



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PAPEL DA OVARIOHISTERECTOMIA PRECOCE NA PREVENÇÃO
DA NEOPLASIA MAMÁRIA NA CADELA

CATARINA PATRÍCIO LEITÃO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha
e Vasconcelos Peleteiro

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

ORIENTADOR

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

CO-ORIENTADORA

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PAPEL DA OVARIOHISTERECTOMIA PRECOCE NA PREVENÇÃO
DA NEOPLASIA MAMÁRIA NA CADELA

CATARINA PATRÍCIO LEITÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha
e Vasconcelos Peleteiro

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias
Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

ORIENTADOR

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

CO-ORIENTADORA

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

2015

LISBOA

“Faz o que gostas e não trabalharás nem um dia da tua vida”
Pai

À minha família e amigos.

Agradecimentos

Porque sozinha não só não seria possível como nem faria sentido, gostaria de agradecer,

À Doutora Luísa Mateus pela sua disponibilidade e por me ter apoiado na construção deste trabalho.

Ao Dr Luís Cruz por ter aceitado que eu estagiasse no HVLaranjeiras e por tanto me ter ensinado.

Ao Professor Telmo Nunes pelo tempo e paciência que gastou comigo.

Aos melhores avós do mundo, que eu tanto amo, Aninhas e Patrício.

À minha mãe, a guerreira que sempre fez os possíveis e os impossíveis para eu seja feliz.

Ao meu pai que me ensinou o quão importante é amármos a nossa profissão.

Ao meu maninho, que mesmo com a sua mania de estar sempre longe, continua a estar sempre pertinho no meu coração.

Ao André, que todos os dias me lembra o que é ser feliz.

À Nina e ao Vicente, porque amizade é pouco para descrever o que sinto por eles.

Ao Willy e à Lua que várias vezes me lembraram o porquê de ter embarcado nesta aventura.

Resumo

Papel da ovariectomia precoce na prevenção da neoplasia mamária na cadela

O tumor de mama é o mais comum em cadelas e contabiliza 70% de todos os casos de tumor maligno nesta espécie.

O presente estudo baseia-se em casos clínicos de dois hospitais de Lisboa e o seu objetivo principal foi a avaliação da associação entre a ovariectomia (OVH) precoce na cadela e a ocorrência de neoplasia mamária.

Na amostra estudada, a maioria das cadelas com neoplasia mamária era de raça indeterminada (58,3%) seguida pelas raças Caniche e Cocker Spaniel. O peso vivo médio das cadelas doentes foi de 14,4kg e o das livres de neoplasia mamária foi de 16,3kg.

Dos casos analisados, 88% das neoplasias eram malignas, com uma idade média ao diagnóstico histopatológico de 10 anos. 40% das fêmeas foram sujeitas a mastectomia total unilateral e 33,3% a ovariectomia pós-diagnóstico histopatológico.

Apenas 10% das cadelas com tumor foram submetidas a ovariectomia antes do diagnóstico, tendo sido possível verificar que a OVH preveniu o aparecimento de neoplasia mamária.

Enquanto nenhuma das cadelas com neoplasia foi sujeita a ovariectomia precoce, 18,4% das saudáveis efetuaram esta cirurgia precocemente. Este estudo permitiu corroborar a importância da ovariectomia precoce na prevenção da neoplasia mamária na cadela.

Palavras-chave: cadela; ovariectomia; neoplasia mamária

Abstract

The role of early ovariohysterectomy in the prevention of canine mammary tumor

Mammary tumors are the most common in the bitch, representing 70% of all malignant tumour cases in the species.

The current study is based on clinical cases from two Lisbon hospitals and aim to evaluate the association between early ovariohysterectomy (OVH) of the bitch and the occurrence of mammary neoplasia.

In the cases studied, the majority of the bitches with mammary neoplasia were mixed breed dogs (58,3%), followed by the Poodle and the Cocker Spaniel. The average live weight of the bitches with mammary cancer was 14,4 kg and of the mammary neoplasia free ones was 16,3kg.

From the analysed cases, 88% of the tumours were malignant with a mean age at histopathological diagnosis of 10 years. 40% of the females were subjected to total unilateral mastectomy and 33,3% were subject to post-diagnostic ovariohysterectomy.

Only 10% of the females with tumors were submitted to ovariohysterectomy before diagnosis, being possible to verify that OVH prevented the onset of mammary neoplasia.

While none of the bitches with neoplasia was subject to early ovariohysterectomy, 18,4% of the heathy ones were subject to this early surgery. This study allowed us to corroborate of the fact of early ovariohysterectomy prevents mammary neoplasia in the bitch.

Key-words: bitch, ovariohysterectomy, mammary neoplasia

Índice geral

	Página
Agradecimentos.....	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Índice geral.....	iv
Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	vii
Lista de abreviaturas.....	ix
1 Breve descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular.....	1
1.1 O Hospital e a equipa	1
1.2 Atividades desenvolvidas	2
1.2.1 Consultas.....	2
1.2.2 Internamento e cuidados intensivos.....	2
1.2.3 Cirurgia e anestesia.....	3
1.2.4 Meios complementares de diagnóstico.....	3
1.2.5 Urgências	4
1.2.6 Outras intervenções	4
2 Revisão bibliográfica	5
2.1 Introdução.....	5
2.2 Anatomia e fisiologia da glândula mamária.....	5
2.3 Epidemiologia	7
2.3.1 Idade	7
2.3.2 Raça	7
2.3.3 Sexo e exposição hormonal	7
2.3.4 Dieta.....	8
2.4 Etiologia	8
2.4.1 Fatores hormonais.....	8
2.5 Prevenção	10
2.5.1 Ovariohisterectomia precoce	10
2.5.2 Dieta.....	10
2.6 Diagnóstico.....	10
2.6.1 Anamnese e Exame físico.....	11
2.6.2 Estadiamento clínico – TNM.....	11
2.6.3 Diagnóstico citológico	13
2.6.4 Diagnóstico histológico	13
2.6.5 Biomarcadores	14
2.7 Prognóstico.....	15

2.7.1	Características do paciente	15
2.7.2	Dimensão tumoral	15
2.7.3	Metástases ganglionares e metástases à distância	16
2.7.4	Tipo de cirurgia	16
2.7.5	OVH	16
2.7.6	Tipo histológico e grau de malignidade	16
2.7.7	Biomarcadores.....	17
2.8	Tratamento	18
2.8.1	Cirúrgico.....	18
2.8.2	Anti-inflamatórios não esteróides	19
2.8.3	Quimioterapia.....	20
3	Papel da ovariectomia precoce na prevenção da neoplasia mamária na cadela	21
3.1	Introdução	21
3.2	Material e métodos.....	22
3.2.1	Desenho do estudo	22
3.2.2	População	22
3.2.3	Análise estatística.....	24
3.3	Resultados	25
3.3.1	Raça (Grupos raciais).....	25
3.3.2	Peso (Grupos de peso).....	26
3.3.3	Ovariectomia	26
3.3.4	Idade ao momento do diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária ..	28
3.3.5	Tipo histológico da neoplasia mamária.....	28
3.4	Discussão	30
3.4.1	Raça e peso vivo.....	30
3.4.2	OVH	31
3.4.3	Diagnóstico.....	32
3.4.4	Tratamento cirúrgico	32
3.4.5	Limitações	33
3.4.6	Estudos futuros.....	33
4	Conclusão	34
5	Bibliografia.....	35
6	Anexos	41
	Anexo 1 – Classificação histológica dos tumores de mama na cadela	41
	Anexo 2 – Significâncias das associações estudadas	43

Índice de figuras

Figura 1 – Distribuição dos casos por idade ao diagnóstico de neoplasia.....	28
--	----

Índice de tabelas

Tabela 1 - Estadiamento clínico dos tumores de mama caninos, adaptado de Misdorp <i>et al.</i> , 1999	12
Tabela 2 - Graus de malignidade histológica de neoplasmas mamários (Adaptado de Goldschmidt et al, 2011)	14
Tabela 3 – Local de recolha dos dados.....	22
Tabela 4 – Distribuição das cadelas por grupos raciais.....	25
Tabela 5 – Distribuição das cadelas por grupos de peso	26
Tabela 6 – Distribuição das cadelas de acordo com o momento de OVH	26
Tabela 7 – Distribuição da idade de realização de OVH nas cadelas-caso	27
Tabela 8 – Distribuição das cadelas-caso por classificação histológica da neoplasia mamária	29
Tabela 9 – Distribuição das cadelas-caso por tipo de mastectomia	29
Tabela 10 – Classificação histológica publicada por Goldschmidt <i>et al.</i> em 2010.....	41
Tabela 11 Avaliação de associação – Teste exato de Fisher	43
Tabela 12 - Avaliação de associação – Teste exato de Fisher.....	43
Tabela 13- Avaliação de associação – Análise de Variância (ANOVA)	43

Lista de abreviaturas

AINEs	Anti-inflamatórios não esteróides
COX-2	Ciclooxigenase-2
CPC	Clube Português de Canicultura
E-caderina	Caderina epitelial (Epithelial-caderin)
ECG	Electrocardiograma
FAWC	Farm Animal Welfare Committee (Comite para o bem-estar dos animais de quinta)
FCI	Fédération Cynologique Internatiolale
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
GH	Hormona do crescimento (Growth hormone)
HER	Receptor do fator de crescimento epidérmico humano (Human epidermal growth factor receptor)
HEV	Hospital Escolar Veterinário – FMV-ULisboa
HVL	Hospital Veterinário das Laranjeiras
IGF	Fator de crescimento tipo insulínico (Insuline-like growth factor)
IGF-1R	Recetor do fator de crescimento tipo insulínico tipo 1 (Insuline like growth factor-1 receptor)
MIB-1	Marcador do índice de proliferação tumoral 1
OMS	Organização Mundial de Saúde
OVH	Ovariohisterctomia
<i>P</i>	Probabilidade de significância
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PCNA	Antigénio nuclear de proliferação tumoral – Proliferating cell nuclear antigen
RE	Recetor de estrogénios
RM	Ressonância magnética
RP	Recetor de progesterona
TAC	Tomografia axial computadorizada
TNM	Estadiamento clínico baseado na dimensão da lesão primária, metastização distante e metastização dos linfonodos regionais
TSA	Teste de sensibilidade a antibióticos
ULisboa	Universidade de Lisboa

1 Breve descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular

1.1 O Hospital e a equipa

O meu estágio curricular teve lugar no Hospital Veterinário das Laranjeiras (HVL) sob a orientação do Dr. Luís Cruz. Começou a 05 de fevereiro de 2014 e terminou a 05 de agosto de 2014, perfazendo o total de 1040 horas. A carga horária semanal correspondeu a 40 horas, estando a cargo dos estagiários curriculares a assistência aos médicos veterinários durante os turnos da manhã (9h – 17h) e da tarde (13h-21h), assim como no horário de urgência (uma vez por semana das 21h – 9h, fins de semana e feriados rotativos das 9h – 21h ou das 21h - 9h).

Após o período mencionado continuei a frequentar o HVL no sentido de concluir a minha pesquisa e recolha de dados para o desenvolvimento deste trabalho, o que permitiu também alargar os meus conhecimentos e experiência clínica.

O HVL está localizado na rua S. Tomás de Aquino, 8C, em Lisboa e o seu horário normal de atendimento é de 2^afeira a 6^afeira das 9h às 21h e sábado das 10h às 13h. Para além deste horário de atendimento o hospital dispõe de um serviço diário de urgência 24 horas com um médico veterinário em permanência auxiliado por um estagiário curricular.

O HVL é constituído por uma equipa vocacionada para o atendimento personalizado dos animais de companhia, prestando cuidados médico-cirúrgicos focados não só na doença mas também no doente e no dono. Por este motivo o HVL apresenta-se como um hospital de referência em medicina, cirurgia e exames complementares de diagnóstico.

A equipa multidisciplinar que o constitui está sob a orientação do diretor clínico Dr. Luís Cruz, tendo como filosofia “tratar cada animal de estimação como se fosse nosso, proporcionando qualidade nos cuidados clínicos e carinho a qualquer hora do dia ou da noite”. Durante o estágio a restante equipa era formada pelos seguintes médicos veterinários: Dra. Ana Maldonado, Dra. Cármen Rodrigues, Dr. Francisco Silva, Dra. Márcia João, Dra. Mariana Figueiredo, Dra. Rita Rodrigues e Dra. Mariana Magalhães, contando ainda com a ajuda da enfermeira Juliana e das auxiliares Sandra, Catarina, Misol, Filipa e Pedro.

Para além da equipa residente o hospital conta ainda com o apoio, em casos pontuais, de médicos veterinários especialistas, como é o caso da Dra. Carolina Monteiro (especialista em

ecografia), da Dra. Miriam Vistas (especialista em ecografia e ecocardiografia), do Dr. Filipe Martinho (especialista em clínica de animais exóticos), da Dra. Odete Almeida (especialista em oftalmologia) e do Dr. Rui Elias (especialista em acupuntura).

