.

Evans, B. J., Holt, D. E., Stefanovski, D., & Sorenmo, K. U. (2021). Factors influencing complications following mastectomy procedures in dogs with mammary gland tumors: 140 cases (2009-2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *258*(3). https://doi.org/10.2460/JAVMA.258.3.295

Fossum, T. W. (2013). NEOPLASIA MAMÁRIA. In T. W. Fossum (Ed.), *CIRURGIA de Pequenos Animais* (4th ed., pp. 2278–2292). Mosby.

Garamvölgyi, R., Petrási, Z., Hevesi, Á., Jakab, C., Vajda, Z., Bogner, P., & Repa, I. (2006). Magnetic resonance imaging technique for the examination of canine mammary tumours. *Acta Veterinaria Hungarica*, *54*(2).

Gedon, J., Wehrend, A., Failing, K., & Kessler, M. (2021). Canine mammary tumours: Size matters–a progression from low to highly malignant subtypes. *Veterinary and Comparative Oncology*, *19*(4). https://doi.org/10.1111/vco.12649

Giantonio, B. J., Catalano, P. J., Meropol, N. J., O'Dwyer, P. J., Mitchell, E. P., Alberts, S. R., Schwartz, M. A., & Benson, A. B. (2007). Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: Results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *Journal of Clinical Oncology*, *25*(12). https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.6305

Goldschmidt, M. H., Peña, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, *48*(1). https://doi.org/10.1177/0300985810393258

Gundim, L. F., de Araújo, C. P., Blanca, W. T., Guimarães, E. C., & Medeiros, A. A. (2016). Clinical staging in bitches with mammary tumors: Influence of type and histological grade. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *80*(4).

Gustafson, D. L., & Bailey, D. B. (2019). Cancer Chemotherapy. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 182–208). Elsevier.

Harvey, H. J., & Miller, J. M. (2021). Mammary glands: Mastectomy. In Bojrab M.J., Waldron D.R., & Toombs J.P. (Eds.), *Current Techniques in Small Animal Surgery* (5th ed.). Teton NewMedia. https://doi.org/10.1201/b17702

Hermo, G. A., Turic, E., Angelico, D., Scursoni, A. M., Gomez, D. E., Gobello, C., & Alonso, D. F. (2011). Effect of adjuvant perioperative desmopressin in locally advanced canine mammary carcinoma and its relation to histologic grade. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *47*(1). https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5509

Hieke, S., Kleber, M., König, C., Engelhardt, M., & Schumacher, M. (2015). Conditional survival: A useful concept to provide information on how prognosis evolves over

time. *Clinical Cancer Research*, *21*(7). https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2154

Hinrichs, U., Rutteman, G. R., & Nederbragt, H. (1999). Stromal accumulation of chondroitin sulphate in mammary tumours of dogs. *British Journal of Cancer*, *80*(9). https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690529

Horta, R. S., Figueiredo, M. S., Lavalle, G. E., Costa, M. P., Cunha, R. M. C., & Araújo, R. B. (2015). Surgical stress and postoperative complications related to regional and radical mastectomy in dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *57*(1). https://doi.org/10.1186/s13028-015-0121-3

Im, K. S., Kim, N. H., Lim, H. Y., Kim, H. W., Shin, J. I., & Sur, J. H. (2014). Analysis of a New Histological and Molecular-Based Classification of Canine Mammary Neoplasia. *Veterinary Pathology*, *51*(3). https://doi.org/10.1177/0300985813498780

Jabara, A. G. (1960). CANINE MIXED TUMOURS. *Australian Veterinary Journal*, *36*(5). https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1960.tb08593.x

Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., & Dessiris, A. (2005). Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: Application of a human grading method. *Journal of Comparative Pathology*, *133*(4). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.05.003

Kaszak, I., Ruszczak, A., Kanafa, S., Kacprzak, K., Król, M., & Jurka, P. (2018). Current biomarkers of canine mammary tumors. In *Acta Veterinaria Scandinavica* (Vol. 60, Issue 1). https://doi.org/10.1186/s13028-018-0417-1

Kerbel, R. S. (2006). Antiangiogenic therapy: A universal chemosensitization strategy for cancer? In *Science* (Vol. 312, Issue 5777). https://doi.org/10.1126/science.1125950

Khanna, C., & Foskett, A. (2017). The Hallmarks/Origin of Cancer. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman, & E. Côté (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine DISEASES OF THE DOG AND THE CAT* (8th ed., Vol. 2, pp. 4924–4929). Elsevier.

