

ALAN PERUZZO PAGANINI

**NÍVEIS SÉRICOS DE CA 15.3 EM CADELAS PORTADORAS DE TUMOR DE
MAMA COM DIFERENTES ESTADIAMENTOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P128n
2018 Paganini, Alan Peruzzo, 1991-
Níveis séricos de CA 15.3 em cadelas portadoras de tumor
de mama com diferentes estadiamentos clínicos / Alan Peruzzo
Paganini. – Viçosa, MG, 2018.
vii, 30f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Andréa Pacheco Batista Borges.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 25-29.

1. Cães - Doenças. 2. Marcadores biológicos de tumor.
3. Diagnóstico precoce. 4. Prognóstico. 5. Neoplasias da Mama.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22 ed. 636.08969949

ALAN PERUZZO PAGANINI

**NÍVEIS SÉRICOS DE CA 15.3 EM CADELAS PORTADORAS DE TUMOR DE
MAMA COM DIFERENTES ESTADIAMENTOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADO: 31 de julho de 2018.

Leandro Abreu da Fonseca

Tatiana Schimitz Duarte

Fabício Luciani Valente
(Coorientador)

Andréa Pacheco Batista Borges
(Orientadora)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Neoplasias mamárias em cadelas	3
2.2 Marcadores tumorais	7
2.3 Marcador tumoral CA 15.3	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Animais	14
3.2 Coleta de Dados	15
3.2.1 Avaliação hematológica.....	15
3.2.2 Avaliação radiográfica.....	16
3.2.3 Avaliação histopatológica.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6 CONCLUSÃO	24
7 REFERÊNCIAS	25
ANEXO 1 – Termo de autorização para uso de animais em estudo	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação adaptada do TNM dos tumores de mama em cadelas	7
Tabela 2– Estadiamento clínico de tumores de mama em cadelas.....	7
Tabela 3– Estatísticas descritivas das variáveis idade, hematócrito e leucometria global. ...	20
Tabela 4– Estatísticas descritivas para as variáveis ureia, creatinina, ALT, AST, FA.....	20
Tabela 5– Correlações para a variável CA 15.3.....	21
Tabela 6– Estadiamento clínico de tumores de mama em cadelas.....	22

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Gráficos de barras para a variável histopatológico, separados por grupos de acordo com o estadiamento clínico, evidenciando os tipos de neoplasias mamárias encontradas. . 17
- Figura 2- Gráficos de barras para a variável anticoncepcional, separados por grupos de acordo com o estadiamento clínico, evidenciando o uso da medicação nas cadelas avaliadas. 19

RESUMO

PAGANINI, Alan Peruzzo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Níveis séricos de CA 15.3 em cadelas portadoras de tumor de mama com diferentes estadiamentos clínicos.** Orientadora: Andréa Pacheco Batista Borges. Coorientador: Fabricio Luciani Valente, Emily Correna Carlo Reis, Leandro Abreu da Fonseca.

Dada a frequência com que surgem na rotina veterinária e a importância que os cães possuem como animais de companhia, o estudo das neoplasias mamárias caninas ganha destaque na medicina veterinária. Portadores dessa afecção encontram-se em situação de risco para o desenvolvimento de metástases, mesmo após longos períodos de remissão. O antígeno cancerígeno (CA) 15.3 é atualmente considerado o marcador tumoral mais sensível no acompanhamento de mulheres com câncer de mama, principalmente na detecção de metástases, antes mesmo do surgimento de manifestações clínicas. Tendo em vista a falta de estudos com marcadores tumorais e a alta incidência das neoplasias mamárias e metástases em cadelas, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo comparativo das concentrações séricas de CA 15.3 em cadelas saudáveis e com tumor de mama nos diferentes estágios da afecção, correlacionando sua expressão com os achados de hemograma e bioquímica sérica. Para tal, foram selecionadas 51 cadelas de idades e raças variadas, sendo 10 saudáveis, integrando o grupo controle, e as demais diagnosticadas com tumor de mama, atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa. As cadelas foram divididas em seis grupos, o controle (G0) composto por cadelas híginas, G1, G2, G3, G4 e G5, composto por cadelas classificadas em TNM 1, 2, 3, 4 e 5 respectivamente. Foram feitas avaliações hematológicas e o soro obtido desses animais foi processado por meio de quimioluminescência para detecção da concentração sérica do CA 15.3. Observou-se que os valores do biomarcador tumoral avaliado apresentaram variação estatística significativa, aumentando a quantificação sérica de acordo com a elevação do estadiamento tumoral. Portanto, a expressão do CA 15.3 contribui para o diagnóstico precoce de metástases e monitoramento de recidivas, pois houve diferença estatística significativa entre os grupos. Quanto mais avançado o estadiamento tumoral, maior a quantificação sérica do marcador. A partir

dos resultados encontrados pode-se sugerir a CA 15.3 como ferramenta importante no estadiamento clínico de neoplasias mamárias em cadelas.

ABSTRACT

PAGANINI, Alan Peruzzo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Series levels of CA 15.3 in bitches of breast tumor with different clinical stability.** Advisor: Andréa Pacheco Batista Borges. Co-advisor: Fabrício Luciani Valente, Emily Correna Carlo Reis, Leandro Abreu da Fonseca.

Given the frequency with which they arise in veterinary routine and the importance that dogs have as pets, the study of canine mammary neoplasms is highlighted in veterinary medicine. Patients with this condition are at risk for the development of metastases, even after long periods of remission. The carcinogenic antigen (CA) 15.3 is currently considered the most sensitive tumor marker in the follow-up of women with breast cancer, especially in the detection of metastases, even before the appearance of clinical manifestations. In view of the lack of studies with tumor markers and the high incidence of mammary neoplasms and metastases in female dogs, the aim of this study was to perform a comparative study of serum CA 15.3 concentrations in healthy and breast tumor dogs in different stages of the disease. correlating its expression with the findings of blood count and serum biochemistry. For this, 51 dogs of different ages and races were selected, 10 healthy, integrating the control group, and the others diagnosed with breast tumor, attended at the Veterinary Hospital of the Universidade Federal de Viçosa. The bitches were divided into six groups, the control (G0) composed of healthy bitches, G1, G2, G3, G4 and G5, composed of bitches classified in TNM 1, 2, 3, 4 and 5 respectively. Hematological evaluations were performed and the serum obtained from these animals was processed by chemiluminescence to detect the serum concentration of CA 15.3. It was observed that the values of the tumor biomarker evaluated showed significant statistical variation, increasing the serum quantification according to the elevation of tumor staging. Therefore, the expression of CA 15.3 contributes to the early diagnosis of metastases and monitoring of relapses, as there was a statistically significant difference between the groups. The more advanced the tumor staging, the higher the serum quantification of the marker. From the results found, CA 15.3 can be suggested as an important tool in the clinical staging of mammary neoplasms in female dogs.

1 INTRODUÇÃO

Na rotina veterinária de pequenos animais, é notável a prevalência das neoplasias mamárias, sendo consideradas uma das maiores causas de morte em cães (LAS MULAS e REYMUNDO, 2000). Segundo estudos realizados por De Nardi et al. (2002), as neoplasias mamárias representam 45,64% dos tumores avaliados sendo que 68,4% são de caráter maligno.

Estima-se que 48% de todas cadelas vem a óbito ou são submetidas a eutanásia um ano após o procedimento cirúrgico para remoção das neoplasias mamárias, em consequência da recorrência e/ou aparecimento de metástase (GRAHAM e MYERS, 1999).

Em consequência da alta taxa de mortalidade e morbidade relacionada à neoplasias mamárias, iniciou-se a busca por moléculas associadas a presença de neoplasias mamárias, sendo definidas como marcadores tumorais (GION e DAIDONE, 2004), uma vez que essas substâncias estão presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos e são produzidas primariamente ou como resposta do organismo ao tumor. Suas concentrações refletem a extensão da neoplasia, respostas ao tratamento e progressão da doença (JACOBS e HASKELL, 1991).

Diversos marcadores são utilizados na rotina oncológica, sendo um dos mais utilizados o marcador mucínogeno antígeno cancerígeno (CA) 15.3 (MOLINA et al., 2005). O marcador tumoral CA 15.3 apresenta papel importante na disseminação e malignidade das neoplasias mamárias, sendo em medicina humana amplamente utilizado, principalmente, como fator prognóstico, para avaliação de terapias e diagnósticos precoces de recidiva e metástases. Entretanto em medicina veterinária, os estudos sobre a utilização e valores de referência de CA 15.3 em cadelas portadoras de neoplasias mamárias ainda são escassos, e apresentam resultados conflitantes (BICALHO, 2012; CAMPOS, 2012).

