

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós Graduação em Veterinária



Dissertação

**ESTUDO DOS CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA, AVALIAÇÃO
DA SOBREVIVÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DAS AgNORs EM TUMORES MISTOS
MAMÁRIOS CANINOS**

Thomas Normanton Guim

Pelotas, 2007

THOMAS NORMANTON GUIM

**ESTUDO DOS CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA, AVALIAÇÃO
DA SOBREVIVÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DAS AgNORs EM TUMORES MISTOS
MAMÁRIOS CANINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Veterinária da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Ciências (área
do conhecimento: Patologia Animal).

Orientadora: Prof^a Dr^a Cristina Gevehr Fernandes

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Josiane Bonel Raposo

Pelotas, 2007

Banca examinadora:

Profº Drª Glauca Denise Kommers

Profª Drª Márcia de Oliveira Nobre

Profº Dr. Thomaz Lucia Jr.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Pedro Guim e Alexandra Maria Normanton Guim, por terem proporcionado condições para o desenvolvimento de meus estudos e por acreditarem no meu potencial.

Agradecimentos

Inicialmente agradeço a Deus, que me guia, ilumina minha vida e me dá forças para enfrentar esta caminhada.

Às minhas orientadoras, Prof^a Cristina Gevehr Fernandes e Prof^a Josiane Bonel Raposo, meu muito obrigado pela paciência, pelo respeito, pelos ensinamentos transmitidos, pela ajuda mediante as dificuldades e principalmente por acreditarem no meu trabalho e despertarem em mim o interesse pela oncologia veterinária.

Aos meus queridos pais Pedro e Alexandra, que são pessoas exemplares para mim e por terem me ensinado a trilhar os melhores caminhos da vida. As minhas irmãs Thaís e Tainã, pelo amor e confiança que demonstram e por me apoiarem em todas as situações, sejam elas boas ou más. A minha namorada Priscila Secchi, por estar sempre do meu lado, pelo amor retribuído, pela paciência e compreensão.

Ao meu amigo Milton Begeres Almeida, pelos bons momentos de estudo e atuação profissional. As minhas colegas Tatiane Mendes e Márcia Feltrin pelo incentivo e auxílio no início do curso. A todos os estagiários e bolsistas da Patologia que contribuíram para realização deste trabalho e aos professores do DPA e técnicos do LRD pelos ensinamentos transmitidos.

A todos os professores, residentes, veterinários do HCV e integrantes do ONCOVET/UFPel, pela disponibilidade, pelos momentos de estudo compartilhado e cooperação na coleta de dados e envio das amostras.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos e a Universidade Federal de Pelotas por oferecer ensino gratuito e de qualidade.

“Se quisermos encontrar alguém que nos diga em realidade o que são as neoplasias, não creio que encontraríamos um só homem sobre a terra capaz de dizê-lo.”

RUDOLPH VIRCHOW, 1863

Resumo

GUIM, Thomas Normanton, **Estudo dos critérios para classificação histológica, avaliação da sobrevida e quantificação das AgNORs em tumores mistos mamários caninos**. 2007, 88p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Este estudo teve como objetivo caracterizar os tumores mistos mamários em relação a seus aspectos clínicos, epidemiológicos e histomorfológicos, avaliar quantificação das regiões organizadoras nucleolares argirofílicas e o tempo de sobrevida pós-mastectomia das cadelas acometidas. Foi realizado um levantamento dos tumores mistos caninos recebidos para diagnóstico no Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas, durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006. Foram recuperadas 53 amostras, 49 provenientes de biópsias e 4 de necropsias. Animais idosos de raça mista foram os mais acometidos. As glândulas inguinais foram as mais afetadas e a maioria dos neoplasmas apresentaram-se maiores que 5 cm, com evolução clínica longa, sem aderência e ulceração. Os 4 animais necropsiados apresentaram lesões metastáticas em diferentes sítios. Houve um predomínio de carcinossarcomas, seguido pelos carcinomas em tumores mistos benignos e tumores mistos benignos. O componente mesenquimal dos carcinossarcomas apresentou características histológicas indicativas de grau de malignidade maior em relação aos carcinomas em tumores mistos benignos. A maior parte das amostras avaliadas apresentou margens cirúrgicas livres de células neoplásicas. Houve um maior número de mortes em decorrência do neoplasma em animais acometidos por carcinossarcomas quando comparadas aos animais acometidos por carcinomas em tumores mistos benignos. Considerando o componente epitelial, a média AgNOR/núcleo foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos tumores mistos do tipo maligno em relação aos benignos e os animais que morreram ou foram eutanasiados em decorrência do neoplasma apresentaram amostras com contagem AgNOR/núcleo superior à média do grupo histológico do qual foram acometidos. Não houve diferença ($p > 0,05$) quando comparadas as médias AgNOR/núcleo dos grupos histológicos entre dois observadores. No presente estudo, a técnica de AgNOR foi eficiente como indicador prognóstico quando foram comparadas as médias AgNOR/núcleo entre os grupos de tumores mistos malignos e benignos e quando da avaliação da contagem AgNOR/núcleo dos animais que morreram em decorrência de metástases. O presente estudo evidenciou que as características histológicas utilizadas como referência foram úteis na avaliação microscópica dos tumores mistos mamários. Alerta-se para a necessidade de adoção de critérios padronizados, principalmente para avaliação do componente mesenquimal, visando a padronização da classificação histológica.