Khanna, C., & Hunter, K. (2005). Modeling metastasis in vivo. In *Carcinogenesis* (Vol. 26, Issue 3, pp. 513–523). https://doi.org/10.1093/carcin/bgh261

Kim, H. W., Lim, H. Y., Shin, J. il, Seung, B. J., Ju, J. H., & Sur, J. H. (2016). Breed- and age-related differences in canine mammary tumors. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *80*(2).

Kim, S., Bok, E., Lee, S., Lee, H. J., Choe, Y., Kim, N. H., Lee, W. J., Rho, G. J., & Lee, S. L. (2021). Metastasis prognostic factors and cancer stem cell-related transcription factors associated with metastasis induction in canine metastatic mammary gland tumors. *Journal of Veterinary Science*, *22*. https://doi.org/10.4142/JVS.2021.22.E62

Klement, G., Baruchel, S., Rak, J., Man, S., Clark, K., Hicklin, D. J., Bohlen, P., & Kerbel, R. S. (2006). Erratum: Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity (Journal of Clinical Investigation (2000) 105 (R15-R24)). In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 116, Issue 10). https://doi.org/10.1172/JCI08829C1

Klopfleisch, R., Lenze, D., Hummel, M., & Gruber, A. D. (2011). The metastatic cascade is reflected in the transcriptome of metastatic canine mammary carcinomas. *Veterinary Journal*, *190*(2). https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.10.018

König H. E. (2004). Mammary gland (mamma, uber, mastos). In König H. E. & H. Bragulla (Eds.), *Anatomy of domestic mammals: Textbook and colour atlas* (3rd ed., pp. 595–603). Schattauer GmbH.

Krekeler, N., Davies, H. M. S., & Beck, C. (2021). Pelvic Organs. In J. A. Orsini, N. S. Grenager, & A. Lahunta (Eds.), *Comparative Veterinary Anatomy: A Clinical Approac* (1st ed., pp. 360–372). Elsevier Inc.

Kuntz, C. A., Dernell, W. S., Powers, B. E., & Withrow, S. (1998). Extraskeletal Osteosarcomas in Dogs: 14 Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *34*(1). https://doi.org/10.5326/15473317-34-1-26

Lamp, O., Honscha, K. U., Schweizer, S., Heckmann, A., Blaschzik, S., & Einspanier, A. (2013). The metastatic potential of canine mammary tumours can be assessed by mRNA expression analysis of connective tissue modulators. *Veterinary and Comparative Oncology*, *11*(1). https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00303.x

Lana S. E., Rutteman G. R, & Withrow S. J. (2007). Tumors of the mammary gland. In S. J. Withrow & D. M. Vail (Eds.), *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (3rd ed., pp. 619–636). Saunders Elsevier.

Lana, S. E., & Dobson, J. M. (2016). Principles of chemotherapy. In J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3rd ed., pp. 60–79). BSAVA.

Lantinga-van Leeuwen, I. S., van Garderen, E., Rutteman, G. R., & Mol, J. A. (2000). Cloning and cellular localization of the canine progesterone receptor: Co-localization with growth hormone in the mammary gland. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *75*(4–5). https://doi.org/10.1016/S0960-0760(00)00173-4

Lavalle, G. E., de Campos, C. B., Bertagnolli, A. C., & Cassali, G. D. (2012). Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. *In Vivo*, *26*(3).

Lombardi, P., Florio, S., Pagnini, U., Crispino, A., & Avallone, L. (1999). Ovarian function suppression with a GnRH analogue: D-ser(But[t])[6]-Arzgly[10]-LHRH (Goserelin) in hormone dependent canine mammary cancer. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, *22*(1). https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1999.00184.x

Marconato, L., Romanelli, G., Stefanello, D., Giacoboni, C., Bonfanti, U., Bettini, G., Finotello, R., Verganti, S., Valenti, P., Ciaramella, L., & Zini, E. (2009). Prognostic factors for dogs with mammary inflammatory carcinoma: 43 cases (2003-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *235*(8). https://doi.org/10.2460/javma.235.8.967

Matos, A. J. F., Faustino, A. M. R., Lopes, C., Rutteman, G. R., & Gärtner, F. (2006b). Detection of lymph node micrometastases malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. *Veterinary Record*, *158*(18). https://doi.org/10.1136/vr.158.18.626

Matos, A. J. F., Lopes, C. C. C., Faustino, A. M. R., Carvalheira, J. G. V., dos Santos, M. S. A., Rutteman, G. R., & Gärtner, M. D. F. R. M. (2006c). MIB-1 labelling indices according to clinico-pathological variables in canine mammary tumours: a multivariate study. *Anticancer Research*, *26*(3A).