Nesse contexto, visa-se por meio deste trabalho avaliar os níveis séricos de CA 15.3 em cadelas portadoras de neoplasia mamária, com o objetivo de obter um intervalo de referência desse biomarcador nos diferentes estadiamentos de neoplasia mamária em cadelas, correlacionando com os valores obtidos de hemograma e

bioquímica sérica. Assim como, espera-se com a avaliação das cadelas hípidas uma padronização dos valores obtidos. Desse modo, espera-se auxiliar no monitoramento de metástases de forma precoce no indivíduo acometido e conseqüentemente obter um prognóstico mais favorável durante o tratamento da afecção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Neoplasias mamárias em cadelas

As glândulas mamárias distribuem-se em duas cadeias e a sua nomenclatura é atribuída de acordo com a sua localização, sendo que, na cadela, se identificam geralmente cinco pares de glândulas: dois pares torácicos (craniais e caudais); dois pares abdominais (craniais e caudais) e um par inguinal. Apesar de pouco frequente, é possível algumas cadelas apresentarem quatro ou seis pares de glândulas. Em relação à circulação sanguínea, os principais vasos que irrigam as glândulas mamárias são: os ramos lateral e ventral da artéria intercostal e as artérias torácica interna e lateral que irrigam os dois pares de mamas torácicas; os vasos epigástricos superficiais craniais que irrigam o segundo par torácico e o primeiro abdominal; e os vasos epigástricos superficiais caudais que irrigam o segundo par abdominal e o par inguinal (FELICIANO et al., 2012).

Estruturalmente, as glândulas mamárias são formadas por lóbulos, cujos ductos drenam para ductos lactíferos. Estes abrem-se no teto, em número variável. O epitélio de revestimento dos ductos é duplo, onde as células podem ser cúbicas ou cilíndricas baixas. Os alvéolos das glândulas mamárias também são compostos por epitélios luminal e basal. As células epiteliais luminiais sintetizam e excretam proteínas lácteas e lipídeos durante a lactação, e as células basais ou mioepiteliais contraem-se, sob a influência da ocitocina, expelindo assim o leite. Além do tecido epitelial, ainda há a presença de fibroblastos e células adiposas que compõem e fazem a sustentação do tecido mamário. Essa formação é de extrema importância no estudo dos tumores mamários, pois existe uma relação direta entre seus componentes e o prognóstico da lesão (HORTA et al., 2013). Além disso, as células mioepiteliais são utilizadas como importante ferramenta no estudo do desenvolvimento normal da mama durante a lactação e na sua involução, assim como na formação tumoral maligna e metastática (CASSALI et al., 2017).

O sistema linfático é considerado a principal via para metástases de tumores malignos da glândula mamária em cães. O procedimento cirúrgico de tumores mamários implica na remoção do tumor, da mama e dos linfonodos associados à drenagem linfática das glândulas acometidas. Nesse sentido, é importante que o

cirurgião tenha conhecimento sobre a drenagem linfática dos tumores, para que a excisão cirúrgica seja realizada de forma adequada e um prognóstico preciso seja determinado. Os linfonodos inguinais são excisados como parte da mama inguinal, no entanto, os linfonodos axilares somente serão removidos se estiverem aumentados ou demonstrarem células neoplásicas ao exame citológico (McGAVIN e ZACHARY, 2016).

A circulação linfática promove o contato de glândulas homolaterais, mas não existe contato direto entre as cadeias direita e esquerda. Todas as glândulas têm drenagem independente para o linfonodo mais próximo. No entanto, as glândulas abdominais craniais são as únicas que drenam simultaneamente para os linfonodos axilares e para os inguinais (FELICIANO et al., 2012).

A drenagem linfática dos três pares de glândulas craniais é feita, através do linfonodo axilar, enquanto que o linfonodo inguinal superficial é tributário dos dois pares caudais. Em situações normais, a circulação linfática estabelece ligação entre algumas glândulas homolaterais. É, no entanto, importante salientar que a circulação linfática pode alterar-se no decorrer de um processo neoplásico, estando já descrita a comunicação entre as cadeias direita e esquerda, assim como entre glândulas adjacentes de uma mesma cadeia em direção cranial e caudal. Estas alterações têm significado clínico pois a disseminação de metástases linfáticas pode fazer-se sem obedecer ao fluxo normal da corrente linfática (MIALOT, 2015).

Os fatores que influenciam na oncogênese são os receptores de estrógeno, progesterona e hormônio do crescimento. Esses hormônios, em seus receptores, estimulam a proliferação do epitélio mamário, nos respectivos lugares onde são expressos incrementando a probabilidade de ocorrer erros genéticos, podendo originar mutações com potencial oncogénico (HORTA et al., 2013). Também há relatos sobre fatores nutricionais, idade e processos inflamatórios crônicos levando a oncogênese (BUIRAGO et al., 2015).

Mialot (2015) demonstrou que neoplasias mamárias de cadelas apresentam genótipo antigénico comparável àquele observado em lesões de mama em seres humanos com homologia entre ambos os genes. Ao mesmo passo, também fez uma correlação positiva com aspectos epidemiológicos, como faixa etária de aparecimento, morfologia, efeito protetor da ovariossalpingohisterectomia, presença de receptores

de estrógeno e progesterona na massa tumoral, órgãos alvo de metástase, evolução clínica e a hereditariedade em alguns casos.

As neoplasias mamárias podem se apresentar como nódulos pequenos ou grandes, aderidos ou móveis, únicos ou múltiplos, dependendo do comportamento biológico do tumor. Em alguns casos o tumor pode apresentar ulceração cutânea ou sinais evidentes de inflamação (FELICIANO et al., 2012). As glândulas abdominais caudais e inguinais são mais afetadas, provavelmente pela maior quantidade de tecido glandular (HORTA et al., 2013).

A avaliação dos pacientes com câncer de mama deve constar de exame físico completo, hemograma, perfil bioquímico sérico, assim como radiografias torácicas em busca de metástases pulmonares e, avaliação histopatológica (HORTA et al., 2013).

A primeira abordagem de paciente com nódulos mamários deve consistir em exame físico minucioso, não apenas das glândulas mamárias, mas também de características gerais que possibilitem avaliar o estado geral do animal. Ao exame físico da cadeia mamária, devem-se registrar aspectos como número, localização, consistência e tamanho da ou das neoplasias, assim como eventuais sinais de aderência aos tecidos adjacentes, deformações das mamas e ulceração na pele (FELICIANO et al., 2012). O exame físico específico deve permitir o estadiamento da doença neoplásica, uma vez que a identificação de metástases em linfonodos ou órgãos distantes encontra-se associada ao pior prognóstico, com grande impacto na abordagem terapêutica do paciente (RODASKI e NARDI, 2015).

Ao exame radiográfico devem-se realizar três projeções radiográficas do tórax: ventrodorsal e laterolaterais direita e esquerda, o que é essencial para avaliar a presença de metástases pulmonares e pleurais assim como alterações em linfonodos mediastinais (HORTA et al., 2013). A taxa de detecção dos nódulos pulmonares com 5,4 a 8 mm de diâmetro através de radiografias digitais é de apenas 26%, visto que existe um limiar de diâmetro mínimo para que os nódulos pulmonares se tornem radiograficamente visíveis. Assim sendo, a não identificação radiográfica de um nódulo pulmonar, não é evidência de que ele não exista (THRALL, 2014) pois massas menores que 7 - 9 mm podem não ser vistas ao exame radiográfico (HORTA et al., 2013). Embora a tomografia computadorizada apresente maior acurácia na detecção

de metástases pulmonares, ainda existe limitação ao seu uso devido ao alto custo do exame e/ou equipamento (THRALL, 2014).

Os tumores mamários são presuntivamente diagnosticados com base no histórico do paciente, na idade, no histórico reprodutivo, nos sinais clínicos e no exame físico, mas o diagnóstico definitivo e o tipo de tumor são determinados pelo exame anatomopatológico, principalmente histopatológico (MIALOT, 2015).