O hospital é constituído por dois consultórios, uma sala de tratamentos, uma zona de internamento, um bloco operatório onde se realizam cirurgias e endoscopias, uma sala de radiologia e ecografia, um escritório/zona de refeições/zona de convívio, zona de lavandaria e casa de banho.

1.2 Atividades desenvolvidas

Durante o estágio curricular tive a oportunidade de adquirir competências e conhecimentos em diversas áreas da clínica de pequenos animais. Através da observação e da participação em diversas consultas, nos cuidados prestados durante os internamentos e cuidados intensivos, na preparação pré-cirúrgica dos doentes, no controlo anestésico durante a cirurgia, nos cuidados e tratamentos pós-cirúrgicos e no auxílio no horário de urgências, pude aprender e progredir enquanto estudante e futura médica veterinária.

Para além destas atividades pude também participar na realização de diferentes métodos complementares de diagnóstico, como a radiologia, ecografia abdominal, ecocardiografia, electrocardiograma (ECG), tomografia axial computadorizada (TAC), endoscopia e processamento de exames laboratoriais.

1.2.1 Consultas

No HVL são realizadas consultas preventivas/profiláticas, consultas de rotina e consultas de acompanhamento de doenças crónicas. Nas consultas realizadas regularmente muitos animais são referenciados para realizar exames de diagnóstico e tratamentos específicos, tanto no âmbito preventivo, como curativo ou mesmo paliativo.

Nestas consultas tive como função o acompanhamento e, quando necessário, o auxílio nas mesmas, tendo a minha participação sido ativa nos casos clínicos a que assisti.

1.2.2 Internamento e cuidados intensivos

Nos turnos da manhã e da tarde monitorizei os animais, preparei e administrei as medicações prescritas, e geri as alimentações e passeios, garantindo também os cuidados de higiene e bem-estar durante o período de internamento. Em cooperação com os médicos

veterinários foi decidida a periodicidade da monitorização e da alimentação adaptadas a cada animal, que era realizada por mim.

No horário da noite (21h – 9h), nomeadamente no internamento, apoiei a médica veterinária na gestão dos animais internados, incluindo monitorização, medicação, alimentação e passeios.

Durante os 6 meses foi-me possível acompanhar casos clínicos em que a terapêutica instituída requeria vigilância e cuidados permanentes. Dois exemplos foram a hemodiálise e diálise peritoneal nas quais participei e apoiei o médico veterinário na sua realização.

1.2.3 Cirurgia e anestesia

Os procedimentos cirúrgicos, na sua maioria eram realizados durante o dia (das 9h - 21h) e estavam a cargo do Dr. Luís Cruz e da Dra. Cármen Rodrigues, com auxílio dos restantes médicos veterinários e enfermeira. No HVL os cirurgiões realizam grande variedade de procedimentos cirúrgicos com equipamentos e técnicas de última geração. São realizadas diversas cirurgias como: ovariectomia, castrações, mastectomias, exérese de neoplasias, cirurgia torácica convencional e toracoscópica, correção de defeitos cardíacos congénitos, cirurgia laparoscópica, remoção de corpos estranhos e cirurgia ortopédica. Neste sector participei ativamente nas várias fases da cirurgia.

Desempenhei funções de preparação da sala de cirurgia adequada ao tipo de animal em questão e o tipo de cirurgia a realizar, preparação pré-cirúrgica do animal (colocação de catéter, análises sanguíneas pré-cirúrgicas, tricotomia e desinfeção da zona cirúrgica), indução anestésica, intubação do animal e monitorização da anestesia (manutenção da anestesia e monitorização dos sinais vitais como o ritmo cardíaco, frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação de oxigénio, capnografia e pressão arterial).

1.2.4 Meios complementares de diagnóstico

O HVL é um hospital que dispõe de uma série de meios complementares de diagnóstico, o que possibilita a melhor abordagem ao diagnóstico do animal. Os meios disponíveis nas instalações do hospital são os seguintes: análises sanguíneas gerais (hemograma e perfil bioquímico), provas de coagulação, esfregaços sanguíneos, citologias, análises de urina (densitometria, análise de sedimento, tiras de urina), radiografia, ecografia (ecografia abdominal e ecocardiografia), electrocardiograma, medição de pressão arterial e endoscopia. Em cooperação com um centro de imagiologia, o HVL tem disponível a realização de TAC e ressonância magnética (RM) e, em cooperação com diversos laboratórios tem ao seu dispor a realização de

outras análises mais específicas como: urocultura, cultura bacteriológica e micológica, testes de sensibilidade a antibióticos (TSA) e análises histopatológicas.

Particpei ativamente na realização de colheitas de amostras sanguíneas e de urina, na preparação e elaboração de respetivas análises e sua interpretação. Esteve também a meu cargo a realização de medições de pressão arterial e participação nos métodos de diagnóstico imagiológico, como a preparação do animal e auxílio na contenção do mesmo durante o exame ecográfico ou radiológico. Em todas as atividades tive sempre o apoio dos médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares presentes.

1.2.5 Urgências

No horário semanal de 40 horas integrei a equipa no horário de urgências durante pelo menos 12 horas (21h – 9h). Nas semanas em que o horário incluía o fim-de-semana integrei também a equipa em horário de urgência, durante esse período.

Foi-me possível acompanhar e participar ativamente em consultas, cirurgias e procedimentos de urgência.

1.2.6 Outras intervenções

A grande diversidade de casos clínicos que se apresentaram no HVL permitiram a aprendizagem e auxílio ativo de diversas intervenções. A enorme casuística do hospital não permite a enumeração e contabilização de todas as técnicas aprendidas e realizadas. No entanto, é importante referir que me foi possível participar ativamente em diversas intervenções, para além das já mencionadas, como são exemplo: algaliação, fluidoterapia endovenosa e respetivas suplementações, soro subcutâneo, limpeza de feridas e realização de pensos, toracocentese, abdominocentese, transfusão sanguínea, transfusão de plasma, quimioterapia, diálise peritoneal, hemodiálise, acupunctura e consultas, terapêutica e internamento de animais exóticos

2 Revisão bibliográfica

2.1 Introdução

Dado que os animais de estimação estão presentes em mais de metade dos lares portugueses e 68% destes têm pelo menos um cão (Costa, 2013), o assunto da prevenção do tumor de mama na cadela revela-se de grande importância.

Segundo o Comité para o bem-estar animal dos animais de quinta (Farm Animal Welfare Committee - FAWC) o bem-estar animal inclui o seu estado físico e mental e define-se pela presença das “Cinco Liberdades de Francis Brambell” (1979):

- livre de fome e sede;
- livre de desconforto;
- livre de dor, lesões e doenças;
- livre para expressar o comportamento normal;
- livre de medo e *stress*.

Um dos fatores que perturba as “Cinco Liberdades” é a presença de doenças, entre as quais as neoplasias. Sabe-se ainda que 18% das mortes, naturais e por eutanásia em cadelas, decorrem do diagnóstico de tumores. O tumor de mama é o segundo tumor mais comum na espécie canina, sendo o mais frequentemente diagnosticado em cadelas e contabiliza 70% de todos os casos de tumor nestas fêmeas. (Dorn, Taylor, Frye & Hibbard, 1967; Moe, 2001; Dobson, Samuel, Milstein, Rogers & Wood, 2002; Bonnet, Engevall & Hedhammar, 2005; Fossum, 2008; Merlo *et al.*, 2008).

2.2 Anatomia e fisiologia da glândula mamária

A glândula mamária é tipicamente estruturada em duas colunas simétricas bilaterais que se estendem do tórax ventral à região inguinal. O número de glândulas varia entre 8 e 12, sendo normalmente 10 – 4 torácicas, 4 abdominais e 2 inguinais (Miller, Christensen & Evans, 1964).

Relativamente à anatomia da glândula, o par torácico cranial é irrigado pelo ramo lateral e ventral da artéria intercostal e pelos ramos dos vasos torácicos laterais; o par torácico caudal e o par abdominal cranial são irrigados pelos vasos epigástricos superficiais craniais e as mamas abdominais caudais e inguinais são irrigadas pelos vasos epigástricos superficiais caudais. O

linfonodo axilar drena as três glândulas craniais ipsilaterais, e o linfonodo inguinal drena as duas glândulas caudais ipsilaterais. Entretanto, existem conexões linfáticas entre as glândulas homolaterais (Fossum, 2008).

A glândula mamária é formada por glândulas apócrinas modificadas e é dividida em lóbulos por tecido conjuntivo interlobular. É constituída por parênquima (alvéolos), estroma (tecido conjuntivo), ductos, vasos e nervos (Miller *et al.*, 1964; Sorenmo, Rassotto, Zappulli & Goldschmidt, 2011).

As células secretoras de leite da glândula mamária desenvolvem-se pela proliferação de células epiteliais que surgem do cordão mamário primário, estas células epiteliais formam estruturas circulares denominadas alvéolos, que são a unidade funcional de secreção de leite da glândula mamária (Cunningham, 2004).

O estrogénio, de origem ovárica, juntamente com a hormona do crescimento (Growth hormone - GH) e esteroides adrenais, atua na proliferação do sistema de ductos. A progesterona e a prolactina atuam no desenvolvimento dos alvéolos (Cunningham, 2004).

Só se verifica uma quantidade significativa de tecido secretor na gestação, pseudogestação, lactação até 40-50 dias após desmame (quando se completa a regressão alveolar) (Miller *et al.*, 1964).

O leite é formado nos alvéolos e desloca-se através dos ductos até aos mamilos onde é secretado. Para facilitar este processo de secreção, os alvéolos e ductos estão envoltos por células mioepiteliais que se contraem quando expostas a ocitocina. Na cadela pode haver até 10 aberturas ductais por mamilo, representando cada abertura um lóbulo separado. Os alvéolos adjacentes formam lóbulos e, por sua vez, estes lóbulos formam lobos. Tanto os lóbulos como os lobos estão rodeados por tecido conjuntivo (Cunningham, 2004).

É importante compreender que a glândula mamária é um órgão hormono-dependente cuja atividade cíclica está associada a fases de desenvolvimento e regressão consecutivas, processos que diferem entre indivíduos e entre as glândulas do mesmo indivíduo (Peña *et al.*, 2014).

2.3 Epidemiologia

2.3.1 Idade

A incidência do tumor de mama na cadela aumenta com a idade (Mac Vean, Monlux, Anderson, Silberg & Roszel, 1978; Boldizsár, Szenci, Muray & Csenki, 1992; Engevall, Bonnett & Hedhammar, 2005b). No entanto, os tumores de mama benignos aparecem mais cedo do que os malignos (Misdorp, 1988; Zatloukal *et al.*, 2005; Sorenmo *et al.*, 2009; Filho *et al.*, 2010).

A idade média de cadelas diagnosticadas com tumor de mama é de 10,5 anos (Sorenmo, Shofer & Goldschmidt, 2000), sendo a idade mediana de 10-11 anos (Fossum, 2008). Nas idades de 6, 8 e 10 anos a percentagem de fêmeas que têm pelo menos um registo de tumor de mama é de 1%, 6% e 13%, respetivamente (Engevall *et al.*, 2005b).

2.3.2 Raça

A incidência de tumor mamário é significativamente maior em cadelas de raça pura, independentemente da idade e do seu tipo histológico (Mac Vean *et al.*, 1978), representando 80% dos casos destes tumores (Sorenmo *et al.*, 2000).

Os tumores de mama em cadelas de raça pequena são, predominantemente, de pequena dimensão (<3cm) ou não invasivos (Itoh *et al.*, 2004). Verifica-se uma menor incidência de malignidade histológica ou biológica em cadelas de raça pequena (25%) quando comparados com raças maiores (58%) (Itoh *et al.*, 2004; Peleteiro & Carvalho, 2011).

As raças mais referenciadas como com maior incidência de tumor de mama são English Springer Spaniel, Cocker Spaniel, Dobermann, Boxer, Pointer, Caniche, Dashund, Pastor Alemão e Boston Terrier (Mac Vean *et al.*, 1978; Sorenmo *et al.*, 2000; Moe, 2001; Engevall *et al.*, 2005b; Zatloukal *et al.*, 2005; Argyle, Turek & MacDonald, 2008; Ettinger & Feldman, 2010).

2.3.3 Sexo e exposição hormonal

Embora raramente, estão descritos casos de tumor de mama em machos (Argyle *et al.*, 2008; Fossum, 2008).

Ciclos éstricos irregulares, pseudogestação clínica ou gestações não parecem influenciar o aparecimento de tumor mamário (Sorenmo *et al.*, 2000).

As cadelas diagnosticadas com tumor de mama são, predominantemente, cadelas inteiras ou castradas tardiamente (Moe, 2001; Argyle *et al.*, 2008). Cadelas inteiras têm 7 vezes mais risco

de desenvolverem tumores de mama do que cadelas castradas (Dorn, Taylor, Schneider, Hibbard & Klauber, 1967b).