Matos, A. J. F., Lopes, C. C. C., Faustino, A. M. R., Carvalheira, J. G. V., Rutteman, G. R., & Gärtner, M. D. F. R. M. (2007). E-cadherin, β-catenin, invasion and lymph node metastases in canine malignant mammary tumours. *APMIS*, *115*(4). https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_544.x

Matos, A. J. F., Lopes, C., Carvalheira, J., Santos, M., Rutteman, G. R., & Gärtner, F. (2006a). E-cadherin Expression in Canine Malignant Mammary Tumours: Relationship to Other Clinico-Pathological Variables. *Journal of Comparative Pathology*, *134*(2–3). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.10.004

Matsuyama, A., Woods, J. P., & Mutsaers, A. J. (2017). Evaluation of toxicity of a chronic alternate day metronomic cyclophosphamide chemotherapy protocol in dogs with naturally occurring cancer. *Canadian Veterinary Journal*, *58*(1).

medac. (2019). *Doxorrubicina medac*. Https://Www.Medac.Pt/Medicamentos-Medac/Doxorrubicina-Medac/.

Mellanby, R. (2016). Paraneoplastic syndromes. In J. M. Dobson, B. Duncan, & X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3rd ed., pp. 30–39). BSAVA.

Millanta, F., Asproni, P., Canale, A., Citi, S., & Poli, A. (2016). COX-2, mPGES-1 and EP2 receptor immunohistochemical expression in canine and feline malignant mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, *14*(3). https://doi.org/10.1111/vco.12096

Misdorp, W., Else, R. W., Hellmén, E., & Lipscomb, T. P. (1999). Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. In *World Health Organization International Histological Classification of Tumours of Domestic Animals* (2nd ed., Vol. 7). Armed Forces Institute of Pathology.

Nemanic, S., London, C. A., & Wisner, E. R. (2006). Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *20*(3). https://doi.org/10.1892/0891-6640(2006)20[508:COTRAS]2.0.CO;2

North, S. M., & Banks, T. A. (2009). Tumours of the urogenital tract. In S. M. North & T. A. Banks (Eds.), *Small Animal Oncology* (1st ed., pp. 151–171). Elsevier Limited.

Nyman, H. T., Nielsen, O. L., McEvoy, F. J., Lee, M. H., Martinussen, T., Hellmén, E., & Kristensen, A. T. (2006). Comparison of B-mode and Doppler ultrasonographic findings with histologic features of benign and malignant mammary tumors in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, *67*(6). https://doi.org/10.2460/ajvr.67.6.985

Otoni, C. C., Rahal, S. C., Vulcano, L. C., Ribeiro, S. M., Hette, K., Giordano, T., Doiche, D. P., & Amorim, R. L. (2010). Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *52*(1). https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-20

Pastor, N., Caballé, N. C., Santella, M., Ezquerra, L. J., Tarazona, R., & Duran, E. (2018). Epidemiological study of canine mammary tumors: Age, breed, size and malignancy. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, *50*(3). https://doi.org/10.4067/s0719-81322018000300143

Patsikas, M. N., Karayannopoulou, M., Kaldrymidoy, E., Papazoglou, L. G., Papadopoulou, P. L., Tzegas, S. I., Tziris, N. E., Kaitzis, D. G., Dimitriadis, A. S., & Dessiris, A. K. (2006). The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: A lymphographic study. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, *35*(4). https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2005.00664.x

Peña, L., de Andrés, P. J., Clemente, M., Cuesta, P., & Pérez-Alenza, M. D. (2013). Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up: Relationship With Clinical and Histological Characteristics. *Veterinary Pathology*, *50*(1). https://doi.org/10.1177/0300985812447830

Pereira, C. T., Rahal, S. C., de Carvalho Balieiro, J. C., & Ribeiro, A. A. C. M. (2003). Lymphatic drainage on healthy and neoplasic mammary glands in female dogs: Can it really be altered? *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, *32*(5). https://doi.org/10.1046/j.1439-0264.2003.00485.x

Pereira, P. D., Lopes, C. C., Matos, A. J. F., Pinto, D., Gärtner, F., Lopes, C., & Medeiros, R. (2009b). Influence of catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes on the prognosis of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, *46*(6). https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0298-D-FL

Pereira, P.D., Lopes, C. C., Matos, A. J. F., Cortez, P. P., Gärtner, F., Medeiros, R., & Lopes, C. (2010). Caveolin-1 in diagnosis and prognosis of canine mammary tumours: Comparison of evaluation systems. *Journal of Comparative Pathology*, *143*(2–3). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.01.002