O exame histopatológico é considerado o método padrão-ouro para o diagnóstico, no entanto pode limitar prévia decisão clínica e/ou cirúrgica, já que na maioria dos casos, a avaliação histológica do nódulo/massa somente é feita pós-remoção cirúrgica. A histopatologia permite a avaliação estrutural do tecido, além de permitir observar detalhadamente a presença de pleomorfismo, o grau de diferenciação, o número de mitose, a ocorrência de necrose e as margens cirúrgicas. Sendo assim, o diagnóstico definitivo é baseado no resultado histopatológico após biópsia excisional (HORTA et al., 2013). Segundo estudos realizados por De Nardi et al, (2002) e Lana et al, (2007), as neoplasias mamárias malignas representam 68,4% dos tumores de mama.

O estadiamento descreve aspectos do câncer, como localização, disseminação, e se está afetando as funções de outros órgãos do corpo. Conhecer o estágio do tumor ajuda na definição do tipo de tratamento e a prever o prognóstico do paciente (HORTA et al, 2013)

O estadiamento clínico é estabelecido de acordo com o sistema TNM, para os tumores de mama caninos. Baseado nisto, T significa tamanho da lesão primária, N a presença de metástase em linfonodo regional e M metástase a distância, conforme evidenciado na tabela 1. Nódulos com três centímetros ou menores tem melhor prognóstico comparado a neoplasias maiores (McGAVIN e ZACHARY, 2016).

Tabela 1 - Classificação adaptada do TNM dos tumores de mama em cadelas

Tumor (T)	T0 Sem evidência de tumor primário T1 Tumor <3 cm T2 Tumor entre 3 e 5 cm T3 >Tumor <5 cm
Linfonodos regionais (N)	N0 Sem metástase linfonodal inguinal ou axilar N1 Linfonodo metastático
Metástases (M)	M0 Sem metástase a distância M1 Metástases à distância, incluindo linfonodos distantes

Fonte: Cassali et. al. (2017)

As combinações possíveis entre T, N e M, por sua vez originam o estadiamento clínico que varia de 1 a 5, conforme ilustrado na tabela 2.

Tabela 2– Estadiamento clínico de tumores de mama em cadelas

ESTADIAMENTO	T	N	M
ESTÁDIO I	T1	N0	M0
ESTÁDIO II	T2	N0	M0
ESTÁGIO III	T3	N0	M0
ESTÁGIO IV	Qualquer T	N1	M0
ESTÁDIOV	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: Cassali et. al. (2017).

O prognóstico dos animais que apresentam neoplasias mamárias depende de diversos fatores, dos quais se destacam, estadiamento, tipo de células neoplásicas e comportamento clínico do tumor, idade e condição clínica do animal, e presença de metástases (CASSALI et al., 2017).

2.2 Marcadores tumorais

Moléculas associadas à presença de neoplasias denominadas marcadores biológicos podem ser quantificados por métodos bioquímicos, imunológicos, morfométricos, ultra estruturais e moleculares nos fluidos ou nos tecidos corporais (CAPELOZZI, 2001), podendo refletir na extensão da neoplasia, prognóstico, sucesso da terapia e progressão da doença (JACOBS e HASSELL, 1991).

A detecção de neoplasias por marcadores tumorais ocorre de duas formas, sendo a primeira a identificação de substâncias presentes apenas em células neoplásicas, por antígenos tumor-específico e a outra por meio de substâncias normalmente produzidas no organismo, mas que se encontram acima dos valores

normais em consequência do aumento de sua produção pela neoplasia, denominadas antígenos tumor-associado (LINDBLOM e LILJGREN, 2000).

Um marcador para ser considerado ideal deve ter como características (1) ser produzido por células neoplásicas, sendo posteriormente disseminado para os fluidos corporais, (2) ser mensurado por métodos não invasivos, apresentando aumento proporcionalmente com o grau de malignidade da neoplasia e (3) refletir o estágio da doença (SOUZA, 2002). Entretanto, dentre todos os marcadores tumorais nenhum ainda possui todas as características necessárias para ser denominado perfeito (BICALHO, 2012).

Segundo Lindblom e Liljgren (2000), um marcador tumoral pode ser utilizado em conjunto com a anamnese, exame físico e exames de diagnóstico por imagem como auxílio para diagnóstico de uma doença específica, pesquisa de metástase ocultas ou diagnóstico precoce de recidivas e como avaliação da terapia utilizada. Harris et al., (2007), afirmam que os marcadores tumorais são altamente indicados como auxílio na avaliação prognóstica e avaliação da eficácia do tratamento realizado.

Os principais marcadores tumorais são divididos entre os membros da família das mucinas, principalmente MUC-1 (ex.: CA 15-3, CA 549), do antígeno carcinoembrionário (ex.: CEA), das oncoproteínas (ex.: HER-2/c-erbB-2) e das citoqueratinas (ex.: antígeno polipeptídico de tecido), (MOLINA et al., 2005).

Os membros da família mucinas são os marcadores mais utilizados na rotina (MOLINA et al., 2005), sendo que estas são glicoproteínas de alto peso molecular produto do gene MUC-1 (RIVERA, 1997). O gene MUC-1 é expresso normalmente em tecidos epiteliais (glândulas mamárias, trato reprodutivo feminino, próstata, testículo, glândula salivar, aparelho digestivo, exceto cólon, pâncreas, fígado, pulmão, rim, bexiga e olho) e em tecidos não epiteliais (células hematopoiéticas e células T ativadas) (BRAYMAN et al., 2004). Esse gene é responsável por diversas propriedades celulares, incluindo proliferação celular, adesão, apoptose e invasão (SOUZA, 2002).

Segundo Molina et al. (2005), a associação de dois marcadores mucinógenos não os tornam mais eficazes, visto que possuem sensibilidade e especificidade semelhantes, entretanto os mesmos autores afirmam que a associação de um

marcador mucinógeno (ex.: CA 15.3) e um marcador denominado antígeno carcinoembrionário (CEA) aumenta a especificidade e sensibilidade.

2.3 Marcador tumoral CA 15-3

Um dos principais marcadores tumorais utilizado na rotina de neoplasias mamárias em humanos é a CA 15.3. Esse marcador está relacionado principalmente ao adenocarcinoma mamário, e sua mensuração serve como auxílio no prognóstico, na recorrência e no monitoramento da terapia (MOLINA et al., 2005).

O CA 15.3 trata-se de uma grande glicoproteína transmembranar com 180 KdA, sendo que em condições normais é expressada apenas na porção apical das células epiteliais glandulares e em condições cancerígenas pode ser expressada por toda membrana celular (TAYLOR et al., 1999).

Apesar da função dessa glicoproteína não se apresentar totalmente elucidada, dados recentes sugerem que a CA 15.3 desempenha um papel de adesão celular, diminuindo interações célula-célula e célula-matriz celular (TAYLOR et al., 1999), ou seja, a expressão exacerbada em neoplasias primárias pode facilitar a separação de células cancerígenas de células normais adjacentes e/ou da matriz celular, podendo desempenhar papel fundamental no desenvolvimento de metástases.

Camundongos com deficiência dessa glicoproteína apresentaram déficits tanto no crescimento neoplásico quanto na formação de metástase. Outra forma de contribuição da CA 15.3 para a progressão neoplásica é através da modulação da resposta imunitária, inibindo as funções dos linfócitos T citotóxicos e das células ativadoras de linfocinas, o que dificulta ainda mais o reconhecimento imunitário da neoplasia (FUNG et al., 1999, TAYLOR et al., 1999).

Níveis elevados de CA 15.3 têm sido observado em neoplasias grandes e com acometimento de linfonodos. Notou-se que quando há aumento dos níveis séricos desse marcador a sobrevida tende a ser pior, concluindo-se que o CA 15.3 é importante como fator prognóstico, tanto de forma isolada quanto associado a outros fatores (MOLINA et al., 2002).

Segundo Molina et al. (1996), o marcador tumoral CA 15.3, devido a sua baixa sensibilidade, tem deficiência como diagnóstico precoce loco regional, entretanto mensuração seriada tem sido de grande utilidade para detecção de metástases distantes. Além disso, em 40-55% dos casos, seu aumento pode ser o primeiro indício de recidiva, antes mesmo de uma indicação clínica, radiológica e ultrassonográfica. Quando associado a mensuração de CEA pode ser observado um aumento em 5-25% de precisão.

A especificidade do CA 15.3 está relacionada aos valores de referência limítrofes utilizados, sendo observada uma maior especificidade e menor número de falsos positivos em pontos de cortes mais altos como 60 U/ml (MOLINA et al., 1996).

Segundo Souza (2002), a dosagem do CA 15.3 no pré-operatório para câncer de mama em mulheres, em estágio inicial, auxilia em planejamento de terapia coadjuvante mais agressiva ou apropriada a cada caso.