Palavras-chave: Neoplasmas mamários. Tumores mistos. Classificação histológica. AgNOR. Fatores prognósticos. Canino.

Abstract

GUIM, Thomas Normanton, **Canine mammary mixed tumors criteria to histological classification, post mastectomy survival evaluation and AgNOR validation**. 2007, 88p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The objective of this study was to characterize clinical, epidemiological and histomorphological features. It was also evaluate argiophilic nucleolar organizing regions of the cells in canine mammary mixed tumors and the post mastectomy survival time. A survey from the casuistic of the Regional Diagnostic Laboratory from the Federal University of Pelotas was performed, in the period of January 2000 to July 2006. Fifty-three samples were obtained, 49 from biopsies or surgical samples and 4 from necropsies. Old female dogs, mixed breed were most affected. Inguinal glands were more affected and the tumors frequently have more than 5cm, with a long clinical evolution, without adherence or ulceration. In all 4 necropsies metastatic lesions were present in different sites. Carcinosarcomas predominate over carcinomas in benign mixed tumors and benign mixed tumors. When histological features from the mesenquimal component were evaluated, carcinosarcomas were more malignant than carcinomas in mixed tumors. Surgical borders from the majority of tumors were free from malignant cells. There were more deaths in consequence of carcinosarcomas than of carcinomas in benign mixed tumors. The epithelial component mean of AgNOR/nuclei was significant ($p < 0,05$) in malignant tumors when compared with the benign counterpart. The animals that died or were humanly destroyed presented AgNOR/nuclei counting superior than the mean of their histological group. Any significant difference ($p > 0,05$) was obtained when the mean between two observers was compared. This report demonstrates that AgNOR was efficient as prognostic indicator when the mean between mixed benign and malign tumors were compared. It was also important in animals that died with tumor metastasis. This report shows that the histological criteria used as reference were useful to the tumors classification. It is yet necessary a standardization of these criteria, especially to the mesenquimal component characterization.

Key-words: Mammary neoplasms. Mixed tumors. Histological classification. AgNOR. Prognostic factors. Canine.

Lista de figuras

- Figura 1 – Características dos componentes epiteliais avaliados de carcinomas em tumor misto benigno e carcinosarcomas e classificação em graus de malignidade.36
- Figura 2 – Distribuição da frequência de tumores mistos mamários por idade, durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006. 39
- Figura 3 – Aspecto macroscópico dos tumores mistos mamários. **A)** Massas tumorais localizadas nas mamas abdominais e inguinais; **B)** Superfície de corte de tumor misto. Aspecto nodular esbranquiçado a semitranslucente; **C)** Pulmões apresentando múltiplos nódulos metastáticos, esbranquiçados e de variados tamanhos; **D)** Superfície de corte de encéfalo contendo nódulos metastáticos (setas) esbranquiçados de aproximadamente dois centímetros de diâmetro.....42
- Figura 4 – Distribuição dos tumores mistos mamários avaliados (n=53) conforme o tipo histológico, segundo a classificação da AFIP/OMS..... 46
- Figura 5 – Características microscópicas dos tumores mistos mamários: **A)** Grupo de células epiteliais malignas invadindo tecido conjuntivo adjacente ao neoplasma (Obj. 20x); **B)** Área de formação cartilaginosa benigna apresentando células bem diferenciadas (Obj. 20x); **C)** Área de formação cartilaginosa maligna apresentando células com pleomorfismo acentuado (Obj. 40x); **D)** Detalhe histológico de condrócito apresentando múltiplos núcleos (Obj 40x); **E)** Células epiteliais bem diferenciadas com formação tubular evidente e proliferação mioepitelial em um tumor misto benigno (Obj. 40x); **F)** Células epiteliais pouco diferenciadas, pleomórficas e escassa formação tubular (Obj 20x)..... 49