Pereira, P.D., Lopes, C. C., Matos, A. J. F., Pinto, D., Gärtner, F., Lopes, C., & Medeiros, R. (2008). Estrogens metabolism associated with polymorphisms: Influence of COMT G482a genotype on age at onset of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, *45*(2). https://doi.org/10.1354/vp.45-2-124

Pereira, P.D., Lopes, C. C., Matos, A. J. F., Santos, M., Gärtner, F., Medeiros, R., & Lopes, C. (2009a). COX-2 Expression in Canine Normal and Neoplastic Mammary Gland. *Journal of Comparative Pathology*, *140*(4). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.12.005

Petrucci, G. N., Henriques, J., Lobo, L., Vilhena, H., Figueira, A. C., Canadas-Sousa, A., Dias-Pereira, P., Prada, J., Pires, I., & Queiroga, F. L. (2021). Adjuvant doxorubicin vs metronomic cyclophosphamide and meloxicam vs surgery alone for cats with

mammary carcinomas: A retrospective study of 137 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, *19*(4). https://doi.org/10.1111/vco.12660

Pinello, K., Amorim, I., Pires, I., Canadas-Sousa, A., Catarino, J., Faísca, P., Branco, S., Peleteiro, M. C., Silva, D., Severo, M., & Niza-Ribeiro, J. (2022a). Vet-OncoNet: Malignancy Analysis of Neoplasms in Dogs and Cats. *Veterinary sciences*, *9*(10), 535. https://doi.org/10.3390/vetsci9100535

Pinello, K., Pires, I., Castro, A. F., Carvalho, P. T., Santos, A., de Matos, A., Queiroga, F., & Niza-Ribeiro, J. (2022b). Vet-OncoNet: Developing a Network of Veterinary Oncology and Reporting a Pioneering Portuguese Experience. *Veterinary Sciences*, *9*(2). https://doi.org/10.3390/vetsci9020072

Pinello, K., Pires, I., Castro, A. F., Carvalho, P. T., Santos, A., de Matos, A., ... & Niza-Ribeiro, J. (2022c). Cross Species Analysis and Comparison of Tumors in Dogs and Cats, by Age, Sex, Topography and Main Morphologies. Data from Vet-OncoNet. *Veterinary Sciences*, *9*(4), 167.

Pinho, S. S., Matos, A. J. F., Lopes, C., Marcos, N. T., Carvalheira, J., Reis, C. A., & Gärtner, F. (2007). Sialyl Lewis x expression in canine malignant mammary tumours: Correlation with clinicopathological features and E-Cadherin expression. *BMC Cancer*, *7*. https://doi.org/10.1186/1471-2407-7-124

Priester, W. A. (1979). Occurrence of mammary neoplasms in bitches in relation to breed, age, tumour type, and geographical region from which reported. *Journal of Small Animal Practice*, *20*(1). https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1979.tb07014.x

Queiroga, F. & Lopes, C. (2002a). Tumores mamários caninos – Novas perspectivas. In: *Congresso de Ciências Veterinárias, Proceedings of the Veterinary Sciences Congress*, Oeiras, Portugal, 10-12 Outubro, pp. 183-190.

Queiroga, F. L., Pérez-Alenza, M. D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., & Illera, J. C. (2005). Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *94*(1-3 SPEC. ISS.). https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.12.014

Queiroga, F., & Lopes, C. (2002b). Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97: 119-127.

Rasotto, R., Berlato, D., Goldschmidt, M. H., & Zappulli, V. (2017). Prognostic Significance of Canine Mammary Tumor Histologic Subtypes: An Observational Cohort Study of 229 Cases. *Veterinary Pathology*, *54*(4). https://doi.org/10.1177/0300985817698208

Ribeiro, C., Santos, M. S. á., de Matos, A. J., Barros, R., Gärtner, F., Rutteman, G. R., & de Oliveira, J. T. (2016). Serum Galectin-3 Levels in Dogs with Metastatic and Non-metastatic Mammary Tumors. *In Vivo (Athens, Greece)*, *30*(1).