Em relação ao diagnóstico precoce, segundo Molina et al. (2005), o Grupo Europeu de Marcadores Tumorais preconiza o uso de mensurações seriadas desse marcador visando monitoração e diagnóstico precoce de recorrência ou aparecimento de metástase, sendo necessária mensurações a cada dois-quatro meses durante os 5 primeiros anos do acompanhamento das pacientes assintomáticas. Após esse tempo a mensuração passa para cada seis meses.

Em relação a utilização do CA 15.3 para monitoração da terapia, observa-se que quando há uma boa resposta do paciente, com regressão da doença, os níveis do marcador tendem a diminuir, enquanto em uma situação de agravo da doença os níveis do marcador tendem a aumentar (CHEUNG et al., 1991). O Grupo Europeu de Marcadores Tumorais recomenda a mensuração de marcadores tumorais a cada sessão de quimioterapia e quando em terapia hormonal a cada 3 meses (MOLINA et al., 2005).

Entretanto, o CA 15.3 por não possuir 100% de especificidade pode apresentar valores aumentados em outras afecções como doenças como hepatite crônica, tuberculose ou até em outros tipos de neoplasia, como câncer de ovário, de colo uterino, de pulmão e de fígado. Assim, esse marcador não é indicado para triagem e para diagnóstico de câncer. Porém, como prognóstico e diagnóstico precoce de recidivas ou metástases, sua mensuração é recomendada (ALMEIDA et al., 2007).

Na literatura, ainda há pouco consenso sobre alterações nos valores que possam representar importância clínica desse marcador. O Grupo Europeu de Marcadores Tumorais preconiza que quando há aumento de 25% do valor anterior, apresentando-se acima do intervalo de referência, e uma nova mensuração, feita dentro de um mês, continuar próximo a esse valor, o marcador passa a possuir importância clínica. Entretanto, deve-se estar atento a aumentos muito drásticos logo após o tratamento, visto que, segundo Molina et al., (2005), os níveis do marcador tumoral podem estar elevados nesse caso, sendo necessário uma nova mensuração para confirmação.

A concentração da maioria dos marcadores tumorais é extremamente baixa no sangue e por isso, o método de mensuração dos marcadores deve ser muito sensível (SOUZA, 2002).

A mensuração da glicoproteína CA 15.3 é realizada por um ensaio imunoluminométrico onde, um distinto epítipo é identificado por anticorpos monoclonais, o 115D8 (anticorpo de capturação) e o DF3 (anticorpo de detecção). Essa identificação ocorre por meio de um imunoensaio ELISA sandwich onde, durante a primeira incubação o antígeno (CA 15-3) liga-se ao anticorpo monoclonal de parte sólida (115D8), quando realiza uma primeira lavagem para remoção do antígeno não ligado. Posteriormente, durante uma segunda incubação o conjugado (DF3) reage com o CA 15-3, sendo realizadas diversas lavagens e por fim, a concentração desse marcador é mensurada através de uma reação de quimioluminescência. O sinal luminoso é medido por um fotomultiplicador em unidades relativas de luz (RLU), quantificando o CA 15-3 da amostra em U/ml (BICALHO, 2012).

Marchesi et al. (2010), sugerem que apesar de existir uma escassez de valores de referência na literatura, a quimioluminescência é uma técnica sensível, simples de realizar e de baixo custo, e que o kit de reagentes desenvolvido para a espécie humana, pode ser promissor na mensuração dos níveis séricos de CA 15-3 em cadelas, dada a semelhança estrutural entre a glicoproteína humana e a canina.

Em estudo realizado por Bicalho (2012), após coleta de duas alíquotas de soro de cadelas híidas, que foram armazenadas e refrigeradas a – 20 °C, essas amostras foram utilizadas em um kit de imunoensaio de quimioluminescência para quantificação do CA 15-3, visando a obtenção de valores de referência de marcador tumoral em cadelas híidas. Na primeira parte desse estudo, não foram detectadas a presença

do marcador tumoral. Entretanto, na segunda parte antes das amostras serem utilizadas no kit para quantificação do CA 15-3, elas foram centrifugadas e 4 ml do soro obtido de cada amostra, foram transferidos para tubos concentradores de proteínas (Amicon® Ultra-4 Centrifugal Filter Devic) e centrifugados a 25 °C, 3800 rpm/25minutos. Assim, obtiveram 2 ml de soro com o dobro da concentração inicial. Em seguida as amostras foram divididas em 4 alíquotas de 0.5 ml que foram preservadas a -20 °C constituindo a primeira concentração. Com os 2 ml restantes, o procedimento anterior foi repetido para obtenção de 4 amostras de 0.5 ml 4 vezes mais concentradas.

O resultado demonstrado por Bicalho (2012) nessa segunda parte do seu experimento demonstrou-se satisfatório sendo o CA 15-3 detectado em 60% nas amostras 2 vezes mais concentradas e em 70% nas amostras 4 vezes mais concentradas, levando-o a conclusão que o teste de ensaio imunoluminométrico por quimioluminescência humano é viável para o uso em cães.

Estudo conduzido por Araújo et al. (1998) teve como objetivo analisar os níveis séricos do marcador CA 15.3 em cadelas saudáveis e aquelas com neoplasias mamárias, correlacionando resultados com tipo de tumor, estadiamento clínico, tempo até apresentação e presença de ulceração e vascularização. Foram utilizadas 30 cadelas híginas e 30 cadelas portadoras de neoplasias mamárias. A dosagem sérica do marcador tumoral CA 15-3 foi realizada por meio de kits baseados na técnica de quimioluminescência comercial sem prévia concentração das amostras. Nesse estudo não foi possível a dosagem do marcador CA15-3 através dos kits utilizados, demonstrando sua ineficácia para utilização em cadelas.

Apesar do marcador tumoral CA 15.3 ser amplamente estudado em medicina humana desde a década de 80 e continuar sendo o marcador de eleição para diagnóstico precoce de metástases de tumor mamário em mulheres, poucas referências existem no que se refere à medicina veterinária (BICALHO, 2012).

A concentração da maioria dos marcadores tumorais é extremamente baixa no sangue, por isso o método que avalia os marcadores deve ser muito sensível. A vantagem da detecção através eletroquimioluminescência em comparação com os demais métodos, consiste na preparação simples, na alta estabilidade dos reagentes em uma grande sensibilidade do teste. Os primeiros ensaios utilizados na detecção

do CA 15.3 eram manuais. Mais tarde tornaram-se disponíveis ensaios imunoenzimáticos e recentemente os imunoenaios automatizados vieram acrescentar velocidade e precisão aos resultados (MARTINS e FERREIRA, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Todos os procedimentos envolvendo animais no presente projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA – UFV), sob protocolo nº 02/2017.

Os animais foram incluídos no estudo após o consentimento livre e esclarecido dos proprietários, permitindo utilização dos dados obtidos. Foram utilizadas 51 cadelas provenientes da rotina ambulatorial do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, selecionadas independente de raça ou idade, sendo que destes, 41 possuíam indicação cirúrgica de mastectomia e 10 passaram por procedimento de ovariossalpingohisterectomia (OSH) eletiva. Para avaliação pré-operatória, realizou-se avaliação hematológica e radiografia torácica, procedida de análise histopatológica do tecido mamário no pós-operatório. Excluiu-se do estudo cadelas com alterações hepáticas ou neoplasias epiteliais, pois essas afecções podem alterar os níveis séricos de CA 15.3, interferindo nos resultados.

Os grupos foram divididos em grupo 0 ou controle (G0), composto por 10 cadelas com indicação de OSH eletiva, livres de alterações hematológicas, radiográficas em região torácica sugestivas de neoplasia e com avaliação histopatológica compatível com tecido mamário saudável, grupo 1 (G1) com 11 cadelas classificadas em TNM I, grupo 2 (G2), contemplado por 11 cadelas que apresentaram neoplasia mamária classificada em TNM II, grupo 3 (G3) elencado por 11 cadelas possuindo neoplasia mamária classificadas em TNM III, e grupo 4 (G4), com 8 cadelas classificadas em TNM IV. Não houve formação do grupo 5 (G5) onde encontrar-se-iam cadelas classificadas em TNM V, pois os proprietários das cadelas portadoras de metástase pulmonar, não autorizaram o procedimento.