Como método anticoncepcional, na prevenção do estro em cadelas, é realizada a administração de progesterona sintética, como o acetato de medroxiprogesterona. Estes progestagénios induzem o mesmo efeito na glândula mamária do que a progesterona endógena e, como tal, podem aumentar a incidência de tumores de mama na cadela. (Sleeckx, Rooster, Kroeze, Ginneken & Brantegem, 2011).

Rao e seus colegas (2009) dizem que, quando a glândula mamária sofre uma exposição prolongada aos progestagénios pode ocorrer hiperplasia das células secretoras, que indica que estes exercem um forte efeito na indução da proliferação celular desta glândula. Sleeckx e seus colegas (2011) demonstraram existir associação entre a administração de acetato de medroxiprogesterona e maior risco de desenvolvimento de tumores de mama.

2.3.4 Dieta

Tal como nos humanos, a obesidade pode ter influência no desenvolvimento de tumores da glândula mamária. Em cadelas magras e castradas aos 9-12 meses de idade, a incidência de tumor de mama é menor quando comparadas com cadelas obesas castradas neste intervalo de idades (Argyle et al., 2008). Outros fatores de risco para o aparecimento de tumores mamários em cadela são o elevado consumo de carnes vermelhas, como vaca e porco, e baixo consumo de frango (Alenza, Rutteman, Peña, Beynen & Cuesta, 1998).

2.4 Etiologia

2.4.1 Fatores hormonais

O desenvolvimento de tumores de mama na cadela envolve a acção de várias hormonas (progesterona, estrogénio, hormona do crescimento e prolactina), bem como dos seus receptores (Argyle *et al.*, 2008). Contudo, Johnston, Kustriz e Olson (2001) afirmam que os tumores malignos têm significativamente menor número de recetores e que o grau de diferenciação das células é proporcional ao número destes recetores.

A progesterona e o estrogénio são hormonas esteroides que atuam como iniciadoras (estimulam a transformação de uma célula normal em célula neoplásica) e promotoras da carcinogénese (promovem o crescimento celular anormal) (Johnston *et al.*, 2001).

Tanto na glândula mamária canina normal como na que apresenta alterações tumorais, a progesterona induz a síntese de hormona do crescimento (Growth Hormone – GH). Nos cães, tal como nos humanos, temos expressão da GH e dos seus recetores em tecidos mamários normais e cancerígenos. A hormona do crescimento é responsável pela formação do fator de crescimento tipo insulínico (Insuline-like Growth Factor - IGF) e da proteína de ligação IGF. Na presença destes fatores cria-se um ambiente altamente proliferativo que facilita a transformação tumoral (Garderen *et al.*, 1997; Garderen & Schalken, 2002).

O desenvolvimento do estadio definido histologicamente correlaciona-se com os níveis plasmáticos de progesterona endógena (Garderen *et al.*, 1997). Tumores malignos negativos para os recetores de progesterona proliferam mais rapidamente do que tumores positivos para estes recetores, sugerindo que a progressão para a malignidade em tumores de mama espontâneos é acompanhada por uma diminuição da dependência de hormonas esteroides (Geraldès, Gärtner & Schmitt, 2000).

Os estrogénios podem ter um papel direto e indireto no desenvolvimento tumoral. Embora sejam hormonas necessárias para o normal desenvolvimento da glândula mamária, os seus efeitos proliferativos no epitélio e o subsequente aumento da atividade mitótica poderão indiretamente favorecer a transformação maligna do tecido. Por outro lado, os estrogénios são reguladores de vários proto-oncogenes nucleares, o que sugere uma contribuição direta na carcinogénese (Sorenmo *et al.*, 2000).

Os níveis de prolactina são superiores em casos de tumor de mama canino, quando comparados com os casos controlo. No tumor de mama maligno um maior nível de prolactina nos tecidos está associado com a ocorrência de recaída e/ou metástases distantes. Os carcinomas mamários inflamatórios apresentam maiores concentrações tissulares de prolactina, com concentrações significativamente mais elevadas do que outros carcinomas malignos não inflamatórios (Queiroga *et al.*, 2014).

2.5 Prevenção

2.5.1 Ovariohisterectomia precoce

Como vimos anteriormente, o desenvolvimento de tumores de mama na cadela é altamente promovido pela presença de estrogénio, progesterona e respetivos recetores (Sorenmo *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2001; Argyle *et al.*, 2008).

A ovariohisterectomia precoce parece ser o único método que previne a variabilidade hormonal que ocorre durante o ciclo éstrico e que, sem dúvidas, influencia o desenvolvimento do tumor de mama na cadela (Chang, Chang, Chang & Wong, 2005).

Para além de prevenir o aparecimento de tumores de mama, a ovariohisterectomia em cadelas que não se destinam à reprodução é uma alternativa à administração de anticontraçtivos, como o acetato de medroxiprogesterona, que vários autores afirmam aumentar o risco de desenvolvimento destes tumores (Rao *et al.*, 2009; Sleenckx *et al.*, 2011).

A redução do risco de desenvolvimento de tumores de mama pela ovariohisterectomia (OVH) após os 2,5 anos é mínimo mas está demonstrado que cadelas castradas antes do primeiro estro têm 0,5% de risco de desenvolver estas neoplasias, quando comparadas com cadelas inteiras. O risco aumenta para 8% se a OVH for feita após o primeiro estro e para 26% se a OVH for feita depois do segundo estro (Sorenmo *et al.*, 2000; Moe, 2001; Argyle *et al.*, 2008; Fossum, 2008).

2.5.2 Dieta

Uma dieta cuidada de forma a não permitir que a cadela se torne obesa até ao 1º ano de idade e um reduzido consumo de carnes vermelhas, revelaram-se uteis na prevenção de neoplasias mamárias na cadela (Alenza *et al.*, 1998; Argyle *et al.*, 2008).

2.6 Diagnóstico

O diagnóstico histopatológico dos tumores de mama na cadela é uma das tarefas mais frequentes dos patologistas veterinários em países onde a ovariohisterectomia pré-púbere não é efetuada por rotina (Peña *et al.*, 2014).

2.6.1 Anamnese e Exame físico

2.6.1.1 Anamnese

Uma anamnese cuidada é sempre importante e, como referido anteriormente, há vários fatores do historial do paciente que nos poderão encaminhar para o diagnóstico de tumor de mama. Um exemplo de cadela “tipo” é uma cadela com mais de 6 anos de idade, de raça pura, inteira ou castrada após o terceiro estro e com historial de obesidade (Dorn *et al.*, 1967b; Mac Vean *et al.*, 1978; Boldizar *et al.*, 1992; Sorenmo *et al.*, 2000; Moe, 2001; Dobson *et al.*, 2002; Engevall, Bonnett & Hedhammar, 2005a; Argyle *et al.*, 2008; Merlo *et al.*, 2008).

2.6.1.2 Exame físico

Cassali e seus colegas (2011) descrevem que frequentemente são detetadas neoplasias mamárias nas consultas de rotina. Os animais podem apresentar anorexia, fraqueza ou perda de peso. Estas neoplasias podem apresentar-se na forma de massa única ou massas múltiplas, em diferentes glândulas ou numa única glândula, mas podem estar envolvidas várias glândulas (tumor multicêntrico) e estas podem ser de tipos histológicos diferentes. Geralmente são massas firmes à palpação, de dimensão variável e móveis, mas podem, ocasionalmente, estar aderentes à pele ou parede abdominal. Podem ser sólidas ou quísticas, ulceradas ou cobertas por pele e pêlos, poderão, também, apresentar edema e secreção anormal.

A neoplasia mamária pode desenvolver-se em qualquer glândula mas, na cadela, as mamas mais afetadas são as abdominais posteriores e as inguinais (Fossum, 2008; Peleteiro & Carvalho, 2011).

A metástase óssea poderá levar a que o animal apresente claudicação e pode ocorrer um extenso linfoedema dos membros secundariamente à oclusão ou infiltração linfática (Fossum, 2008; Ettinger & Feldman, 2010).

Os diagnósticos diferenciais são outros tipos de neoplasias (mastocitoma, carcinoma das células escamosas), mamite e hiperplasia lobular.

A avaliação dos animais com neoplasia mamária deve incluir hemograma, perfil bioquímico e urianálise. A ecografia da glândula mamária pode ser um exame complementar de diagnóstico útil para avaliação da homogeneidade dos tecidos e vascularização (Ettinger & Feldman, 2010).

2.6.2 Estadiamento clínico – TNM

O estadiamento TNM de Misdorp e seus colegas (1999), [Tabela 1] é determinado de acordo com o sistema TNM, estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS), para

tumores de mama canino. Este sistema é baseado na dimensão da lesão primária (T), metastização dos linfonodos regionais (N) e a presença ou ausência de metástases distantes (M).

Tabela 1 - Estadiamento clínico dos tumores de mama caninos, adaptado de Misdorp *et al.*, 1999

Estadiamento clínico dos tumores de mama caninos (Misdorp <i>et al.</i> , 1999)			
Estadio	T	N	M
I	T ₁	N ₀	M ₀
II	T ₂	N ₀	M ₀
III	T ₃	N ₀	M ₀
IV	Qualquer T	N ₁	M ₀
V	Qualquer T	Qualquer N	M ₁

Legenda: T (Tumor primário), T₁ (<3 cm de diâmetro máximo), T₂ (3-5 cm de diâmetro máximo), T₃ (>5 cm de diâmetro máximo), N (Linfonodo regional), N₀ (Sem metástase – histologia ou citologia), N₁ (Metástase presente – histologia ou citologia), M (Metástase distante), M₀ (Sem metástase distante), M₁ (Com metástase distante)

2.6.2.1 Metastização

As células dos tumores mamários malignos disseminam-se através da corrente linfática e sanguínea para os linfonodos regionais e pulmões. Outros locais de metástase menos comuns incluem as glândulas adrenais, os rins, o coração, o fígado, os ossos, o cérebro e a pele (Fossum, 2008).

No exame clínico devem ser exploradas tanto as duas cadeias mamárias como os linfonodos regionais. Recomenda-se a realização de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) em linfonodos com alterações de volume, forma ou consistência ao exame físico.

Para efetuar estadiamento clínico preciso devem ser efetuadas radiografias torácicas em três projeções (ventro-dorsal, latero-lateral esquerda e latero-lateral direita) dado que este é o procedimento diagnóstico *standard* para avaliação de metastização distante a nível pulmonar. Lesões com seis a oito milímetros de diâmetro podem ser detetáveis com radiografia convencional. Lesões mais pequenas só podem ser detetáveis com tomografia axial computadorizada. O pulmão é o local mais comum de metastização à distância de tumores malignos da glândula mamária mas devem ser efetuados outros exames, tais como ecografia ou radiografia abdominal, para avaliação de outras estruturas anatómicas que poderão estar afetadas dependendo dos sinais clínicos apresentados. A observação de metástases é associada a um prognóstico desfavorável (Revisto por Cassali *et al.*, 2011).

2.6.3 Diagnóstico citológico

O exame citológico é um método seguro para a identificação de metástases nos linfonodos, tendo uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 96%. No caso de resultado positivo ou duvidoso deve-se realizar a excisão dos linfonodos afetados e proceder-se à análise histopatológica (Cassali *et al*, 2011).

A abordagem terapêutica dos tumores de mama consiste, muitas vezes, na extirpação cirúrgica, e como tal, aconselha-se que o diagnóstico citológico seja limitado a algumas situações, tais como: se estiver em causa a eutanásia do animal, se existirem dúvidas quanto à natureza neoplásica da lesão, se a localização da lesão for fora do comum, quando ocorre hipertrofia dos linfonodos inguinais superficiais e axilares ou no caso de recidivas (Peleteiro & Carvalho, 2011).

2.6.4 Diagnóstico histológico

O diagnóstico definitivo deve ser baseado na análise histopatológica visto que só esta permite determinar a histomorfologia, e a classificação histopatológica, permite a avaliação da infiltração da pele, tecidos moles e vasos circundantes e permite confirmar se a lesão foi excisionada na sua totalidade (Daleck, Franceschini, Alessi, Santana & Martins, 1998; Ferreira, Bregunci, Schmitt & Cassali, 2003).

Contudo, deve-se ter em conta a hipótese de os tumores mamários progredirem de uma forma benigna para uma forma maligna. Os tumores malignos são, em regra, um estágio final da evolução histológica contínua, semelhante à carcinogénese do tumor de mama na mulher (Sorenmo *et al.*, 2009).

2.6.4.1 Classificação histológica

Até 2011, foram publicados dois sistemas de classificação histológica para tumores e displasias de mama na cadela: o primeiro em 1974, que modificado em 1999. Após a publicação do segundo sistema de classificação foram descritos vários novos subtipos histológicos de tumor de mama, pelo que, em 2011, foi proposto um novo sistema de classificação histológica e de nomenclatura de neoplasias e displasias do tumor de mama (Anexo 1).

Este novo sistema divide as neoplasias mamárias em 8 grupos principais: neoplasias epiteliais malignas; tipos especiais de neoplasias epiteliais malignas; eoplasias mesenquimais malignas (sarcomas); carcinossarcomas; neoplasias benignas; hiperplasia/displasia; neoplasias do mamilo; hiperplasia/displasia do mamilo (Goldschmidt, Peña, Rasotto & Zappulli, 2011).