Rivera, P. J., Melin, M., Biagi, T., Fall, T., Häggström, J., Lindblad-Toh, K., & von Euler, H. (2009). Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Research*, *69*(22). https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1725

Rodríguez, J., Santana, Á., Herráez, P., Killick, D. R., & de Los Monteros, A. E. (2022). Epidemiology of canine mammary tumours on the Canary Archipelago in Spain. *BMC veterinary research*, *18*(1), 268. https://doi.org/10.1186/s12917-022-03363-9

Rossi, F., Sabattini, S., Vascellari, M., & Marconato, L. (2018). The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, *16*(4). https://doi.org/10.1111/vco.12407

Rutteman, G. R., Foekens, J. A., Portengen, H., Vos, J. H., Blankenstein, M. A., Teske, E., Cornelisse, C. J., & Misdorp, W. (1994). Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in non-affected and tumorous mammary tissue of female dogs. *Breast Cancer Research and Treatment*, *30*(2). https://doi.org/10.1007/BF00666057

Rutteman, G. R., Misdorp, W., Misdorp, W., Blankenstein, M. A., & van den Brom, W. E. (1988). Oestrogen (ER) and progestin receptors (PR) in mammary tissue of the

female dog: Different receptor profile in non-malignant and malignant states. *British Journal of Cancer*, *58*(5). https://doi.org/10.1038/bjc.1988.266

Rutteman, G. R., Willekes-Koolschijn, N., Bevers, M. M., van der Gugten, A. A., & Misdorp, W. (1986). Prolactin binding in benign and malignant mammary tissue of female dogs. *Anticancer Research*, *6*(4).

Saba, C. F., Rogers, K. S., Newman, S. J., Mauldin, G. E., & Vail, D. M. (2007). Mammary gland tumors in male dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *21*(5). https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[1056:MGTIMD]2.0.CO;2

Salas, Y., Márquez, A., Diaz, D., & Romero, L. (2015). Epidemiological study of mammary tumors in female dogs diagnosed during the period 2002-2012: A growing animal health problem. *PLoS ONE*, *10*(5). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127381

Santos, A. A. F., Oliveira, J. T., Lopes, C. C. C., Amorim, I. F., Vicente, C. M. F. B., Gärtner, F. R. M., & Matos, A. J. F. (2010). Immunohistochemical Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Canine Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology*, *143*(4). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.04.006

Santos, A. A., & Matos, A. J. F. (2015). Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. In *Veterinary Journal* (Vol. 205, Issue 2). https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.03.029

Santos, A. A., Lopes, C. C., Marques, R. M., Amorim, I. F., Gärtner, M. F., & de Matos, A. J. F. (2012). Matrix metalloproteinase-9 expression in mammary gland tumors in dogs and its relationship with prognostic factors and patient outcome. *American Journal of Veterinary Research*, *73*(5). https://doi.org/10.2460/ajvr.73.5.689

Santos, A. A., Lopes, C. C., Ribeiro, J. R., Martins, L. R., Santos, J. C., Amorim, I. F., Gärtner, F., & Matos, A. J. (2013). Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumours: A multivariable survival study. *BMC Veterinary Research*, *9*. https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-1

Santos, A., Lopes, C., Gärtner, F., & Matos, A. J. F. (2016). VEGFR-2 expression in malignant tumours of the canine mammary gland: a prospective survival study. *Veterinary and Comparative Oncology*, *14*(3). https://doi.org/10.1111/vco.12107

Schneider, R., Dorn, C. R., & Taylor, D. O. (1969). Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal of the National Cancer Institute*, *43*(6), 1249–1261.

Silver, I. A. (1966). Symposium on Mammary Neoplasia in the Dog and Cat—I The Anatomy of the Mammary Gland of the Dog and Cat. *Journal of Small Animal Practice*, *7*(11). https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1966.tb04394.x

Sleeckx, N., de Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E. J. B., van Ginneken, C., & van Brantegem, L. (2011). Canine mammary tumours, an Overview. In *Reproduction in Domestic Animals* (Vol. 46, Issue 6). https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x

Smith, A. N. (2014). The role of neutering in cancer development. In *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 44, Issue 5). https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.06.003

Soler, M., Dominguez, E., Lucas, X., Novellas, R., Gomes-Coelho, K. V., Espada, Y., & Agut, A. (2016). Comparison between ultrasonographic findings of benign and malignant canine mammary gland tumours using B-mode, colour Doppler, power Doppler and spectral Doppler. *Research in Veterinary Science*, *107*. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.05.015

Sorenmo, K. U., Durham, A. C., Kristiansen, V., Pena, L., Goldschmidt, M. H., & Stefanovski, D. (2019a). Developing and testing prognostic bio-scoring systems for canine mammary gland carcinomas. *Veterinary and Comparative Oncology*, *17*(4). https://doi.org/10.1111/vco.12509