3.2 Coleta de Dados

3.2.1 Avaliação hematológica

Por meio de venopunção com agulha 25 x 0,7 mm acoplada a uma seringa de 10 mL, coletou-se amostra de 10 mL de sangue da veia cefálica ou veia jugular, aproveitando-se da coleta de sangue rotineira para avaliação pré-operatória das pacientes submetidas à mastectomia ou OSH. O sangue foi armazenado em tubos de coleta com anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para realização de hemograma. Para este exame, a amostra sanguínea passou por homogeneização em homogeneizador Hemoquímica modelo H1 por um minuto. Em seguida, a amostra passou por processamento em equipamento HumaCount Plus, marca Human, fornecendo valores de contagem total de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume globular médio, hemoglobina globular média, concentração de hemoglobina globular média, plaquetas e leucócitos totais. Para contagem diferencial de leucócitos o sangue foi homogeneizado novamente e realizado o esfregaço sanguíneo. Após secagem, o esfregaço passou por coloração tipo Romanowsky. Após enxague e secagem da lâmina, realizou-se a contagem diferencial por microscopia óptica.

Para análises bioquímicas uma amostra sanguínea foi armazenada e conservada em tubo sem anticoagulante, sendo analisados o perfil renal (ureia e creatinina) e o hepático (ALT, AST, FA) como de rotina. Para realização desses testes, a amostra permaneceu em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. A pós, centrifugada a 3.000 rotações por minuto por 10 minutos em equipamento BE4000, marca Bioeng, separando-se o soro, que foi armazenado em outro tubo. O soro foi processado em equipamento HumaStar Plus, marca Human, com kits comerciais.

Imediatamente antes da realização do procedimento cirúrgico, uma nova amostra sanguínea de aproximadamente 10 ml foi coletada e armazenada em tubo sem anticoagulante, com o intuito de obter-se o soro da amostra, utilizando-se dos mesmos métodos relatados anteriormente. O soro adquirido foi fracionado em quatro alíquotas proporcionais e congeladas a -20 °C para posterior mensuração da CA 15.3, através do método de quimioluminescência em kit comercial humano, visto que a estrutura da química do CA 15.3 canino possui homologia acima de 90% com o CA 15.3 humano.

3.2.2 Avaliação radiográfica

A avaliação radiográfica para pesquisa de metástase pulmonar foi realizado por meio de radiografia laterolateral direita, laterolateral esquerda e ventrodorsal. De acordo com Thrall (2014), considerou-se positivo para metástase pulmonar os animais que apresentaram padrão pulmonar intersticial estruturado com a existência de nódulos acima de 7 – 9 mm de diâmetro, para evidência radiográfica de metástase pulmonar.

3.2.3 Avaliação histopatológica

No ato cirúrgico de rotina, coletou-se um fragmento da neoplasia mamária ou mama sadia, o qual foi acondicionado separadamente em frasco plástico contendo solução de formol tamponado a 10% em volume igual a 10 vezes o volume da amostra. O material foi encaminhado ao Laboratório de Patologia do Departamento de Veterinária - UFV, onde houve o seu processamento, com inclusão em parafina, cortes com micrótomo, corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina e analisado ao microscópio óptico. As análises microscópicas das lesões foram realizadas por único médico patologista, priorizando-se a separação entre lesões malignas e benignas e, quando possível, caracterizando-se a linhagem celular.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídas na pesquisa 51 cadelas no período de 22 de março de 2017 a 22 de março de 2018, sendo 10 saudáveis integrando o grupo controle (G0) e as demais apresentando neoplasia mamária nas diferentes classificações de TNM (G1, G2, G3 e G4).

A figura 1 apresenta os gráficos de barras referentes aos tipos histológicos encontrados nos diferentes grupos avaliados, exceto no grupo controle (G0), onde o tecido mamário era saudável.

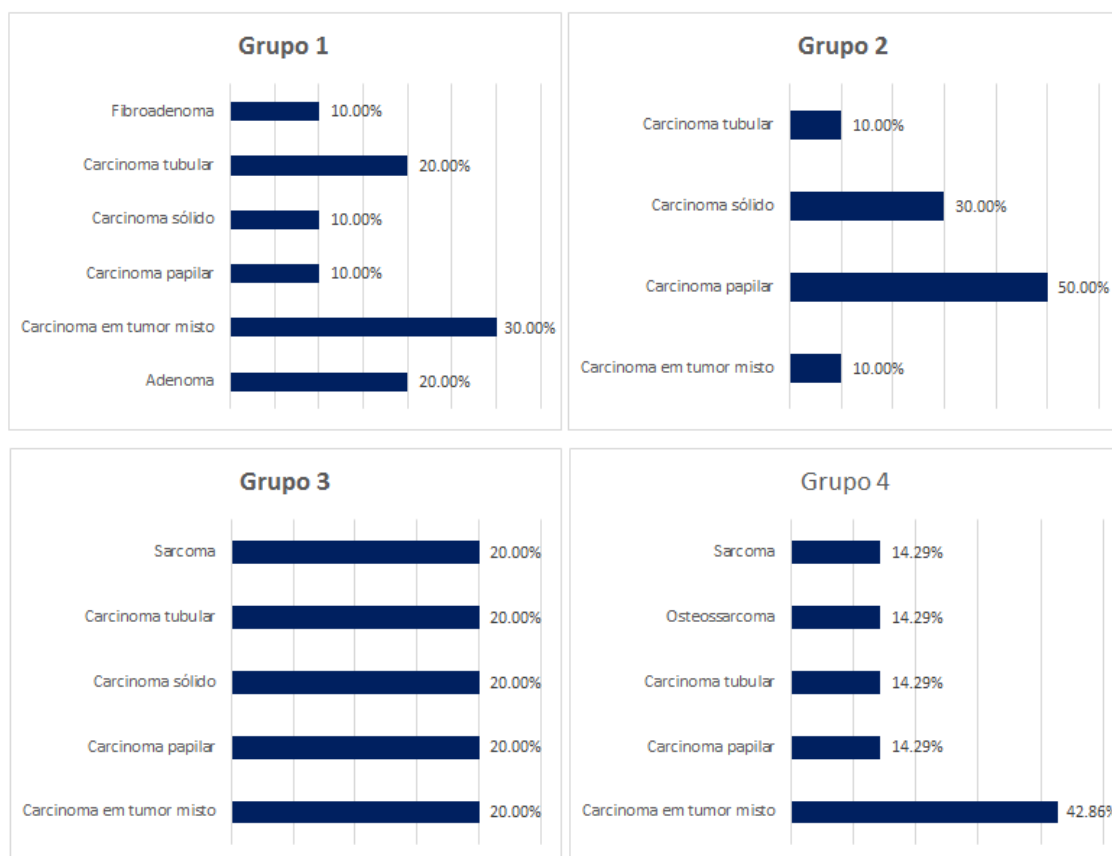


Figura 1- Gráficos de barras para a variável histopatológico, separados por grupos de acordo com o estadiamento clínico, evidenciando os tipos de neoplasias mamárias encontradas.

A proporção de 70% de lesões malignas para 30% de lesões benignas encontradas no grupo 1 e 100% de lesões malignas encontradas nos grupos 2, 3 e 4, discordam de estimativas brasileiras, onde relata-se que cerca de 50% das neoplasias mamárias em cadelas são malignas (DE NARDI et al., 2002). Essa discrepância de

valores pode ser decorrente da falta de sistematização histológica para classificação das neoplasias mamárias (RIBAS et al., 2012).

O diagnóstico tardio também influencia na classificação das neoplasias mamárias, visto que é rotineiro os tutores relatarem lesões antigas e a busca por auxílio médico veterinário ser realizada apenas quando há agravamento do problema, assim, torna-se comum a malignização dos tumores (RIBAS et al., 2012). Esse dado, é frequentemente observado na rotina ambulatorial do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, o que pode ter contribuído para o alto índice de neoplasias malignas encontrado.

Um fator relevante, é o uso de anticoncepcionais em cadelas, nesse sentido, a figura 2 apresenta os gráficos de barras referentes ao uso de anticoncepcionais nas cadelas pertencentes aos diferentes grupos avaliados, exceto no grupo controle, cujas cadelas nunca receberam tal medicação. Em estudo realizado por Sbiacheski e Da Cruz (2016), 83 cadelas foram expostas a contraceptivos, e cerca de 37% foram diagnosticadas com neoplasia mamária, 40% piometra e 18% apresentaram fetos enfisematosos, ficando clara a relação de tais patologias com uso indiscriminado de anticoncepcionais. No estudo realizado por Montanha et al. (2012), o amplo uso de anticoncepcionais se deve principalmente pelo baixo custo e fácil acesso comercial. Tal fato, corrobora com os dados obtidos nesse estudo, em que no grupo controle (G0) não houve administração de anticoncepcional, já no grupo 1, 30% dos indivíduos fizeram uso de anticoncepcional, no grupo 2 40%, no grupo 3 50% e no grupo 4 44%.