De acordo com a nova classificação de Goldshimdt e seus colegas (2011) pode ser necessária a utilização de imunohistoquímica para a correta identificação dos diferentes subtipos,

que tem especial importância devido aos diferentes prognósticos associados. Os marcadores de diferenciação celular utilizados na avaliação dos tumores de mama caninos incluem marcadores para células epiteliais, marcadores para células mioepiteliais e marcadores para células mesenquimais (Peña *et al.*, 2013).

2.6.4.2 Critérios de malignidade

Os critérios mais significativos de malignidade no diagnóstico de tumores de mama malignos na cadela são (Goldschmidt *et al.*, 2011):

1. Tipo de tumor
2. Pleomorfismo celular e nuclear
3. Índice mitótico
4. Presença de áreas de necrose distribuídas aleatoriamente na neoplasia
5. Invasão peritumoral e linfática
6. Metástase no linfonodo regional

Podemos definir 3 graus histológicos de malignidade (I, II ou III segundo Peña *et al.*, 2013) (Bem diferenciado, moderadamente diferenciado, pouco diferenciado, segundo Misdorp *et al.*, 1999). Para tal, deve ser avaliada a percentagem de formação tubular, o grau de pleomorfismo nuclear e o número de mitoses por campo, atribuindo-se uma pontuação de 1 a 3. Somando-se as pontuações obtém-se o grau de malignidade histológica da neoplasia mamária (Tabela 2) (Goldschmidt *et al.*, 2011).

Tabela 2 - Graus de malignidade histológica de neoplasmas mamários (Adaptado de Goldschmidt et al, 2011)

Graus de malignidade histológica de neoplasmas mamários (adaptado de Goldschmidt <i>et al.</i> , 2011)		
	Score total	Grau de malignidade
3 a 5	Peña	I (baixa)
	Misdorp	Bem diferenciado
6 a 7	Peña	II (intermédia)
	Misdorp	Moderadamente diferenciado
8 a 9	Peña	III (alta)
	Misdorp	Pouco diferenciado

2.6.5 Biomarcadores

Dado que a utilidade destes marcadores tem importância em termos de prognóstico, estes serão abordados com maior detalhe no capítulo seguinte.

2.7 Prognóstico

Os fatores de prognóstico englobam as características clínicas, patológicas e biológicas específicas do indivíduo e do seu tumor que permitem uma predição da sobrevivência dos seus pacientes e das consequências clínicas e facilitam a seleção e tratamento individual e específico (Marinho, Metze, Sanches, Rocha & Gobbi, 2008).

No paciente humano com cancro da mama utiliza-se, com frequência, a imunohistoquímica de modo a auxiliar na determinação do prognóstico e dos tratamentos específicos. Em cães com tumor de mama a imunohistoquímica ainda não é utilizada por rotina embora, nos últimos 17 anos, tenham sido feitos muitos estudos com o objetivo de demonstrar a fiabilidade prognóstica e diagnóstica destes biomarcadores (Peña *et al.*, 2013).

A identificação de marcadores tumorais é um método valioso na tentativa de prever o comportamento da neoplasia e determinar o prognóstico da doença (Ribeiro *et al.*, 2009).

2.7.1 Características do paciente

Segundo Argyle e seus colaboradores (2008), o prognóstico dos tumores de mama não está associado à idade, raça, peso vivo e historial de gravidez mas sim ao gênero. Sendo que as cadelas têm pior prognóstico do que os cães.

2.7.2 Dimensão tumoral

Quanto maior for o tumor, pior será o prognóstico (Misdorp & Hart, 1975; Yamagami, Kobayashi, Takahashi & Sugiyama, 1996a; Chang *et al.*, 2005) e menor será o tempo de sobrevivência (Fossum, 2008; Ferreira, Bertagnolli, Cavalcanti, Schmitt & Cassalli, 2009).

A presença de ulceração, inflamação, eritema da pele, edema, fixação aos tecidos subjacentes e dor à palpação são fatores de mau prognóstico (Misdorp & Hart, 1975; Peleteiro & Carvalho, 2011).

Tumores pequenos (com menos de 3cm de eixo maior), bem definidos e circunscritos são tumores com melhor prognóstico (Misdorp & Hart, 1975; Argyle *et al.*, 2008; Peleteiro & Carvalho, 2011).

Argyle e seus colegas (2008) afirmam que o número de tumores e de glândulas envolvidas não são fatores associados ao prognóstico.

2.7.3 Metástases ganglionares e metástases à distância

Segundo Yamagami e colegas (1996a), as taxas de sobrevivência a dois anos em animais com metástases de células tumorais nos linfonodos regionais (N_1 , N_2) e/ou metástases à distância (M_1) são marcadamente mais baixas do que em animais sem esta evolução.

Segundo Argyle e colegas (2008) a não evidência de metástase está associada a um bom prognóstico.

2.7.4 Tipo de cirurgia

A dimensão da excisão cirúrgica efetuada não está associada ao prognóstico (Yamagami, Kobayashi, Takahashi & Sugiyama, 1996b; Argyle *et al.*, 2008).

2.7.5 OVH

Chang e colegas (2005) afirmam que o facto da cadela ser ovariectomizada (antes ou no momento da excisão cirúrgica do tumor mamário) influencia positivamente o prognóstico. No entanto, esta opinião é refutada por Argyle e colegas (2008).

2.7.6 Tipo histológico e grau de malignidade

Metade dos tumores de mama na cadela são malignos e, desses, 50% podem recidivar ou metastizar após a primeira excisão cirúrgica. (Argyle *et al.*, 2008; Ettinger & Feldman, 2010).

O estadiamento do tumor é um fator prognóstico (Chang *et al.*, 2005) e quanto maior o estadiamento TNM, pior é o prognóstico (Yamagami *et al.*, 1996a).

Cães com tumores mamários benignos apresentam um risco 3 vezes superior de desenvolver tumores mamários malignos (Fossum, 2008)

Os carcinomas tubulares/ papilares bem diferenciados (baixo grau) e os tumores que não evidenciam invasão linfática ou vascular na biópsia apresentam bom prognóstico (Argyle *et al.*, 2008).

Misdorp e Hart (1975) afirmam que o tipo histológico mais maligno é o sarcoma, seguido do carcinoma simples e do complexo, embora Argyle e seus colaboradores (2008) defendam que o carcinoma inflamatório tem pior prognóstico que os sarcomas.

Animais com carcinomas sem formação tubular ou proliferação celular mioepitelial tiveram menor sobrevivência do que animais com carcinomas com essas características (Yamagami *et al.*, 1996a).

Carcinomas invasivos, adjacentes à pele ou aos vasos linfáticos/sanguíneos estão associados a pior prognóstico do que os não invasivos (Yamagami *et al.*, 1996a).

2.7.7 Biomarcadores

Por imunohistoquímica podem ser avaliados vários marcadores de prognóstico no caso das neoplasias da glândula mamária da cadela (Cassali *et al.*, 2011): Recetores do estrogénio e progesterona (RE e RP); Fator de crescimento epidérmico e seus receptores (HER1 e HER2 - Human epidermal growth factor receptor - HER1 e HER2); Ciclooxygenases 1 e 2 (enzimas responsáveis pela produção de prostaglandinas); E-caderina e β -catenina (complexos moleculares de adesão celular); Genes p53 e p63 (genes supressores tumorais); Glucose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfatogluconato desidrogenase (enzimas); Ki-67 (marcador de proliferação celular) e Antígeno nuclear de proliferação celular (proliferating cell nuclear antigen- PCNA); MIB-1 (marcador do índice de proliferação tumoral); CD31 (marcador da angiogénese) (Nerurkar, Ishwad, Seshadri, Naik & Lalitha, 1990; Zuccari *et al.*, 2008; Peña *et al.*, 2014).

2.7.7.1 Receptores de estrogénio, progesterona e do fator de crescimento epidérmico

Estes recetores foram identificados nos tumores de mama da cadela e podem coexistir na mesma neoplasia (Misdorp, 2002).

Tumores benignos são frequentemente positivos para os RE e RP; Os tumores malignos são frequentemente positivos para RP e negativos para RE (Martin De las Mulas, Millán & Dios, 2005).

Chang e seus colegas (2009) verificaram que os cães com tumores malignos que expressavam RE e RP tiveram uma taxa de sobrevivência significativamente maior, quando comparados com cães com tumores malignos que expressavam apenas RE. Assim sendo, a expressão de RP pode ser utilizada como um fator de prognóstico para a sobrevivência, especialmente em cadelas com tumores de mama malignos que também expressem RE (Argyle *et al.*, 2008; Chang *et al.*, 2009).

Na cadela, os carcinomas mamários invasivos triplamente negativos (HER2, RE e RP), apresentam comumente sobre-expressão de IGF-1R (Insuline like growth factor-1 receptor). Este facto está relacionado com um mau prognóstico (Jaillardon *et al.*, 2013).

A sobre-expressão da proteína HER-2 está relacionada com menor sobrevivência, períodos livres de doença mais curtos e mau prognóstico em humanos (Sorlie *et al.*, 2003).

Foram recentemente publicadas guidelines da avaliação imunológica do HER2, recetores de estrogénio e recetores de progesterona, juntamente com recomendações específicas para a interpretação dos resultados para cada um destes biomarcadores no tumor de mama na espécie canina (Peña *et al.*, 2014).

2.7.7.2 Ciclooxigenase-2

A Ciclooxigenase-2 (COX-2) é um marcador potencial no tumor mamário quer na mulher quer na cadela, dado que a sua expressão é maior em tumores com pior prognóstico (Ribeiro *et al.*, 2009).

Os tumores malignos apresentam maior expressão de COX-2 (Queiroga, Alves, Pires & Lopes, 2007), existindo uma associação direta entre a expressão de COX-2 e o subtipo histológico do tumor no carcinoma mamário na espécie canina (Heller *et al.*, 2005). Desta forma, a avaliação da expressão desta enzima e o seu corelacionamento a fatores prognósticos trazem perspectivas para o desenvolvimento de novas terapias antitumorais. A expressão de COX-2 é inversamente correlacionada com a taxa de sobrevivência (Ribeiro *et al.*, 2009).

2.7.7.3 Outros fatores

Outros fatores como a redução ou perda de expressão de E-caderina e β -catenina estão associados a uma reduzida diferenciação celular tumoral, invasividade e metástases nos linfonodos regionais, influenciando diretamente o prognóstico (Brunetti, Sarli, Preziosi, Monari & Benazzi, 2005).

As atividades da Glucose-6-fosfato desidrogenase e da 6-fosfatogluconato desidrogenase são significativamente maiores em tecidos tumorais do que em glândulas normais e os tumores malignos apresentam maior atividade enzimática do que os benignos. Com o aumento da anaplasia há um aumento correspondente da atividade das duas enzimas (Nerurkar *et al.*, 1990).

2.8 Tratamento

A excisão cirúrgica de tumores localizados e não metastizados é a terapêutica de eleição (exceto no carcinoma inflamatório) dado que permite o exame histopatológico, aumenta o tempo e qualidade de vida e pode ser curativa. (Revisto por Cassali *et al.*, 2011)

2.8.1 Cirúrgico

2.8.1.1 Mastectomia

A comunidade científica tem discutido bastante sobre qual a melhor técnica cirúrgica para o tratamento de tumores de mama na cadela (Horta *et al.*, 2014). Atualmente, o aconselhado é a remoção de todo o tumor utilizando a técnica mais simples possível (Argyle *et al.*, 2008).

Procedimentos cirúrgicos segundo Fossum, 2008:

- a) Lumpectomia: remoção de uma massa ou parte da mama.

- b) Mastectomia simples: excisão de uma glândula inteira
- c) Mastectomia regional: excisão da glândula envolvida e das glândulas adjacentes
- d) Mastectomia total unilateral: excisão de todas as glândulas mamárias, tecido subcutâneo e linfonodos associados de um lado da linha média.
- e) Mastectomia total bilateral: remoção simultânea das duas cadeias mamárias

As possíveis complicações após a realização de uma mastectomia são: dor, inflamação, hemorragia, formação de seroma, infecção, necrose isquêmica, autotraumatismo, deiscência, edema de membros e recorrência do tumor (Fossum, 2008).

2.8.1.2 Ovariohisterectomia aquando da excisão cirúrgica do tumor de mama

A opinião relativa ao efeito protetor da ovariohisterectomia aquando da excisão cirúrgica do tumor de mama não é consensual.

Um estudo de Yamagami e colegas (1996b) mostra que a ovariohisterectomia realizada aquando da excisão do tumor de mama na cadela não tem efeito protetor no aparecimento de novos tumores ou metástases ou na extensão do tempo de vida.

Dado que mais de 50% dos tumores de mama na cadela expressam recetores de progesterona e estrogénio, a castração tem, teoricamente, um benefício terapêutico. Contudo, Argyle e colegas (2008) afirmam também que após o desenvolvimento do tumor, a castração não tem benefícios anticancerígenos.