Sorenmo, K. U., Durham, A. C., Radaelli, E., Kristiansen, V., Peña, L., Goldschmidt, M. H., & Stefanovski, D. (2019b). The estrogen effect; Clinical and histopathological evidence of dichotomous influences in dogs with spontaneous mammary carcinomas. *PLoS ONE*, *14*(10). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224504

Sorenmo, K. U., Kristiansen, V. M., Cofone, M. A., Shofer, F. S., Breen, A. M., Langeland, M., Mongil, C. M., Grondahl, A. M., Teige, J., & Goldschmidt, M. H. (2009). Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Veterinary and Comparative Oncology*, *7*(3). https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00184.x

Sorenmo, K. U., Rasotto, R., Zappulli, V., & Goldschmidt, M. H. (2011). Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Veterinary Pathology*, *48*(1). https://doi.org/10.1177/0300985810389480

Sorenmo, K. U., Worley, D. R., & Zappulli, V. (2020a). Tumors of the Mammary Gland. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak (Eds.), *Withrow; MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 604–615). Elsevier, Inc.

Sorenmo, K., Durham, A. C., Evans, B., Scavello, H., & Stefanovski, D. (2020b). A prospective randomized trial of desmopressin in canine mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, *18*(4). https://doi.org/10.1111/vco.12619

Spoerri, M., Guscetti, F., Hartnack, S., Boos, A., Oei, C., Balogh, O., Nowaczyk, R. M., Michel, E., Reichler, I. M., & Kowalewski, M. P. (2015). Endocrine control of canine mammary neoplasms: Serum reproductive hormone levels and tissue expression of steroid hormone, prolactin and growth hormone receptors. *BMC Veterinary Research*, *11*(1). https://doi.org/10.1186/s12917-015-0546-y

Stein, T. J. (2017). Paraneoplastic Syndromes. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman, & E. Côté (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine DISEASES OF THE DOG AND THE CAT* (8th ed., Vol. 2, pp. 5167–5177). Elsevier.

Stel, V. S., Dekker, F. W., Tripepi, G., Zoccali, C., & Jager, K. J. (2011). Survival analysis I: The Kaplan-Meier method. *Nephron - Clinical Practice*, *119*(1). https://doi.org/10.1159/000324758

StØvring, M., Moe, L., & Glattre, E. (1997). A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *APMIS*, *105*(8). https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1997.tb05057.x

Stratmann, N., Failing, K., Richter, A., & Wehrend, A. (2008). Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Veterinary Surgery*, *37*(1). https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2007.00351.x

Tagawa, M., Kanai, E., Shimbo, G., Kano, M., & Kayanuma, H. (2016). Ultrasonographic evaluation of depth–width ratio (D/W) of benign and malignant mammary tumors in dogs. In *Journal of Veterinary Medical Science* (Vol. 78, Issue 3). https://doi.org/10.1292/jvms.15-0456

Tavares, C., de Oliveira, J. T., Lopes, C., Carvalheira, J., Matos, A. J. F., Rutteman, G., Reis, C. A., & Gärtner, F. (2012). Mucin 6 and Tn Antigen Expression in Canine Mammary Tumours: Correlation with Pathological Features. *Journal of Comparative Pathology*, *147*(4). https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.03.007

Tavares, W. L. F., Lavalle, G. E., Figueiredo, M. S., Souza, A. G., Bertagnolli, A. C., Viana, F. A. B., Paes, P. R. O., Carneiro, R. A., Cavalcanti, G. A. O., Melo, M. M., & Cassali, G. D. (2010). Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *52*(1). https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-67

Teske, E., Rutteman, G. R., Ted, T. S. G. A. M., van Noort, R., & Misdorp, W. (1998). Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine (L-MTP-PE): A randomized clinical trial in dogs with mammary carcinoma. *Anticancer Research*, *18*(2 A).

Thumser-Henner, P., Nytko, K. J., & Rohrer Bley, C. (2020). Mutations of BRCA2 in canine mammary tumors and their targeting potential in clinical therapy. In *BMC Veterinary Research* (Vol. 16, Issue 1). https://doi.org/10.1186/s12917-020-2247-4

Torres, C. G., Iturriaga, M. P., & Cruz, P. (2021). Hormonal carcinogenesis in canine mammary cancer: Molecular mechanisms of estradiol involved in malignant progression. In *Animals* (Vol. 11, Issue 3). https://doi.org/10.3390/ani11030608

Vafaei, R., Samadi, M., Hosseinzadeh, A., Barzaman, K., Esmailinejad, M. R., Khaki, Z., & Farahmand, L. (2022). Comparison of mucin-1 in human breast cancer and canine

mammary gland tumor: a review study. In *Cancer Cell International* (Vol. 22, Issue 1). https://doi.org/10.1186/s12935-021-02398-6