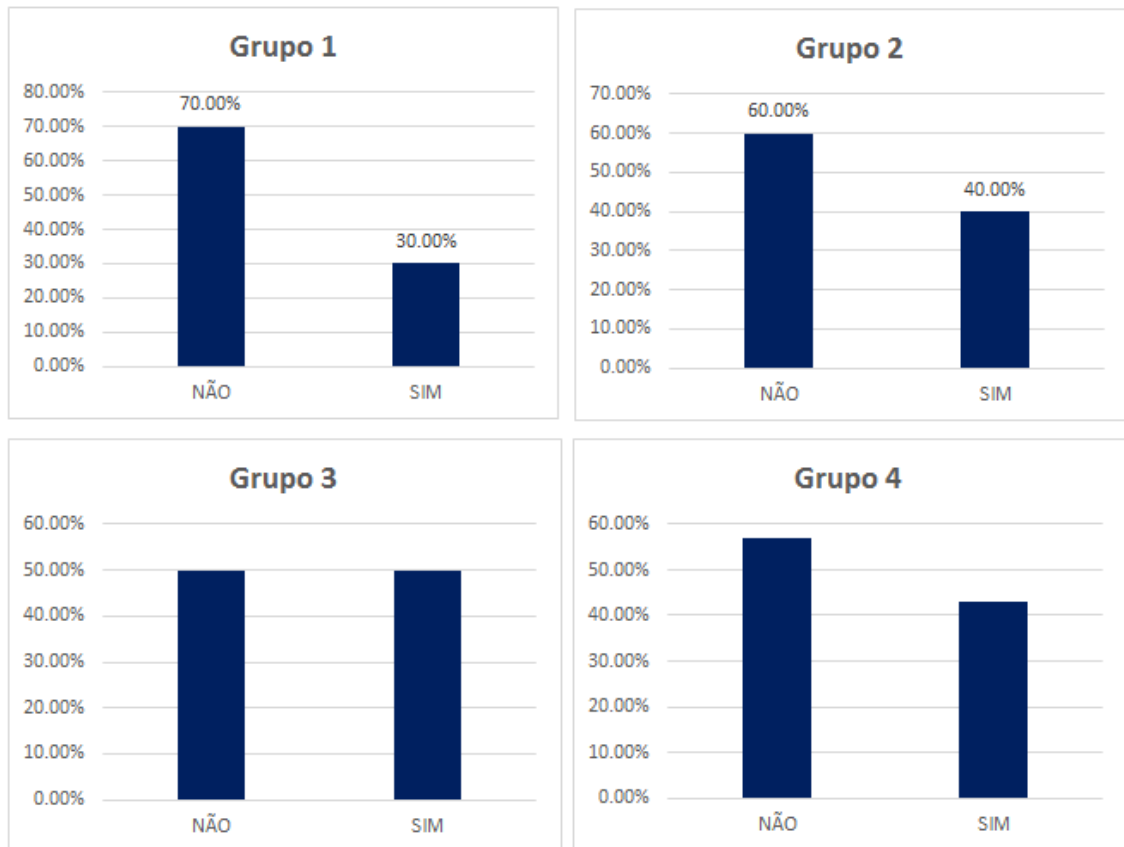


Figura 2- Gráficos de barras para a variável anticoncepcional, separados por grupos de acordo com o estadiamento clínico, evidenciando o uso da medicação nas cadelas avaliadas.

Segundo Stockham; Scott (2008), um distúrbio crônico com um componente inflamatório iniciará um processo que causa anemia, pela liberação de prostaglandinas e inibição de eritropoietina. Dentre os processos inflamatórios crônicos, encontram-se as neoplasias mamárias, as quais sofrem necrose e/ou inflamação ao redor ou em seu interior, fazendo com que o paciente expresse anemia e leucocitose em estágios mais avançados da afecção. Contudo, o presente estudo demonstrou que as cadelas, nos diferentes estadiamentos avaliados, com neoplasia mamária, não apresentaram resultados expressos em média compatível com um quadro de anemia ou leucocitose, como mostra a tabela 3 e 4. Contudo, poucos animais apresentaram FA elevada, que segundo a literatura essa variação isolada não caracteriza processo patológico, visto que no presente trabalho, o hematócrito variou de 38,85% a 43,47% e a leucometria global variou de 11762,5 a 14545,45 células/mm³. Assim, estudos futuros são necessários para verificar o papel da inflamação em cadelas portadoras de neoplasia mamária.

Tabela 3– Estatísticas descritivas para as variáveis idade, hematócrito e leucometria global.

GRUPO	IDADE	HCT	LEU G
0	6,61±3,60	44,56±3,83	10720±2108,61
1	11,00±3,71	38,85±7,73	13812,73±11401,06
2	9,91±3,48	43,47±5,13	13526,36±5942,00
3	11,27±2,28	38,54±4,83	14545,45±6541,92
4	12,50±3,42	42,63±5,66	11762,50±2161,31

Tabela 4– Estatísticas descritivas para as variáveis uréia, creatinina, ALT, AST, FA.

GRUPO	URÉIA	CREATININA	ALT	AST	FA
0	32,60±11,82	0,90±0,19	44,00±13,26	51,60±8,37	92,00±25,14
1	46,38±38,01	0,80±0,34	41,00±24,88	37,82±12,06	130,73±183,95
2	33,98±18,36	0,82±0,29	45,00±16,84	46,64±14,31	168,73±142,07
3	24,88±10,87	0,67±0,12	35,18±20,53	43,36±12,22	243,09±275,30
4	36,83±10,42	0,84±0,20	64,75±39,91	52,13±25,46	107,75±70,84

Para verificar quais variáveis teriam correlação estatisticamente significativa com a variável CA 15.3, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Os resultados dessa correlação estão expressos na Tabela 5. Observou-se que apenas a variável idade possui correlação significativa com a variável CA 15.3, que acontece de tal forma que à medida que a idade aumenta, o valor da variável CA 15.3 também tende a aumentar.

De acordo com Lana et al. (2007), a probabilidade de desenvolvimento de tumores mamários aumenta com a idade do animal, situando-se a idade média de manifestação tumoral, nas cadelas, entre 10 e 11 anos. Assim sendo, a idade avançada no momento do diagnóstico é uma variável prognóstica que está relacionada diretamente com a sobrevida do paciente. Cabe ressaltar que, segundo Philibert et al., (2003) para avaliação da variável idade deve-se considerar a peculiaridade de cada raça em relação à expectativa de vida. Entretanto, nesse estudo, foi utilizada a idade cronológica dos animais, método esse adotado pela maioria dos pesquisadores.

Tabela 5– Correlações para a variável CA 15.3.

	Variáveis	Spearman	p-valor
CA 15.3	Idade	0.449	0.001 *
	Uréia	-0.400	0.779
	Creatinina	-0.186	0.191
	ALT	0.052	0.719
	AST	-0.053	0.712
	FA	0.073	0.609
	HCT	-0.164	0.251
	LEU G	0.186	0.192

* indicam correlação significativa ao nível de 5% de significância.

A idade média observada nesse estudo foi de 6,1 anos para as pacientes hígdas, de 11 anos para as pacientes estadiadas em TNM 1, idade média de 9,91 anos para as estadiadas em TNM 2, de 11,27 anos para as pacientes estadiadas em TNM 3 e de 12,5 anos para as estadiadas em TNM 4. A frequência de cadelas portadoras de tumor de mama, em relação à média de idade, que participaram desse estudo também vai de acordo com valores descritos por Itoh et al. (2005) os quais relatam que animais adultos e idosos são mais acometidos do que filhotes.

Outro fator importante relaciona-se à ovariossalpingohisterectomia precoce, realizada antes do primeiro estro, que reduz o risco de desenvolvimento da neoplasia mamaria para 0,5%. Este risco aumenta significativamente nas fêmeas esterilizadas após o primeiro ciclo estral (8,0%) e o segundo (26%). A proteção conferida pela castração desaparece após os dois anos e meio de idade, quando nenhum efeito é obtido. Além disso, a prolactina estimula o crescimento do tumor mamário por meio da sensibilização celular aos efeitos do estrógeno, promovendo aumento no número de receptores de estrógeno. Portanto, tanto o estrógeno quanto a prolactina são necessários ao crescimento de tumores mamários (GINNEKEN & BRANTEGEM, 2011). Desta forma, a idade das cadelas com tumores mamários reportadas no presente trabalho, corrobora com tal estudo, visto que a média de idade é de 11,17 anos nas cadelas dos grupos 1, 2 3 e 4.