Figura 6 – Características microscópicas dos diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários: A) Tumor misto benigno apresentando formação tubular evidente, células epiteliais bem diferenciadas e área de formação cartilaginosa benigna (Obj. 20x); B) Carcinoma em tumor misto benigno apresentando túbulos de células epiteliais bem diferenciadas e ninhos de células epiteliais pleomórficas com pouca formação tubular adjacente à área de cartilagem benigna (Obj 20x); C) Componente epitelial de um carcinossarcoma (Obj. 20x); D) Componente mesenquimal cartilaginoso de um carcinossarcoma; E) Pulmão apresentando nódulo metastático, do tipo misto, de carcinossarcoma (Obj. 20x); F) Detalhe de E, demonstrando pleomorfismo acentuado da cartilagem maligna (Obj 40x).....	50
Figura 7 – Avaliação das margens cirúrgicas. A) Margem livre (Obj 10x). B) Margem comprometida (Obj 10x). C e D) Detalhe das figuras A e B, respectivamente (Obj 20x).	51
Figura 8 – Caracterização das regiões organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNOR). A) Células epiteliais bem diferenciadas de um tumor misto benigno com baixa contagem AgNOR/núcleo, ou seja 1-2/ núcleo (Obj 100x); B) Células epiteliais pouco diferenciadas em um carcinossarcoma apresentando alta contagem AgNOR/núcleo (Obj 100x).	51
Figura 9 – Gráfico demonstrativo do curso clínico, período de acompanhamento e sobrevida pós-mastectomia de 11 cadelas portadoras de carcinoma em tumor misto benigno.....	52
Figura 10 – Gráfico demonstrativo do curso clínico, período de acompanhamento e sobrevida pós-mastectomia de 22 cadelas portadoras de carcinossarcoma.	53

Lista de tabelas

Tabela 1 – Características macroscópicas dos diferentes tipos histológicos de tumores mistos em relação à aderência para tecidos adjacentes.	40
Tabela 2 – Características morfológicas do componente epitelial neoplásico avaliadas em diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários de cadelas, diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.	44
Tabela 3 – Características morfológicas avaliadas em diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários de cadelas, cujas amostras apresentaram tecido mesenquimal exclusivamente cartilaginoso (n=51), diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.	45
Tabela 4 – Graduação histológica de carcinomas em tumor misto benigno e carcinossarcomas em relação ao componente carcinomatoso.	46
Tabela 5 – Padrão de microinvasividade para tecidos adjacentes nos diferentes tipos histológicos de tumores mistos.	47
Tabela 6 – Distribuição das médias AgNOR/núcleo para os diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários, diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.	48
Tabela 7 – Sobrevida de animais portadores de carcinoma em tumor misto benigno e carcinossarcoma por um período de dois anos pós mastectomia.	48

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Lista de figuras	7
Lista de tabelas	9
Sumário	10
1 Introdução	12
2 Revisão de literatura	14
2.1 Tumores mistos mamários	14
2.1.1 Epidemiologia	16
2.1.2 Apresentação clínica	18
2.1.3 Histogênese	19
2.1.3.1 Papel das células mioepiteliais nos tumores mistos.....	21
2.1.4 Caracterização morfológica e comportamento biológico	22
2.1.5 Fatores prognósticos	24
2.1.5.1 Epidemiológicos	24
2.1.5.2 Clínicos	25
2.1.5.3 Patológicos.....	27
2.1.5.3.1 AgNOR.....	30
3 Metodologia.....	33
3.1 Avaliação dos aspectos epidemiológicos e clínicos.....	33
3.2 Aspectos patológicos.....	34
3.2.1 Avaliação macroscópica	34
3.2.2 Avaliação histopatológica	35
3.2.2.1 Hematoxilina eosina	35
3.2.2.2 AgNOR.....	36
3.3 Avaliação da sobrevida de cadelas portadoras de tumor misto mamário.....	37
4 Resultados	38
4.1 Avaliação dos aspectos epidemiológicos e clínicos.....	38
4.2 Aspectos patológicos.....	40
4.2.1 Avaliação macroscópica	40
4.2.1.1 Descrição dos casos de animais necropsiados.....	40
4.2.2 Avaliação histopatológica	43