Valdivia, G., Alonso-Diez, Á., Pérez-Alenza, D., & Peña, L. (2021). From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 8). https://doi.org/10.3389/fvets.2021.623800

van Garderen, E., de Wit, M., Voorhout, W. F., Rutteman, G. R., Mol, J. A., Nederbragt, H., & Misdorp, W. (1997). Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors: Evidence for a potential autocrine/paracrine stimulatory loop. *American Journal of Pathology*, *150*(3).

van Garderen, E., van der Poel, H. J. A., Swennenhuis, J. F., Wissink, E. H. J., Rutteman, G. R., Hellmén, E., Mol, J. A., & Schalken, J. A. (1999). Expression and molecular characterization of the growth hormone receptor in canine mammary tissue and mammary tumors. *Endocrinology*, *140*(12). https://doi.org/10.1210/endo.140.12.7189

van Leeuwen, I. S., Hellmèn, E., Cornelisse, C. J., van Burgh, B. den, & Rutteman, G. R. (1996). p53 mutations in mammary tumor cell lines and corresponding tumor tissues in the dog. *Anticancer Research*, *16*(6 B).

Vascellari, M., Capello, K., Carminato, A., Zanardello, C., Baioni, E., & Mutinelli, F. (2016). Incidence of mammary tumors in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy): Risk factors and similarities to human breast cancer. *Preventive Veterinary Medicine*, *126*. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.02.008

Veronesi, M. C., Battocchio, M., Rizzi, C., & Sironi, G. (2003). Relationship between dysplastic and neoplastic mammary lesions and pseudopregnancy in the bitch. *Veterinary Research Communications*, *27*(SUPPL. 1). https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000014151.28411.7e

Vos, J. H., van den Ingh, T. S., Misdorp, W., Molenbeek, R. F., van Mil, F. N., Rutteman, G. R., Ivanyi, D., & Ramaekers, F. C. (1993). Immunohistochemistry with keratin, vimentin, desmin, and alpha-smooth muscle actin monoclonal antibodies in canine

mammary gland: malignant mammary tumours. *The Veterinary Quarterly*, *15*(3). https://doi.org/10.1080/01652176.1993.9694382

Xu, E., Hu, M., & Liu, Y. (2021). Aspirin inhibits proliferation and metastasis of canine mammary gland tumor cells through Wnt signaling axis. *Translational Cancer Research*, *10*(2). https://doi.org/10.21037/TCR-20-3172

Yoshikawa, Y., Morimatsu, M., Ochiai, K., Ishiguro-Oonuma, T., Wada, S., Orino, K., & Watanabe, K. (2015). Reduced canine BRCA2 expression levels in mammary gland tumors. *BMC Veterinary Research*, *11*(1). https://doi.org/10.1186/s12917-015-0483-9

Apêndice I

UNIVERSIDADE LUSÓFONA — Checklist Tumores Mamários Caninos — fmv faculdade de medicina veterinária

Nome:.....	CAMV:.....
CAMV ID animal:.....	Data: ...../...../.....
Tutor:.....	MV:.....

Consulta Inicial - Anamnese

Espécie:..... Sexo: ♀ ♂

Idade:.....

Raça:..... Peso:.....Kg

Gestações: ◯ Sim ◯ Não Pseudogestações: ◯ Sim ◯ Não Anovulatórios: ◯ Sim ◯ Não

OVH: ◯ Sim ◯ Não OVH antes do 1º Ciclo: ◯ Sim ◯ Não TMC anteriores: ◯ Sim ◯ Não

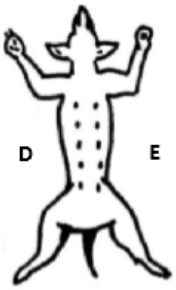
Nódulo

Motivo de consulta - nódulo: ◯ Sim ◯ Não Sinais: ◯ Sim ◯ Não

Quais:.....

Nº de nódulos: ◯ Único ◯ Múltiplos Tamanho nódulo:.....cm

Localização do nódulo:



◯ D1 ◯ D2 ◯ D3 ◯ D4 ◯ D5

◯ E1 ◯ E2 ◯ E3 ◯ E4 ◯ E5

Fixo à pele: ◯ Sim ◯ Não Fixo ao músculo: ◯ Sim ◯ Não

Ulcerado: ◯ Sim ◯ Não Eritema: ◯ Sim ◯ Não

Edema: ◯ Sim ◯ Não Doloroso: ◯ Sim ◯ Não

Quente: ◯ Sim ◯ Não Consistência: ◯ Mole ◯ Média ◯ Firme

Linfonodo (inguinal/axilar): Aumentado: ◯ Sim ◯ Não Assimétricos: ◯ Sim ◯ Não

Comentários:.....