Já Sorenmo e colegas (2000) referem que a progressão do tumor de mama é influenciada pelo estado hormonal do animal e a ovariohisterectomia pode ser eficaz quando realizada conjuntamente com a mastectomia. Os autores referem também que após os 2,5 anos de idade o efeito positivo da ovariohisterectomia é mais forte quando esta é realizada simultaneamente à cirurgia de excisão do tumor.

Se se realizar a ovariohisterectomia aquando da excisão cirúrgica, esta deve ser efetuada antes da remoção do tumor para prevenir que se espalhem células tumorais no abdómen (Argyle *et al.*, 2008)

2.8.2 Anti-inflamatórios não esteróides

Queiroga e colegas (2007) sugerem que os anti-inflamatórios não esteróides (AINES), particularmente os inibidores da COX-2, podem ter um papel importante no tratamento do tumor de mama maligno na cadela. Mais recentemente, Alkan e colegas (2012) consideram estes inibidores como compostos promissores não só no tratamento mas também na prevenção destes tumores.

Os efeitos citotóxicos exibidos pela combinação de piroxicam (inibidor não seletivo das ciclooxigenases) e de deracoxib (inibidor seletivo da ciclooxigenase 2) nas células de carcinoma de mama canino em estudos *in vitro* sugerem uma abordagem atrativa no tratamento do carcinoma de mama. (Alkan *et al.*, 2012)

Nos carcinomas inflamatórios, dado que a ressecção cirúrgica não é recomendada, são indicadas terapias que promovam um controlo efetivo da dor associadas a quimioterapia. Está proposta a utilização de Piroxicam, que parece aumentar a sobrevida de cadelas com carcinoma inflamatório (Souza, Toledo-Piza, Amorin, Barboza & Tobias, 2009).

2.8.3 Quimioterapia

Para Argyle e outros (2008) a quimioterapia aplicada ao tumor de mama na cadela ainda não está suficientemente estudada, os protocolos são extrapolados da medicina humana e a terapia adjuvante é recomendada em tipos tumorais cuja recorrência ou metastização são frequentes.

Cassali e seus colegas (2011) sugerem que após avaliação histopatológica, os pacientes diagnosticados com tumores específicos (carcinoma sólido, carcinoma micropapilar, carcinoma anaplásico e carcinossarcoma) devem ser submetidos a quimioterapia, como terapia adjuvante, mesmo quando a metastização pulmonar ou dos linfonodos não é evidente. A quimioterapia é recomendada em pacientes com evidência de metastização, independentemente do tipo histológico. O protocolo proposto na literatura consiste na utilização de doxorubicina associada à ciclofosfamida ou a utilização de cisplatina ou carboplatina como fármaco único e estes pacientes devem ser monitorizados a cada 3 meses após o seu primeiro ano de quimioterapia e a cada 6 meses durante mais dois anos. No entanto são necessários mais estudos para determinar um protocolo eficiente.

3 Papel da ovariectomia precoce na prevenção da neoplasia mamária na cadela

3.1 Introdução

O presente estudo pretende demonstrar a existência de uma associação entre a ovariectomia precoce em cadelas e a ocorrência de neoplasia mamária. A hipótese testada propôs que a ovariectomia precoce previne o aparecimento de neoplasia mamária na cadela.

Foi definida como ovariectomia precoce a OVH realizada antes do 2º estro.

A recolha de dados efectuada para a elaboração deste estudo permitiu ainda avaliar associações entre outras variáveis, nomeadamente:

- ocorrência de neoplasia mamária e raça;
- ocorrência de neoplasia mamária e peso;
- ocorrência de neoplasia mamária e OVH (precoce ou não);
- raça e idade ao diagnóstico histopatológico;
- peso e idade ao diagnóstico histopatológico;
- OVH e idade ao diagnóstico histopatológico;
- raça e tipo histológico da neoplasia;
- peso e tipo histológico da neoplasia;
- OVH e tipo histológico da neoplasia;
- idade ao diagnóstico histopatológico e o tipo histológico da neoplasia
- idade ao diagnóstico histopatológico e tipo de mastectomia;
- tipo histológico da neoplasia e tipo de mastectomia.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Desenho do estudo

O presente estudo é um estudo epidemiológico do tipo caso-controlo, observacional, retrospectivo e analítico, baseado em casos clínicos de dois hospitais de referência da cidade de Lisboa.

3.2.2 População

Os dados foram recolhidos no Hospital Veterinário das Laranjeiras (HVLaranjeiras) e no Hospital Escolar Veterinário da FMV-ULisboa (HEV-FMV/ULisboa). Foram apenas utilizados casos clínicos de cadelas examinadas nestes hospitais entre 2008 e 2014.

Tabela 3 – Local de recolha dos dados

Local de recolha dos dados							
Variável		Geral		Casos		Controlos	
		n	%	n	%	n	%
Local de recolha dos dados	HVLaranjeiras	34	28,3%	34	28,3%	0	0,0%
	HEV-FMV/ULisboa	86	71,7%	26	21,7%	60	50,0%
Total		120	100,0%	60	50,0%	60	50,0%

A consulta dos casos clínicos foi feita no *software* Qvet® para centros veterinários e nas fichas clínicas em papel e os dados recolhidos foram inseridos numa base de dados do Microsoft Office Excel 2013®.

Este estudo é do tipo caso controlo emparelhado com proporção de 1:1, isto é, há um controlo para cada caso e os controlos são idênticos aos casos em relação a duas variáveis. Como tal, foi feito um grupo de casos e um grupo de controlos e os controlos são da mesma raça e idade igual ou superior à idade ao diagnóstico do caso par.

3.2.2.1 Grupo de casos

Para o grupo de casos em estudo foram analisados 34 casos clínicos do HVLaranjeiras e 26 casos do HEV-FMV/ULisboa cujo critério de inclusão foi tratar-se de uma cadela com pelo menos um diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária.

Inicialmente foram recolhidos 36 casos de cada hospital (50% /50%) mas com o decorrer do trabalho acabaram por ser eliminados 2 casos do HVLaranjeiras e 10 casos do HEV por não se encontrarem controlos passíveis de com eles emparelhar.

Nos casos de cadelas que foram diagnosticadas mais do que uma vez com neoplasia mamária, considerou-se apenas o primeiro diagnóstico e os dados a este respeitante.

Os dados recolhidos foram: (1) Identificação do animal; (2) Raça; (3) Peso (kg); (4) Ano de nascimento; (5) Data do último registo clínico; (6) Cadela castrada/ inteira; (7) Ano de OVH; (8) Data do diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária; (9) Se foi efetuada OVH após o diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária; (10) Tipo histológico da neoplasia mamária; (11) Tipo de mastectomia efetuada.

As técnicas cirúrgicas de excisão tumoral utilizadas nas cadelas em estudo foram a mastectomia parcial, total unilateral e total bilateral. Devido à dimensão do tumor ou à extensão de tecido a remover, por vezes efetuou-se a mastectomia em duas fases. Nestes casos considerou-se o resultado final, por exemplo, se se efetuaram duas mastectomias totais unilaterais no espaço de menos de um ano, classificou-se como mastectomia total bilateral. Também em casos em que se recorreu à remoção do tumor principal e, mais tarde da restante cadeia, considerou-se como mastectomia total unilateral.

Alguns animais efetuaram nova mastectomia para excisão de recidivas ou novos tumores, tendo sido apenas considerado o procedimento cirúrgico respeitante à primeira neoplasia mamária.

Tanto no grupo de casos como no grupo de controlos, quando não estava explícita, a idade considerada como idade de OVH foi a data de primeira referência ao facto da cadela ser ovariohisterectomizada.

3.2.2.2 Grupo controlo

Para o grupo de controlo foram recolhidos 60 casos apenas no HEV-FMV/ULisboa, tendo em conta que a população de animais apresentados à consulta em ambos os hospitais é bastante semelhante

Na recolha dos dados para o grupo controlo efetuou-se, no *software* Qvet®, uma listagem de todas as cadelas registadas em “Medicina Interna” e foram selecionadas as primeiras que cumpriam os critérios de inclusão neste grupo e que eram passíveis de emparelhar com os casos de tumor de mama.

O critério de inclusão neste grupo foi o facto de ser uma cadela sem registo de neoplasia mamária e, para emparelhar com o grupo de casos, foram selecionadas cadelas com a mesma raça e com idade igual ou superior à idade de diagnóstico do caso par.

Os dados recolhidos foram: (1) Identificação do animal; (2) Raça; (3) Peso (kg); (4) Ano de nascimento; (5) Data do último registo clínico; (6) Cadela castrada/ inteira; (7) Ano de OVH

3.2.3 Análise estatística

Procedeu-se ao tratamento dos dados através do programa estatístico R versão 3.1.3® (Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing) com o pacote Rcmdr versão 2.1-7®.

Para efetuar a caracterização da amostra foram utilizados métodos de estatística descritiva e foram encontrados os valores mínimos e máximos, médias e desvio padrão.

Nas avaliações de associação relativas ao objetivo principal e aos objetivos secundários foram utilizados métodos de estatística inferencial, como testes de hipóteses.

De modo a avaliar a associação entre variáveis qualitativas foram efetuadas tabelas de contingência e foi aplicado o Teste exato de Fisher.

Para avaliar a associação entre a variável quantitativa “Idade ao diagnóstico” e variáveis qualitativas, primeiro foi aplicado o teste de normalidade Shapiro-Wilk que indicou se esta variável quantitativa apresentava uma distribuição normal. Dado que a variável apresentava uma distribuição normal, recorreu-se ao teste paramétrico de análise de variância (ANOVA).

Para esta análise foi utilizado o valor de significância de 0,05.

3.3 Resultados

3.3.1 Raça (Grupos raciais)

Quanto à raça, realizaram-se duas classificações. Classificou-se como raça determinada ou raça indeterminada e por grupos de raças segundo o Clube Português de Canicultura (CPC) e a *Fédération Cynologique Internattionale* (FCI).

Tabela 4 – Distribuição das cadelas por grupos consoante a raça

Distribuição por grupos raciais							
	Grupo racial (n=120)	Total		Casos		Controlos	
		n	%	n	%	n	%
Raça determinada (41,8%)	I - Cães de pastor e boeiros (exceto boeiros suíços)	6	5,0%	3	2,5%	3	2,5%
	II - Cães de tipo pinsher e schnauzer, molossóides e cães de montanha, e boeiros suíços	2	1,7%	1	0,8%	1	0,8%
	III - Terriers	2	1,7%	1	0,8%	1	0,8%
	IV - Baixotes	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	V – Cães de tipo spitz e de tipo primitivo	4	3,3%	2	1,7%	2	1,7%
	VI – Cães de levante e corso e raças semelhantes	2	1,7%	1	0,8%	1	0,8%
	VII – Cães de parar	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	VIII – Cães levantadores e cobradores de caça e cães de água	14	11,7%	7	5,8%	7	5,8%
	IX – Cães de companhia	20	16,7%	10	8,3%	10	8,3%
Raça indeterminada	70	58,3%	35	29,2%	35	29,2%	

Como se pode verificar na Tabela 4 a maioria das cadelas (58,3%) eram de raça indeterminada e 41,8% eram de raça determinada.

Nas raças determinadas, as mais representadas foram a raça Caniche (14 cadelas) e a raça Cocker Spaniel (12 cadelas), pertencentes aos grupos IX e VIII respetivamente.

Os grupos raciais mais representados foram os cães levantadores e cobradores de caça e cães de água (VIII), com 14 cadelas e os cães de companhia (IX), com 20 cadelas.

Relativamente à avaliação da associação entre a raça e a presença de neoplasia mamária, seu tipo histológico e idade ao diagnóstico histopatológico, recorreu-se ao Teste Exato de Fisher que mostrou não haver associação entre estas variáveis ($p > 0,05$).

3.3.2 Peso (Grupos de peso)

Relativamente às 120 cadelas do estudo, 21 não apresentavam dados relativos ao seu peso, pelo que estas foram excluídas das análises relativas a esta variável.

Tabela 5 – Distribuição das cadelas por grupos de peso

Distribuição por grupos de peso							
Variável		Geral		Casos		Controlos	
		n	%	n	%	n	%
Grupo de peso (n=99)	≤10 kg	37	37,4%	20	20,2%	17	17,2%
	10 a 25 kg	44	44,4%	20	20,2%	24	24,2%
	≥25 kg	18	18,2%	7	7,1%	11	11,1%

O peso variou entre os 3,0kg e os 53,6kg, sendo a média 15,4kg (\pm 10,2kg).

O peso vivo das cadelas com neoplasia mamária variou dos 3,0 aos 38,1 kg, a média foi 14,4kg (\pm 9,4kg). Não havia registo deste dado em 13 cadelas.

O peso vivo das cadelas saudáveis variou entre os 3,1kg e os 53,6kg, a média foi 16,3kg (\pm 10,9kg). Não havia registo deste dado em 8 cadelas.

Não se verificou associação entre o peso vivo da cadela e a presença de neoplasia mamária. ($p > 0,05$), a idade ao diagnóstico ($p > 0,05$) e o tipo histológico ($p > 0,05$).