No intuito de verificar existência de diferença significativa entre os cinco grupos quanto ao valor, foi realizado inicialmente o teste ANOVA seguido do teste de Tukey a nível de 5% de significância, de modo que foi obtido um p-valor $<0,001 < 0,05$, demonstrando que a expressão do CA 15.3 aumenta de acordo com o estadiamento clínico das neoplasias mamárias.

De acordo com a Tabela 6, pode-se perceber que a maior média de CA 15.3 foi expressada no grupo 4 e a menor no grupo 0. Observa-se também que todos os grupos apresentam uma variabilidade baixa, isso levando em consideração os valores dos desvios-padrão.

Tabela 6– Valores de CA 15.3 de acordo com o estadiamento clínico de tumores de mama em cadelas

Variável	Grupo	Média	Desvio-Padrão
CA 15.3 U/ml	Grupo 0	0,45 x 10 ²	0,07 ^a
	Grupo 1	1,08 x 10 ²	0,31 ^b
	Grupo 2	1,85 x 10 ²	0,40 ^c
	Grupo 3	2,97 x 10 ²	0,29 ^d
	Grupo 4	3,85 x 10 ²	0,28 ^e

Desvio-padrão seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a nível de 5% de significância.

Para Ribas et al. (2012) a classificação TNM para o estadiamento de caninos com neoplasia mamária é um fator importante a ser considerado quanto ao comportamento clínico dos tumores devido à expressiva variação individual dos animais. Como exemplo, um tumor mamário maligno classificado como T1 (< 3cm) em um cão de pequeno porte (até 10 kg) possivelmente apresentará comportamento clínico diferente em um cão de grande porte (maior que 25 kg), devido à menor proporção do tumor em relação à área de superfície corporal, sendo necessário revisão e adequação da classificação TNM para cadelas com neoplasia mamária, uma vez que apesar tumores mamários pequenos (< 3 cm) geralmente são benignos, exige-se uma instituição imediata de tratamento, pois em alguns casos se comportam de forma agressiva.

Em trabalho realizado por Campos (2012) em cadelas com e sem metástase em câncer de mama, os resultados encontrados sugerem que a elevação na concentração sanguínea do marcador CA 15.3 é proporcional ao estadiamento clínico da doença. A mesma, realizou a dosagem de CA 15.3 em 100 cadelas híidas através do métodos de quimioluminescência, contudo, só encontrou valores detectáveis pelo kit utilizado após a concentração do soro. Fonseca e Daleck (2016) detectaram a presença de CA 15.3 em cadelas portadoras de neoplasias malignas, em concentrações maiores do que naquelas que não apresentavam neoplasias. Hedlund (2015) verificou maiores concentrações séricas de CA 15.3 em cadelas portadoras de neoplasias mamárias, quando em comparação com cadelas híidas. Assim, com o

avanço do estágio da doença os níveis séricos de CA 15.3 aumentam significativamente, no entanto, níveis baixos podem não excluem metástases e também valores altos no pré-operatório nem sempre podem corresponder a mau prognóstico.

Entretanto, nesse estudo houve uma relação linear na expressão da CA 15.3 com o estadiamento tumoral, o que está de acordo com Almeida et al. (2007) que relaciona a elevação do CA 15.3 de acordo com o estadiamento do paciente, demonstrando-se elevado em 5-35% nos casos de pacientes no estágio I da doença, 15-50% dos casos no estágio II, 60-70% no estágio III e 65-95% no estágio IV. Observaram também, que aumento superior a 25% desse marcador indica progressão da doença em 80-90% dos casos e sua diminuição está correlacionada a regressão da doença em 70-80% dos casos.

Em estudo realizado por Arancha et al. (2006) foi observado que na dosagem pré-operatória de CA 15-3 em 818 pacientes humanos, apenas 15,2% demonstraram níveis elevados desse marcador, sendo diretamente relacionados com o tamanho tumoral e o envolvimento de linfonodos. Entretanto apesar da pequena porcentagem de paciente que demonstraram os níveis elevados, esses apresentaram uma menor sobrevida que os demais. Contudo, na oncologia veterinária, ainda existe um grande viés que dificulta o estadiamento clínico das neoplasias mamárias de forma precisa (realização de ultrassonografia e tomografia computadorizada), dessa forma podendo interferir nos resultados de diversos experimentos. Assim, à medida que exames complementares tornam-se mais acessíveis, acredita-se que resultados fidedignos serão obtidos em futuras pesquisas.

O marcador tumoral CA 15.3 apresenta papel importante na disseminação e malignidade das neoplasias mamárias, sendo em medicina humana amplamente utilizado, principalmente, como fator prognóstico, para avaliação de terapias e diagnósticos precoces de recidiva e metástases. Em medicina veterinária os estudos ainda são escassos, não havendo valores de referência ou métodos totalmente precisos para sua mensuração.

6 CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo conclui-se que:

Existe uma relação linear entre idade do paciente e a expressão da proteína CA 15.3.

A proteína CA 15.3 se expressa mais em pacientes com o estadiamento tumoral elevado.

A CA 15.3 é uma ferramenta de monitoramento de malignidade com possibilidade de detecção precoce de metástases e monitoramento de recidivas.

Houve diferença entre as cadelas sadias e com neoplasia, sendo G4 com maiores níveis de CA 15.3

. Não houve relação entre as variáveis estudadas e os níveis de CA 15.3.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.R.C. ; NUBIA DE LIMA PEDROSA, N.L ; LEITE, J.B. ;FLEMING, T.R.P.; CARVALHO, V.H. ; CARDOSO A. A. A. **Marcadores tumorais : Revisão da literatura.** Revista Brasileira de Cancerologia. Rio de Janeiro, v. 53, nº 3, p. 305 – 316, 2007.

ARANCHA M., et al. **Prognostic Value of Pre-operative Serum CA 15.3 Levels in Breast Cancer;** v. 26, p. 3965-3972, 2006.

ARAÚJO P.B.; PEREIRA-CAMPINHO, D.S.; GONÇALVES, D.N.A.; MENDONÇA, F. S.; EVÊNCIO-NETO J. **Dosagem sérica do marcador tumoral Ca 15.3 em cadelas portadoras de neoplasias mamárias pelo método de eletroquimioluminescência,** 1998.

BICALHO, S. R. **Quantificação sérica do marcador tumoral CA 15.3 em cadelas híginas por quimioluminescência.** 2012. Tese (Mestrado em veterinária). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

BRAYMAN M, THATHIAH A., CARSON D. D. **MUC1: a multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelia.** Reprod Biol Endocrinol v. 2, nº 4, 2004

BUITRAGO, F.; et al. **Fatores prognósticos em câncer de mama.** ed.3. Editora Atlas. São Paulo, 2015.

CAMPOS, L. C. **Avaliação de marcadores tumorais séricos em cadelas com e sem metástase em câncer de mama.** 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAPELOZZI, V. L. **Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão.** Jornal de Pneumologia, v. 27, nº 6, p. 321-328, 2001.

CASSALI, G.D.; FERREIRA, E.; CAMPOS, C.B. **Patologia mamária canina: do diagnóstico ao tratamento.** São Paulo, SP: Medvet, 2017. 209 p.

CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. **Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas.** ed.5. Editora Atlas. São Paulo, 2016.

CHEUNG, K. L.; GRAVES, C. R. L.; ROBERTSON, J.F.R. **Tumour marker measurements in the diagnostics and monitoring of breast cancer.** Cancer Treatment Reviews. v. 26, nº 2 p. 91- 102, 2000

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; SOUZA, R. S.; COSTA, T. A.; MACEDO, T. R.; RODIGUERI, S. M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C. H. **Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná.** Archives of Veterinary Science, Curitiba, v. 7, nº 2, p. 15-26, 2002.

FELICIANO, M.A.R.; et al. **Neoplasia mamária em cadelas – revisão de literatura.** Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária: Ano IX , n.1, São Paulo, 2012.

FONSECA, C.S.; DALECK, C.R. **Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovario-histerectomia como terapia adjuvante.** ed.9. Editora Atlas. São Paulo, 2016.

FUNG, P. Y., LONGENECKER, B. M. **Specific immunosuppressive activity of epiglycanin, a mucin-like glycoprotein secreted by a murine mammary adenocarcinoma (TA3-HA).** Cancer Res, v. 51, nº 4, p. 1170-1176, 1991.