.....

Sara Marques Dez 2022

Apêndice II

UNIVERSIDADE LUSÓFONA

Checklist Tumores Mamários Caninos

fmv faculdade de medicina veterinária

Nome:.....	CAMV:.....
CAMV ID animal:.....	Data: ...../...../.....
Tutor:.....	MV:.....

Consulta Inicial - Estadiamento

Espécie:..... Sexo: ♀ ♂

Idade:.....

Raça:..... Peso:.....Kg

Analises Hematológicas

Hemograma: ◯ Sim ◯ Não Alterações:.....

Bioquímicas: ◯ Sim ◯ Não Quais:.....

Alterações:.....

Ca: ◯ Sim ◯ Não Alterações:..... Urianálise: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

Exames Imagiológicos

Radiografia: ◯ Sim ◯ Não Nº de Projeções:.....

Alterações:.....

Ecografia Abdominal: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

.....

Tomografia Computorizada: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

.....

Citologia

PAAF nódulo: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

PAAF linfonodo: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

Sara Marques Dez 2022

Apêndice III

UNIVERSIDADE LUSÓFONA

Tumores Mamários Caninos

Adaptado de OMS

fmv faculdade de medicina veterinária

Nome:.....	CAMV:.....
CAMV ID animal:.....	Data: ...../...../.....
Tutor:.....	MV:.....

Estadiamento TNM

Espécie:..... Sexo: ♀ ♂

Idade:.....

Raça:..... Peso:.....Kg

Diagnóstico:

Tipo Histológico:.....

Grau Histológico: ◯ I ◯ II ◯ III Localização:.....

Margens Cirúrgicas: ◯ Completas ◯ Incompletas

Estadiamento TNM segundo OMS

T: Tumor Primário

◯ T0 – Sem evidencia de tumor

◯ T1 – Tumor < 3 cm, máximo de diâmetro

◯ T2 – Tumor 3-5 cm, máximo de diâmetro

◯ T3 - Tumor > 5 cm, máximo de diâmetro

N: Linfonodo Regional	LN envolvido		Método de avaliação	
◯ N0 – Sem evidencia de envolvimento do LN	◯ Inguinal	◯ Axilar	◯ Clinico	◯ Histológico
◯ N1 - Envolvimento do LN ipsilateral	◯ Inguinal	◯ Axilar	◯ Clinico	◯ Histológico
◯ N2 - Envolvimento do LN bilateral	◯ Inguinal	◯ Axilar	◯ Clinico	◯ Histológico

M: Metástases à distância	Método de avaliação		
◯ M0 – Sem evidencia de metástases à distância	◯ Clinico	◯ Imagiológico	◯ Histológico
◯ M1 - Metástases à distância, incluindo linfonodos distantes	◯ Clinico	◯ Imagiológico	◯ Histológico

Estadiamento TNM Final: T_____N_____M_____ **Estadio: ◯ I ◯ II ◯ III ◯ IV ◯ V**

Indicação para tratamento adjuvante: ◯ Sim ◯ Não Qual:.....

Quimioterapia: ◯ Sim ◯ Não Protocolo:.....

Sara Marques Dez 2022

Apêndice IV

UNIVERSIDADE LUSÓFONA

Checklist Tumores Mamários Caninos

fmv faculdade de medicina veterinária

Nome:.....	CAMV:.....
CAMV ID animal:.....	Data: ...../...../.....
Tutor:.....	MV:.....

Consulta ..... meses após Diagnóstico

Espécie:..... Sexo: ♀ ♂

Idade:..... Peso:.....Kg

Raça:..... Estadiamento TNM Inicial:.....

Analises Hematológicas

Hemograma: ◯ Sim ◯ Não Alterações:.....

Bioquímicas: ◯ Sim ◯ Não Quais:.....

Alterações:.....

Ca: ◯ Sim ◯ Não Alterações:..... Urianálise: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

Exames Imagiológicos

Radiografia: ◯ Sim ◯ Não Nº de Projeções:.....

Alterações:.....

Ecografia Abdominal: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

.....

Tomografia Computorizada: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

.....

Citologia

PAAF nódulo: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

PAAF linfonodo: ◯ Sim ◯ Não

Alterações:.....

Sara Marques Dez 2022