3.3.3 Ovariohisterectomia

Relativamente aos casos e controlos recolhidos no HEV, quando havia referência ao facto de ter sido efetuada OVH mas não havia indicação da data de realização desta, procedeu-se ao contacto telefónico com os proprietários.

Foi definida como ovariohisterectomia precoce a OVH realizada antes do 2ºestro.

As 64 cadelas (53,33%) que não foram submetidas a ovariohisterectomia até à data em que os dados foram recolhidos, foram classificadas como cadelas inteiras (Tabela 6).

Tabela 6 – Distribuição das cadelas de acordo com o momento de OVH

Distribuição idade aquando da Ovariohisterectomia								
Variável		Geral		Casos		Controlos		
		n	%	n	%	n	%	
OVH (n=120)	Sim (n=56; 46,7%)	Precoce	11	9,2%	0	0,0%	11	9,2%
		Tardia	25	20,8%	6	5,0%	19	15,8%
		Pós-diagnóstico	20	16,7%	20	16,7%	0	0,0%
	Não	64	53,3%	34	28,3%	30	25,0%	

As cadelas que realizaram OVH mais cedo, realizaram-na antes de completar um ano de idade, a idade máxima de realização de OVH foi aos 14 anos, sendo a idade média 6,9 anos de idade ($\pm 4,3$ anos).

Tabela 7 – Distribuição da idade de realização de OVH nas cadelas-caso

Distribuição da idade de OVH (cadelas-caso)					
		Variável	Casos (n= 60)		
			n	%	
OVH	Sim	Precoce	0	0,0%	
		Tardia	Pré-diagnóstico	6	10,0%
			Pós-diagnóstico	20	33,3%
	Não		34	56,7%	

Relativamente às cadelas com neoplasia, verificou-se que nenhuma foi submetida a ovariectomia precoce (Tabela 7) e a sua maioria (56,7%), não tinham efetuado OVH até à data de recolha dos dados.

Ainda relativamente às cadelas doentes, das 26 (43,3%) que efetuaram OVH tardia, 6 (10,0%) foram submetidas a esta cirurgia antes do diagnóstico de neoplasia mamária mas 20 (33,3%) apenas foram submetidas a OVH após lhes ter sido diagnosticada esta neoplasia.

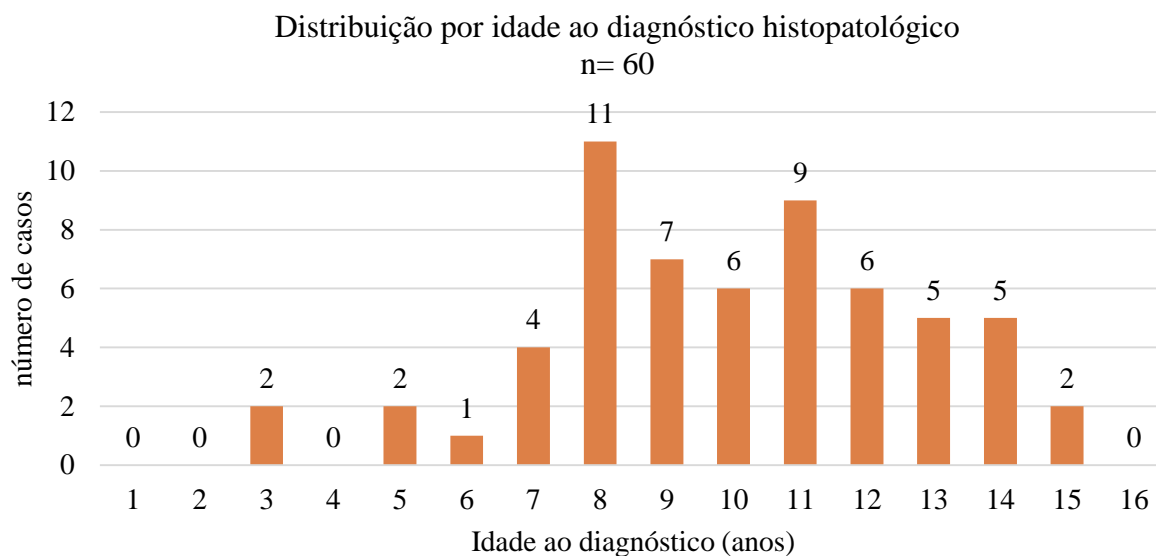
Foi possível verificar que nenhuma das 11 cadelas (9,2%) que tinham realizado OVH precoce foi diagnosticada com neoplasia da glândula mamária.

Verificou-se que existe uma associação entre a OVH precoce e a ocorrência de neoplasia mamária ($p < 0,001$).

Verificou-se, também, a existência de associação entre OVH e a presença de neoplasia mamária ($p < 0,001$).

3.3.4 Idade ao momento do diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária

Figura 1 – Distribuição dos casos por idade ao diagnóstico de neoplasia



Efetuuou-se o registo da idade, em anos, das cadela-caso aquando do primeiro diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária. Das 60 cadelas com neoplasia mamária, as que apresentaram menor idade ao diagnóstico tinham 3 anos e as cadelas mais velhas tinham 15 anos (figura 1). A idade média de diagnóstico foi 9,9 anos ($\pm 2,8$).

Não se verificou associação entre a idade ao diagnóstico e o tipo histológico de neoplasia mamária ($p > 0,05$), o peso vivo da cadela ($p > 0,05$), a raça ser determinada ou indeterminada ($p > 0,05$), o grupo racial ($p > 0,05$), o facto da cadela ter sido submetida a OVH ($p > 0,05$) e o tipo de mastectomia realizada ($p > 0,05$).

3.3.5 Tipo histológico da neoplasia mamária

Embora a classificação histológica (Anexo1) esteja dividida em 8 grandes grupos, apenas 5 destes (Neoplasia epitelial maligna, Neoplasia mesenquimal maligna, Neoplasia benigna, Carcinossarcoma, Hiperplasia/Displasia) foram diagnosticados nas cadelas com neoplasia avaliadas neste estudo. No entanto, a mesma cadela pode apresentar ao mesmo tempo neoplasias de diversos tipos histológicos.

Tabela 8 – Distribuição das cadelas-caso por classificação histológica da neoplasia mamária

Distribuição dos tipos histológicos			
	Variável	Casos (número total= 60)	
		n	%
Tipo histológico	Hiperplasia/ Displasia	1	1,7%
	Neoplasia Epitelial Maligna	49	81,7%
	Neoplasia Mesenquimal Maligna	2	3,3%
	Neoplasia Epitelial Maligna e Neoplasia Mesenquimal	1	1,7%
	Neoplasia Epitelial Maligna e Carcinossarcoma	1	1,7%
	Neoplasia Epitelial Maligna e Neoplasia Benigna	3	5,0%
	Carcinossarcoma e Neoplasia Benigna	2	3,3%
	Neoplasia Epitelial Maligna, Neoplasia Benigna e Hiperplasia/Displasia	1	1,7%

As análises histopatológicas foram realizadas por diferentes entidades.

O tipo histológico mais frequentemente diagnosticado foi a neoplasia epitelial maligna como tipo histológico único (49 cadelas/ 81,7%).

Não se verificou associação entre o tipo histológico da neoplasia e o peso vivo do animal. ($p > 0,05$), a raça da cadela ser determinada ou indeterminada ($p > 0,05$), o facto da cadela ter sido submetida a OVH ($p > 0,05$), a idade ao diagnóstico histopatológico ($p > 0,05$) e o tipo de mastectomia efetuada ($p > 0,05$).

3.3.5.1 Mastectomia

Dos 60 animais que efetuaram mastectomia, 10 (16,7%) não tinham referência do tipo de procedimento cirúrgico e, como tal, não foram considerados nas análises referentes a esta variável.

Efetuuou-se a classificação desta variável formando-se 3 grupos: Mastectomia parcial, mastectomia total unilateral e mastectomia total bilateral.

Tabela 9 – Distribuição das cadelas-caso por tipo de mastectomia

Distribuição do tipo de mastectomia efetuada			
	Variável	Casos (número total= 60)	
		n	%
Tipo de Mastectomia	Parcial + Total unilateral	2	3,3%
	Parcial	10	16,7%
	Total unilateral	24	40,0%
	Total bilateral	14	23,3%
	Sem dados	10	16,7%

Não se verificou associação entre o tipo de mastectomia efetuada e a idade ao diagnóstico histopatológico ($p > 0,05$) e o tipo histológico da neoplasia ($p > 0,05$).

3.4 Discussão

O presente estudo epidemiológico baseou-se na análise de casos clínicos recolhidos em dois hospitais de referência da cidade de Lisboa, com uma população alvo semelhante.

Para além dos casos de cadelas com neoplasia mamária, recolheram-se também casos controlo, de cadelas da mesma raça, idade semelhante e sem registo de neoplasia mamária.

Foram analisados 60 casos de cadelas com neoplasia mamária e 60 casos de cadelas livres de neoplasia mamária, de modo a permitir a avaliação de possíveis associações entre variáveis.

3.4.1 Raça e peso vivo

Verificou-se que a maioria dos animais com neoplasia mamária (58,3%) era de raça indeterminada, ao contrário dos estudos referenciados nos quais a ocorrência de neoplasia mamária é significativamente maior em raças puras (80,0%) do que em cadelas resultantes de cruzamentos (Mac Vean et al., 1978, Sorenmo et al., 2000).

Os grupos raciais (FCI) mais representados, para além da raça indeterminada, foram os cães levantadores e cobradores de caça e cães de água (VIII), 11,7%, e os cães de companhia (IX), 16,7%.

À semelhança do que é referido por Zatloukal et al. (2005) as raças identificadas neste estudo, com maior incidência de neoplasia mamária, foram a raça Caniche (11,7%) e a raça Cocker Spaniel (10%).

Nesta análise deve-se ter em consideração que a prevalência das raças varia de país para país devido a diferentes preferências e, como tal, é possível que, dependendo do local de recolha dos dados, variem as raças com maior incidência de neoplasia mamária.

A ausência de associação entre os diferentes grupos de raças e a ocorrência de neoplasia mamária ($p > 0,05$), o tipo histológico ($p > 0,05$) e idade ao diagnóstico ($p > 0,05$) pode-se dever ao reduzido número de animais em estudo.

Embora tenham sido recolhidos dados relativamente ao peso das cadelas, não se recolheu informação acerca da sua condição corporal, pelo que não foi possível avaliar a concordância com a bibliografia relativamente a este aspeto.

Não se verificou associação entre o peso vivo e a presença de neoplasia mamária ($p > 0,05$), o tipo histológico ($p > 0,05$) e a idade ao diagnóstico ($p > 0,05$), resultado que poderá ter sido influenciado pela pequena dimensão da amostra. Estas associações não são referenciadas na bibliografia consultada.

3.4.2 OVH

No nosso estudo verificou-se a existência de associação entre a OVH precoce e a ocorrência de neoplasia mamária ($p < 0,001$), sendo que 18,4% (11) das cadelas livres de neoplasia mamária foram sujeitas a OVH precoce (realizada até ao 1º ano de idade e antes do 3ºestro) e nenhuma das cadelas com diagnóstico desta neoplasia foi sujeita a esta cirurgia neste período. Deste modo, podemos afirmar que a OVH precoce pode ter sido fator preventivo da neoplasia mamária.

A OVH precoce poderá prevenir o desenvolvimento de neoplasia mamária das seguintes formas: (1) Inibindo o desenvolvimento da própria glândula que se inicia na puberdade. Se a cadela for ovariectomizada antes do primeiro estro não temos a ação dos estrogénios que, juntamente com a hormona do crescimento e os esteroides adrenais, iniciariam a proliferação do sistema de ductos; (2) Inibindo a produção de progesterona e estrogénio, hormonas esteroides que atuam como iniciadoras e promotoras do desenvolvimento de neoplasia mamária na cadela (Sorenmo et al., 2000; Johnston et al., 2001; Argyle et al., 2008). A progesterona induz a síntese de hormona do crescimento, criando assim um ambiente altamente proliferativo que facilita as alterações tumorais na mama (Garderen et al., 1997; Garderen & Schalken, 2002). Os estrogénios têm efeitos proliferativos no epitélio com subsequente aumento da atividade mitótica que pode fornecer as condições necessárias para a transformação tumoral e regulam vários proto-oncogenes nucleares que contribuem para a carcinogénese (Sorenmo et al., 2000); (3) Impedindo o aumento da progesterona e da prolactina durante o diestro, que estimulam o desenvolvimento dos alvéolos mamários (Queiroga et al., 2014); (4) Eliminando a necessidade de recorrer à administração de progestagénios, que se julga estarem associados com o aumento do risco de desenvolvimento dos tumores de mama (Rao et al., 2009; Sleenckx et al., 2011).

No grupo das cadelas com neoplasia mamária, 90% eram inteiras até ao diagnóstico, enquanto que a percentagem de cadelas inteiras no grupo controlo foi de 50%. Estes dados, juntamente com a associação verificada entre o facto da cadela ser castrada e a presença de neoplasia mamária ($p < 0,001$), mostraram que a OVH foi um factor preventivo destas neoplasias.