GION M. & DAIDONE, M. G. **Circulating biomarkers from tumour bulk to tumour machinery: promises and pitfalls.** European Journal of Cancer, Oxford, v. 40, nº 17, p. 2613- 2622, 2004.

GRAHAM, J. C. & MYERS, R. K. **The prognostic significance of angiogenesis in canine mammary tumors.** Journal of Veterinary Internal Medicine. v. 13, p. 416-418, 1999.

HARRIS, L., et al. American Society of Clinical Oncology 2007: **Update of recommendations for the use tumor markers in breast cancer.** Journal of Clinical Oncology. v. 25, n. 33, p.5287- 5312, 2007.

HEDLUND, C.S. **Cirurgias do Sistema Reprodutor**. Cirurgia de Pequenos Animais. ed.8. Editora Elsevier. Rio de Janeiro, 2015.

HORTA, R.S.; et al. **Estudo retrospectivo (2009- 2012) de 388 exames citológicos de tecidos hematopoiéticos (linfonodo, baço e medulaóssea) de cães**. Clínica Veterinária, v. XVIII, n. 102, p. 60-68, 2013.

ITOH, T., UCHIDA, K., ISHIKAWA, K., KUSHIMA, E., TAMADA, H., MORITAKE, T., NAKAO, H. e SHII, H. **Clinicopathological survey of 101 canine mammary tumors: differences between small-breed dogs and others**. The Journal of Medical Veterinary, 67:345-347, 2005.

JACOBS, E.L. & HASKELL, M.C. **Clinical use of tumor markers in oncology**. Current Problems in Cancer. Chicago, v. 15, nº 6, p. 299-360, 1991

LANA, S.E.; RUTTEMAN, G.R.; WITHROW, S.J. **Tumors of the mammary gland**. In: WITHROW, S.J. & VAIL, D.M., Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology 4.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p.619-636.

LAS MULAS, J. M. & REYMUNDO, C. **Animal models of human breast carcinoma: canine and feline neoplasms**. Reviews Oncology. v. 2, nº 6, p. 274-281, 2000.

LINDBLOM, A. & LILJEGREN, A. **Regular review: tumour markers in malignancies**. British Medical Journal. v. 320, nº 7232, p. 424-427, 2000.

MANUALI, E, et al. **CA 15-3 cell lines and tissue 198 expression in canine mammary cancer ande the correlation between serum levels and 199 tumour histological grade**. BMC Vet. Res., v.8, n.86, p. 246-261, 2012.

MARCHESI, M. C.; MANUALI, E.; PACIFICO, E.; FERRI, C.; ROMAGNOLI, M.; MANGILI, V.; FRUGANTI, G. **Cancer antigen 15/3: Possible diagnostic use in veterinary clinical oncology**. Preliminary study. Veterinary Research Communications, v. 34, nº 1, p. S103-S106, 2010.

MARTINS, D.C.; FERREIRA, A.M.R. **Marcadores prognósticos como um auxílio à conduta clínico-cirúrgica em uma cadela apresentando múltiplos nódulos mamários**. ed.5. Editora Saraiva. São Paulo, 2016.

McGAVIN, M.D., ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. ed.8. Editora Elsevier. Rio de Janeiro, 2016.

MIALOT, J. P. **Tumores Mamários da Cadela**. ed.9. Editora Elsevier. Porto Alegre, 2015.

MOLINA R: **Tumor markers in breast cancer**. In **Diamandis, E.P., Fritsche, H.A., Lilja, H., Chan, D.W., Schwartz, M.** (eds): **Tumor Markers, Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Applications**. Washington, AACCC Press, p 165–179, 2002.

MOLINA, R., BARAK, V., DALEN, A., DUFFY, M.J., EINARSSON, R., GION, M., GOIKE, H., LAMERZ, H., NAP, M., SÖLÉTORMOS, G., STIEBER, P. **Tumor markers in breast cancer- European Group on Tumor Markers recommendations**. *Tumour Biology*; v.26, nº6, p.281-293, 2005.

MOLINA, R., JO, J.; ZANON, G., FILELLA, X., FARRUS, B., MUNOZ, M., LATRE, M.L., PAHISA, J., VELASCO, M., FERNANDEZ, P., ESTAPE, J., BALLESTA, A.M. **Utility of cerbB-2 in tissue and in serum in the early diagnosis of recurrence in breast cancer patients: comparison with carcinoembryonic antigen and CA 15.3**. *Br J Cancer*, v 74: nº 7, p 1126– 1131, 1996.

MONTANHA, F. P.; CORRÊA, C. S. DE S.; PARRA, T. C. **Maceração fetal em gata em decorrência do uso de contraceptivos** – relato de caso. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária* – ISSN: 1679-7353, n. 19. 2012.

PELETEIRO, M.C. **Tumores mamários na cadela e na gata**. ed.2. Editora Saraiva. São Paulo, 2016.

PHILIBERT, J.C.; SNYDER, P.W.; GLICKMAN, N.; GLICKMAN, L.T.; KNAPP, D.W.; WATERS, D.J. **Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors**. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 17, p.102-106, 2003.

RIBAS, C.R.; DORNBUSH, P.T.; FARIA, M.R.; WOUK, A.F.P.F.; CIRIO, S.M. **Alterações clínicas relevantes em cadelas com neoplasias mamárias estadiadas**. *Arc. Vet. Sci.*, v. 17, n. 1, p. 60-68, 2012.

RIVERA, P., et. Al. **Utilidad clínica de los marcadores tumorales**. Revista Mexicana de Patología Clínica, v. 44, p. 245-258, 1997.

RODASKI, S.; NARDI, A. B. **Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos**. ed.8. Editora Medvet Livros. São Paulo, 2015.

SBIACHESKI D. T.; DA CRUZ, F. S. F. **Uso de progestágenos e seus efeitos adversos em pequenos**. XXIV Seminário de Iniciação Científica. Salão do conhecimento. UNIJUI. 2016.

SOUZA, J. V. **Marcadores mucinosos associados ao câncer**. Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul, v. 46, n. 1-2, p. 70-83, 2002.

SPICER, A.P., ROWSE, G.J., LIDNER, T.K., GENDLER, S.J: **Delayed mammary tumor progression in Muc-1 null mice**. J Biol Chem, v. 270, nº, p. 30093-30101, 1995.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2nd ed. Iowa: Wiley - Blackwell; 2008. 936p. English

TAYLOR, P. J., BURCHELL, J,, MILES, D.W., DALZIEL, M: **MUC1 and cancer**. Biochim Biophys Acta v. 1455, nº 2-3, p. 301-313, 1999.

THRALL, D. Diagnóstico de radiologia veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 619-623.

ANEXO 1 – Termo de autorização para uso de animais em estudo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O HVT-UFV

Eu, _____,
portador de RG nº _____, proprietário/responsável pelo animal _____,
espécie _____, raça _____, sexo _____, registrado no HVT sob o
número _____, autorizo o Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa a utilizar
o animal como sujeito de pesquisa para fins científicos.

Após esclarecimentos prévios, estou ciente da participação do animal no projeto, **AVALIAÇÃO E CORRELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C REATIVA E CA 15.3 EM CADELAS PORTADORAS DE NEOPLASIA MAMÁRIA** assim como a utilização dos resultados dessa pesquisa em publicação de artigos científicos e divulgação em eventos científicos. Para fins de publicações e apresentações científicas, a identidade do proprietário será preservada. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UFV sob o protocolo nº 02/2017.

Afirmo que a qualquer momento poderei suspender a participação do animal na pesquisa e que caso isso ocorra, o animal não sofrerá prejuízos em seu tratamento ou retorno a esta instituição. Estou ciente que não serei gratificado monetariamente e que não receberei qualquer outro benefício pela participação na pesquisa.

Poderei receber maiores informações sobre esta pesquisa caso deseje, e também poderei esclarecer minhas dúvidas com o pesquisador responsável.

Fui informado dos riscos da utilização do animal para fins científicos e estou ciente que na ocorrência de danos decorridos durante o procedimento anestésico-cirúrgico, o animal poderá ser atendido gratuitamente por profissionais do Hospital Veterinário da UFV.

Concordo em seguir corretamente todas as recomendações dos profissionais do HVT-UFV durante e após a utilização do animal e, caso haja qualquer dano ao animal referente ao não cumprimento dessas recomendações, não responsabilizarei o HVT-UFV pelo evento.

Proprietário

Médico Veterinário