De acordo com Sorenmo et al (2000) a redução do risco de desenvolvimento de tumores de mama pela ovariectomia após os 2,5 anos é mínima. No entanto, neste estudo verificou-se uma associação entre o facto da cadela ser ou não castrada (independentemente da idade em que é efetuada a OVH) e a presença de neoplasia mamária ($p < 0,001$). Esta discordância poderá estar relacionada com o critério de definição de data de OVH.

Apenas 33,3% das cadelas doentes foram submetidas a OVH após terem sido diagnosticadas com tumor mamário, o que poderá estar associado a diferentes abordagens na resolução médica e cirúrgica deste problema.

3.4.3 Diagnóstico

O processo de diagnóstico de neoplasia mamária na cadela pode ser efetuado com recurso à anamnese, ao exame físico, à citologia, à histopatologia, entre outros. O teste diagnóstico considerado neste estudo foi a análise histopatológica visto este ser o método *gold standard* para estas neoplasias (Daleck et al., 1998).

A faixa etária com maior número de diagnósticos (65%) foi a dos 8 aos 11 anos de idade e a idade média ao diagnóstico foi de 10 anos, valor semelhante aos 10,5 anos referidos por Sorenmo, Shofer & Goldschmidt (2000).

A bibliografia refere que metade das neoplasias mamárias é maligna (Argyle et al., 2008). No entanto, neste estudo 59 tumores eram malignos e apenas 1 era benigno e 18,4% da totalidade dos tumores era composta por diversos tipos histológicos.

A grande incidência de neoplasias malignas neste estudo poderá dever-se ao facto dos tumores não terem sido avaliados pelos mesmos patologistas, que poderão reger-se por diferentes critérios de classificação histopatológica.

3.4.4 Tratamento cirúrgico

No estudo realizado 40% das cadelas foram submetidas a mastectomia total unilateral, 23,3% foram submetidas a mastectomia total bilateral, 16,7% a mastectomia parcial e 3,33% a mastectomia parcial e total unilateral.

Estima-se que grande percentagem de mastectomias totais unilaterais se deve à tentativa de excisão da totalidade do tumor e dos linfonodos associados às respetivas mamas, de modo a aumentar a taxa de sucesso terapêutico. Dado que em muitos casos não se encontrou informação sobre em que mamas se localizavam os tumores e quais as suas dimensões, não é possível discutir a extensão da excisão.

Sorenmo *et al.* (2000) defendem que a OVH, realizada conjuntamente com a mastectomia, pode ter um efeito retardador na progressão da neoplasia mas Yamagami *et al.*, (1996b) defendem que a OVH nesta situação não irá ter efeito protetor no aparecimento de novos tumores ou metástases ou na extensão do tempo de vida. Neste estudo foi possível verificar que 33,3% das cadelas doentes (20 cadelas) foram submetidas a ovariectomia após o diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária, provavelmente atendendo à teoria anteriormente referida de Sorenmo *et al.* (2000).

Como se trata de um estudo retrospectivo, não foi possível explorar a progressão da doença e avaliar a possível remissão ou recidiva do tumor nos casos em estudo. O acompanhamento dos casos teria permitido averiguar se efetivamente houve um efeito protetor na realização de OVH após o diagnóstico.

3.4.5 Limitações

O facto de se tratar de um estudo retrospectivo implica algumas limitações. O facto de não ser sempre o mesmo clínico a registar a história clínica leva a uma grande variabilidade no modo de registo dos dados. Nas decisões relativas à abordagem terapêutica é possível que tenham ocorrido variações devido a critérios adotados por diferentes clínicos e cirurgiões.

Este estudo teria sido beneficiado se os casos tivessem sido acompanhados pessoalmente, pelo menos durante a fase de diagnóstico. Deste modo haveria uma maior coerência e detalhe nos dados recolhidos.

Teria também sido benéfico ter uma amostra maior, o que permitiria uma maior segurança na análise das associações estudadas.

3.4.6 Estudos futuros.

Seria interessante a realização de mais estudos, em larga escala, incidindo na população de cães portugueses, relativamente à prevenção da neoplasia mamária e aos seus fatores de risco. Deste modo poderia ser possível incentivar os clínicos nacionais a promoverem mais a prevenção destas neoplasias.

4 Conclusão

Com o presente estudo pretendia-se avaliar se a ovariectomia precoce é um fator preventivo da neoplasia mamária na cadela.

Na amostra estudada, a maioria das cadelas com neoplasia mamária eram de raça indeterminada (58,3%) e as raças com maior representação foram a Caniche e Cocker Spaniel. O peso vivo médio das cadelas com neoplasia mamária foi 14,4kg e o das cadelas livres desta neoplasia foi 16,3kg.

A idade média de diagnóstico histopatológico de neoplasia mamária foi os 10 anos de idade, sendo 88% dos tumores malignos.

Foi possível concluir que a OVH precoce poderá prevenir o aparecimento da neoplasia mamária e que, mesmo quando efetuada tardiamente, esta cirurgia poderá prevenir o aparecimento destes tumores.

Não se encontrou associação entre: a ocorrência de neoplasia mamária e a raça, peso e o facto de a cadela ser ovariectomizada (mesmo que não precocemente); entre as variáveis “raça”, “peso” e “OVH” e a idade ao diagnóstico histopatológico e o tipo histológico da neoplasia; e entre estas duas últimas variáveis e o tipo de mastectomia efetuada.

Não foi possível avaliar o efeito prognóstico das diferentes técnicas cirúrgicas, nem do efeito da OVH pós-diagnóstico.

O presente estudo permitiu reforçar a ideia de que a ovariectomia precoce pode prevenir as neoplasias mamárias. Sugere-se uma maior divulgação da importância deste procedimento, por exemplo, nas consultas destinadas à primovacinação e, também, a realização de estudos mais pormenorizados e em maior escala, a nível nacional, referentes aos fatores de risco e fatores preventivos da neoplasia mamária na cadela.

5 Bibliografia

- Alenza, 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. *J Vet Intern Med*, 12, 132-139. Disponível em: doi: 10.1111/j.1939-1676.1998.tb02108.x
- Alkan, F., Üstüner, O., Bakirel, T., Çınar, S., Erten, G. & Deniz, G. (2012). The effects of piroxicam and deracoxib on canine mammary tumour cell line. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-8. Disponível em: doi:10.1100/2012/976740
- Argyle, D. J., Turek, M. M. & MacDonald, V. (2008). Canine and feline mammary tumors. D. J. Argyle, M. J. Brearley & M. M. Turek, *Decision making in small animal oncology*, (327-335). Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Boldizsár, H., Szenci, O., Muray, T. & Csenki, J. (1992). Studies on canine mammary tumours. I. Age, seasonal and breed distribution., [Abstract], *Acta Veterinaria Hungarica*, 40(1-2), 75-87. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1476093>
- Bonnett, B.B.N., Egenvall, A. & Hedhammar, Å. (2005). Mortality in over 350, 000 insured swedish dogs from 1995-2000 : I . Breed- , gender- , age and cause-specific rates. *Acta vet. Scand*, 46(3), 105-120. Disponível em: doi:10.1186/1751-0147-46-105
- Brambell, F. (1979) *Farm animal welfare council. Press Statement*. Minister of Agriculture, fisheries and food. Surbiton, Surrey. Disponível em: <http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20121007104210/http://www.fawc.org.uk/pdf/fivefreedom1979.pdf>
- Brunetti, B., Sarli, G., Preziosi, R., Monari, I. & Benazzi, C. (2005). E-Cadherin and β -catenin reduction influence invasion but not proliferation and survival in canine malignant mammary tumors. *Vet Pathol*, 4, 781-787. Disponível em: doi: 10.1354/vp.42-6-781
- Cassali, G., Lavallo, G., Nardi, A., Ferreira, E., Bertagnolli, A., Estrela-Lima, A., Alessi, A., Daleck, C., Salgado, B., Fernandes, C., Sobral, R, Amorim, R., Gamba, C., Damasceno, K., Auler, P., Magalhães, G., Silva, J., Raposo, J., Ferreira, A., Oliveira, L., Malm, C., Zuccari, A. Tanaka, N., Ribeiro, L., Campos, L., Souza, C., Leite, J., Soares, L., Cavalcanti, M., Fonteles, Z., Schuch, I., Paniago, J., Oliveira, T., Terra, E., Castanheira, T., Felix, A., Carvalho, G., Guim, T., Guim, T., Garrido, E., Fernandes, S., Maia, F., Dagli, M., Rocha, N., Fukumasu, H., Grandi, F., Machado, J., Silva, S., Bezerril, J., Frehese, M., Almeida, E. & Campos, C. (2011). Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 4(2), 153-180. Disponível em: http://www.abpv.vet.br/upload/documentos/download-full-article-29-20881_2011_7_11_14_42.pdf
- Chang, C., Tsai, M., Liao, J., Chan, J. P., Wong, M. & Chang, S. (2009). Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235, 391-396. Disponível em: doi: 10.2460/javma.235.4.391
- Chang, S., Chang, C., Chang, T. & Wong, M. (2005). Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998-2002). *JAVMA*, 227(10), 1625-1629. Disponível em: doi: 10.2460/javma.2005.227.1625

- Costa, A. R. (2013). Portugueses têm mais animais de estimação. *Veterinária Atual*. Acedido em 22 Abril, 2015, disponível em: <http://goo.gl/rBsvu>
- Cunningham, J.G. (2004). *Tratado de fisiologia veterinária*. (3ª edição). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan.
- Daleck, C.R., Franceschini, P.H., Alessi, A.C., Santana, A.E. & Martins, M.I.M. (1998). Aspectos clínico e cirúrgicos do tumor mamário canino. *Ciência Rural*, 1998(28), 95-100. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v28n1/a16v28n1>
- 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. *The Journal of Small Animal Practice*, 43(6), 240–246. Disponível em: doi: 10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x
- Dorn, C.R., Taylor, D.O., Frye, F.L. & Hibbard, H.H. (1967a). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. I. Methodology and description of cases., [Abstract], *Journal of the National Cancer Institute*, 40(2), 295. Disponível em: doi: 10.1093/jnci/40.2.295
- Dorn, C.R., Taylor, D.O., Schneider, R., Hibbard, H.H. & Klauber, M.R. (1967b). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County., [Abstract], *Journal of the National Cancer Institute*, 40(2), 307–318. Disponível em: doi: 10.1093/jnci/40.2.307
- Egenvall, A., Bonnett, B.N., & Patrik, O. (2005a). 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, 109–127. Disponível em: doi:10.1016/j.prevetmed.2005.01.014
- Egenvall, B.A., Bonnett, B.N. & Hedhammar, Å. (2005b). Mortality in over 350, 000 insured swedish dogs from 1995-2000 : II . Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta vet. scand*, 46, 121–136. Disponível em: doi:10.1186/1751-0147-46-121
- Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (2010). *Textbook of veterinary internal medicine: Volume2*. (7th ed), Missouri: Saunders Elsevier.
- Ferreira, E., Bertagnolli, A.C., Cavalcanti, M. F., Schmitt, F. C. & Cassali, G.D. (2009). The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. *Veterinary Comparative Oncology*, 7, 4, 23. Disponível em: doi: 10.1111/j.1476-5829.2009.00193.x
- Ferreira, E., Bregunci, G.C., Schmitt, F.C. & Cassali, G.D. (2003). Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 55, 105-109. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352003000100017>
- Filho, J., Kommers, G., Masuda, E., Marques, B., Figuera, R., Irigoyen, L. & Barros, C. (2010). Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. *Pesq. Vet. Bras*, 30(2), 177-185. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000200014>

- Fossum, T.W. (2008). *Cirurgia de pequenos animais*. (3ª edição versão portuguesa), São Paulo, Brasil: Mosby Elsevier.
- Garderen, E. & Schalken, J.A. (2002). Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/ growth hormone receptor system, molecular and cellular endocrinology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197(2002), 153-165. Disponível em: doi: 10.1016/S0303-7207(02)00259-9
- Garderen, E., Wit, M., Voorhout, W.F., Ruttman, 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), 1037-1047. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1857902/>
- Geraldes, M., Gärtner, F. & Schmitt, F. (2000). Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours. *Veterinary Record*, 146, 403-406. Disponível em: doi: 10.1136/vr.146.14.403
- Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R. & Zappulli, V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 48(1), 117-131. Disponível em: doi: 10.1177/0300985810393258
- Heller, D.A., Clifford, C.A., Goldschmidt, M. H., Holt, D.E., Shofer, F.S., Smith, E. & Sorenmo, K.U. (2005). Cyclooxygenase-2 expression is associated with histologic tumor type in canine mammary carcinoma. *Vet. Pathol*, 42, 776-780. Disponível em: doi: 10.1354/vp.42-6-776
- Horta, R., Lavalle, G., Cunha, R., Moura, L., Araújo, R. & Cassali, G. (2014). Influence of surgical technique on overall survival, disease free interval and new lesion development interval in dogs with mammary tumours. *Advances In Breast Cancer Research*, 3, 38-46. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4236/abcr.2014.32006>
- Itoh T., Uchida, K., Isikawa, K., Kushima, K., Kushima, E., Tamada, H., Moritake, T., Nakao, H. & Shii, H. (2004). Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: Differences between small-breed dogs and others. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67(3), 345-347. Disponível em: <http://doi.org/10.1292/jvms.67.345>
- Jaillardon, L., Nguyen, F., Loussouarn, D., Godard, T., Abadie, J. & Siliart, B. (2013). Canine invasive mammary carcinoma as a spontaneous model for overexpressing triple negative breast cancer. [Abstract], *American Association for Cancer Research*, 73(24), 2. Retirado de: doi:10.1158/0008-5472.SABCS13-P2-05-05
- Johnston, S., Kustriz, M. & Olson, P. (2001). *Canine and feline theriogenology*. United States of America: W.B.Saunders Company.
- MacVean, D.W., Monlux, A.W., Anderson, P.S., Silberg, S.L. & Roszel, J.F. (1978). Frequency of canine and feline tumors in a defined population. *Veterinary Pathology*, 15(6), 700-715. Disponível em: doi:10.1177/03008587801500602
- Marinho, V., Metze, K., Sanches, F., Rocha, G. & Gobbi, H. (2008). Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. *Ver Assoc Med Bras*. 54(3), 203-207. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v54n3/a11v54n3.pdf>

- Martin de las Mulas, J., Millán, Y. & Dios, R. (2005). A prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor and progesterone receptor expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. *Veterinary Pathology*, 42, 200-212. Disponível em: doi: 10.1354/vp.42-2-200
- Merlo, D.F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A., Sambuco, P.L., Sestito, V., Tanara, G. & Bocchini, V. (2008). Cancer incidence in pet dogs: Findings of the animal tumor registry of Genoa, Italy. *J Vet Intern Med*, 22, 976-984. Disponível em: doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x
- Miller, M.E., Christensen, G.C. & Evans, H.E. (1964). The mammary gland. In M.E. Miller, G.C. Christensen & H.E. Evans. *Anatomy of the dog*. (pp. 789-803). Philadelphia: W.B.Saunders.
- Misdorp, W. (1988). Canine mammary tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins. *The Veterinary Quarterly*, 10, 1. Disponível em: doi:10.1080/01652176.1988.9694142
- Misdorp, W. (2002). Tumors of the mammary gland. In D.J. Meuten (Ed.), *Tumors in domestic animals* (4th ed.). (pp. 575-606). Iowa: Iowa State Press.
- Misdorp W., Else RW., Hellmén E. & Lipscomb E. (1999). Definitions and explanatory notes. Who Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and Cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology. 18-27.
- Misdorp, W. & Hart, A.A. (1975). Prognostic factors in canine mammary cancer. *Oxford Journal*, 56(4), 779-786.
- Moe, L. (2001). Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. [Abstract], *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 57, 439-43. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23279535>
- Nerurkar, V.R., Ishwad, C.S., Seshadri, R., Naik, S.N. & Lalitha, V.S. (1990). Glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase activities in normal canine mammary gland and in mammary tumours and their correlation with oestrogen. *Journal of Comparative Pathology*, 102(2), 191-195. Disponível em: doi:10.1016/S0021-9975(08)80124-7
- Owen, L.N. (1980). The TNM Classification of tumors in domestic animals. 1 ed. Geneva: *World Health Organization*.
- Peleteiro, M.C. & Carvalho, T. (2011). Glândula mamária. In M.C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissarra & T. Carvalho. *Atlas de citologia veterinária*. (pp. 215-231) Portugal: Lidel.
- Peña, L., Gama, A., Goldschmidt, M., Abadie, J., Benazzi, C., Castagnaro, M., Díez, L., Gärtner, F., Hellmén, E., Kiupel, M., Millán, Y., Miller, M., Nguyen, F., Poli, A., Sarli, G., Zappulli, V. & Mulas, J. (2014). Canine mammary tumors: A review and consensus of standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER2, and hormone receptor assessment using immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 51(1), 127-145. Disponível em: doi: 10.1177/0300985813509388

- Queiroga, F.L., Alves, A., Pires, I. & Lopes, C. (2007). Expression of COX-1 and COX-2 in canine mammary tumours. *J. Comp. Path*, 136, 177-185. Disponível em: doi:10.1016/j.jcpa.2007.01.010
- Queiroga, F.L., Pérez-Alenza, M.D., González G.A., Silvan, G., Peña, L. & Illera, J.C. (2014). Serum and tissue prolactin levels in canine mammary tumours including inflammatory mammary carcinomas: insights into clinical and prognostic implications. *The Veterinary Record*, Disponível em: doi: 10.1136/vr.102263.
- Rao, N., Van Wolferen, M., Gracanin, A., Bhatti, S., Krol, M., Holstege, F., Mol, J. (2009). Gene expression profiles of progestin-induced canine mammary hiperplasia and spontaneous mammary tumours. *Journal of physiology and pharmacology*, 2009 (1), 73-84. Disponível em: http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/05_09_s1/pdf/73_05_09_s1_article.pdf
- Ribeiro, L.G.R., Damasceno, K.A., Costa, N.J.M., D'Assis, M.J., Costa, A.T., Silva, N. S., Aguiar, P.H., Cassanli, G.D. & Estrela-Lima, A. (2009). Expressão da COX-2 nos carcinomas mamários de cadelas. *Veterinaria em Foco*, 6(2), 134-139. Disponível em: https://desenvrepositorio.ufba.br/ri32-jspui/bitstream/ri/5333/1/revista_v6_n2.pdf#page=40
- Sleeckx, N., Rooster, H., Kroeze, E., Ginneken, C. & Brantegem, L. (2011). Canine mammary tumours, na overview. *Reprod Dom Anim*, 46, 1112-1131. Disponível em: doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x
- Sorenmo, K.U., Kristiansen, V.M., Cofone, M.A., Shofer, F.S., Breen, A., Langeland, M., Mongil, C.M., Grondahl, A.M. & 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), 162–172. Disponível em: doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00184.x
- Sorenmo, K.U., Rassotto, 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), 85-97. Disponível em: doi: 10.1177/0300985810389480
- Sorenmo, K.U., Shofer, F.S. & Goldschmidt, M. (2000). Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *J Vet Intern Med*, 14, 266–270. Disponível em: doi: 10.1111/j.1939-1676.2000.tb01165.x
- Sorlie, T., Tibshirani, R., Parker, J., Hastie, T., Marron, J., Nobel, A., Deng, S., Johnsen, H., Pesich, R., Geisler, S., Demeter, J., Perou, C., Lonning, P., Brown, P., Borresen-Dale, A. & Botstein, D. (2003). Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *PNAS*, 100(14), 8418-8423. Disponível em: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0932692100
- Souza, C., Toledo-Piza, E., Amorin, R., Barboza, A. & Tobias, K. (2009). Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *Can Vet J*, 50, 506-510. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671873/>
- Yamagami, T., Kobayashi, T., Takahashi, K. & Sugiyama, M. (1996a). Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *The Journal of*

Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science, 58(11), 1079–83.
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8959655>

Yamagami, T., Kobayashi, T., Takahashi, K. & Sugiyama, M. (1996b). Influence of ovariectomy at the time of mastectomy on the prognosis for canine malignant mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*, 37, 452-464. Disponível em: doi: 10.1111/j.1748-5827.1996.tb01740.x

Zatloukat, J., Lorenzová, J., Tichý, F., Nečas, A., Kecová, H. & Kohout, P. (2005). Breed and age as risk factors for canine mammary tumours. *Acta Vet. Brno*, 74, 103-109. Disponível em:

Zuccari, D., Marcilia, P., Terzian, A., Pereira, R., Ruiz, C. & Andrade, J.(2008). Immunohistochemical evaluation of e-cadherin, Ki-67 and PCNA in canine mammary neoplasias: Correlation of prognostic factors and clinical outcome. *Pesp. Vet. Bras*, 28(4), 207-215.

6 Anexos

Anexo 1 – Classificação histológica dos tumores de mama na cadela

Tabela 10 – Classificação histológica publicada por Goldschmidt *et al.* em 2010

Classificação histológica publicada por Goldschmidt <i>et al.</i> em 2010	
1: Neoplasias epiteliais malignas	1.1 Carcinoma - <i>in situ</i>
	a. Tubular
	1.2 Carcinoma Simples
	b. Tubulopapilar
	c. Quístico-papilar
	d. Cribiforme
	1.3 Carcinoma invasivo micropapilar
	1.4 Carcinoma sólido
	1.5 Comedocarcinoma
	1.6 Carcinoma anaplásico
	1.7 Carcinoma surge num adenoma complexo / Tumor misto (a zona benigna ainda é detectável nesta secção)
	1.8 Carcinoma tipo complexo (a componente epitelial é maligna e o mioepitelio é benigno)
1.9 Carcinoma e mioepitelioma maligno (as componentes epitelial e mioepitelial são ambas malignas)	
1.10 Carcinoma tipo misto (a componente epitelial é maligna; o mesenquima mioepitelial é benigno; a componente mesenquimal é cartilagem ou osso)	
1.11 Carcinoma ductal (equivalente maligno do adenoma ductal)	
1.12 Carcinoma papilar intraductal (equivalente maligno do adenoma papilar intraductal)	
2: Neoplasias epiteliais malignas- Tipos especiais	2.1 Carcinoma das células escamosas
	2.2 Carcinoma adenoescamoso
	2.3 Carcinoma Mucinoso
	2.4 Carcinoma rico em lípidos (secretor)
	2.5 Carcinoma das células fusiformes
	a. Mioepitelioma maligno b. Carcinoma das células escamosas - variante das células fusiformes c. Carcinoma - variante das células fusiformes
2.6 Carcinoma inflamatório	
3: Neoplasias mesenqui mais malignas - Sarcomas	3.1 Osteossarcoma
	3.2 Condrossarcoma
	3.3 Fibrossarcoma
	3.4 Hemangiossarcoma
	3.5 Outros sarcomas
4: Carcinosarcomas - Tumores mamários mistos malignos	

Tabela 10 (continuação) – Classificação histológica publicada por Goldschmidt et al. em 2010

Classificação histológica publicada por Goldschmidt <i>et al</i> em 2010 (continuação)		
5: Neoplasias Benignas		5.1 Adenoma simples
		5.2 Adenoma papilar intraductal (papiloma ductal)
		5.3 Adenoma ductal (adenoma basaloide) (com diferenciação escamosa - granulos queratohialinos)
		5.4 Fibroadenoma
		5.5 Mioepitelioma
		5.6 Adenoma complexo (adenomioepitelioma)
		5.7 Tumor benigno misto
6: Hiperplasia/ Displasia		6.1 Ectasia ductal
		a. Regular
		b. Com actividade secretória (lactante)
		c. Com fibrose (tecido conectivo interlobular fibroso)
	6.2 Hiperplasia lobular (adenose)	d. Epiteliose
		e. Papilomatose
		f. Fibroadenomatose
		g. Ginecomastia
7: Neoplasias do mamilo		7.1 Adenoma
		7.2 Carcinoma
		7.3 Carcinoma com infiltração epidermal (doença tipo Paget)
8. Hiperplasia / Displasia do mamilo		8.1 Melanose da pele do mamilo

Anexo 2 – Significâncias das associações estudadas

Tabela 11 Avaliação de associação – Teste exato de Fisher

Avaliação de associação – Teste exato de Fisher		
Variável A	Variável B	p
Neoplasia mamária	OVH precoce	p = 0.0005905 <i>Odds ratio</i> = 0
Neoplasia mamária	OVH antes do diagnóstico	p = 2.433 x 10 ⁻⁰⁶ <i>Odds ratio</i> = 0,1133181
Neoplasia mamária	Raça determinada/Indeterminada	p = 1
Neoplasia mamária	Grupo racial	p = 1
Neoplasia mamária	Grupo de peso	p = 0.5576

Tabela 12 - Avaliação de associação – Teste exato de Fisher

Avaliação de associação – Teste exato de Fisher		
Variável A	Variável B	p
Grupo de peso	Tipo histológico	p = 0.1562
Raça det/indet	Tipo histológico	p = 0.1662
OVH antes do diagnóstico	Tipo histológico	p = 0.3017
Tipo de mastectomia	Tipo histológico	p = 0.261

Tabela 13- Avaliação de associação – Análise de Variância (ANOVA)

Avaliação de associação – Análise de Variância (ANOVA)		
Variável A	Variável B	p
Grupo de peso	Idade ao diagnóstico*	p = 0,906
Grupo racial	Idade ao diagnóstico*	p = 0,951
Raça det/indet	Idade ao diagnóstico*	p = 0,471
OVH antes do diagnóstico	Idade ao diagnóstico*	p = 0,335
Idade ao diagnóstico*	Tipo histológico	p = 0,67
Tipo de mastectomia	Idade ao diagnóstico*	p = 0,363

* Teste de normalidade Shapiro-Wilk: p = 0,1233