4.2.2.1 Hematoxilina-eosina	43
4.2.2.2 AgNOR	47
4.3 Avaliação da sobrevida de cadelas portadoras de tumor misto mamário	48
5 Discussão	54
6 Conclusões	64
Referências	65
Anexo	75
Apêndices	77

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, têm se verificado um aumento considerável da prevalência do câncer em cães, que é considerado por alguns autores como a maior causa de morte nesta espécie (BRONSON, 1982; WITHROW; MacEWEN, 1996).

Dentre todos os tumores que acometem os caninos, os neoplasmas mamários, depois dos cutâneos, são os mais comumente encontrados. Cerca da metade dos neoplasmas em cadelas são da glândula mamária e encontram-se descritos em todo mundo, não havendo incidências diferentes em locais geograficamente distintos (QUEIROGA; LOPES, 2002). No Brasil, embora haja o conhecimento da elevada frequência das lesões mamárias em cadelas, são poucos os trabalhos de levantamento epidemiológico, cito e histopatológicos, cirúrgicos ou de tratamento adjuvante destes tumores (CASSALI, 2000; DALECK, 1996). Adicionalmente, sabe-se que representam um problema de grande impacto em medicina veterinária, visto que, quando malignos, implicam em alto índice de mortalidade, devido à recorrência tumoral ou ocorrência de metástases (MISDORP, 2002; MOULTON, 1990; WITHROW; MacEWEN, 1996).

Entre os diferentes tipos histológicos de neoplasmas mamários observados na cadela, os tumores mistos mamários representam um grupo complexo, devido ao alto grau de heterogeneidade e principalmente devido ao fato de sua histogênese ainda não estar completamente esclarecida. A falta de critérios únicos para classificação morfológica destes tumores gera dificuldade no diagnóstico e no entendimento do seu comportamento biológico, impedindo que se realize uma avaliação prognóstica fidedigna (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; MISDORP, 2002). Além disso, os tumores mistos mamários que acometem as cadelas apresentam muitas similaridades com o adenoma pleomórfico da glândula salivar humana, podendo parte das informações referentes a eles serem extrapoladas para

espécie humana, principalmente sob o aspecto histogenético (BERTAGNOLI, 2006; GENELHU et al., 2006).

Semelhante ao que ocorre na medicina humana, na medicina veterinária há um esforço crescente na busca de novos fatores prognósticos. A determinação da cinética celular é um campo de interesse crescente na oncologia moderna. O índice de proliferação tumoral, determinado pela técnica de impregnação pela prata das regiões organizadoras nucleolares (AgNOR) tem se revelado de valor prognóstico em alguns tipos de neoplasmas que acometem caninos, incluindo neoplasmas mamários (BOSTOCK; MORIART; CROCKER, 1992, LÖHR et al, 1997; PICH; CHIUSA; MARGARIA, 2000; SIMÕES; SHCONING; BUTINE, 1994).

No sentido de qualificar o diagnóstico e o prognóstico dos tumores mistos mamários, realizou-se um estudo retrospectivo e prospectivo, que teve como objetivos: (1) caracterizar aspectos clínicos e epidemiológicos importantes de tumores mistos mamários em cadelas; (2) caracterizar os tumores mistos mamários em relação aos seus aspectos histomorfológicos, visando a eleição de critérios para sua classificação histológica; (3) avaliar o comportamento biológico destes tumores correlacionando o tipo histológico ao período de sobrevida após mastectomia e (4) avaliar a quantificação da AgNOR em tumores mistos mamários de cadelas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neoplasmas mamários são os tumores mais comuns na fêmea canina, sendo responsáveis por aproximadamente 50% de todas as afecções neoplásicas nesta espécie (WITHROW; MacEWEN, 1996). Tendo em vista os diferentes sistemas de classificação propostos, observa-se uma ampla variedade de tipos histológicos, dentre eles os adenomas, carcinomas, tumores mistos, sarcomas e outros (MISDORP, 2002). Embora os tumores mistos representem a grande maioria dos neoplasmas mamários que acometem as cadelas (MOULTON, 1990), a sua histogênese ainda não é completamente entendida (MISDORP, 2002), gerando confusão diagnóstica e dificultando estudos de comportamento biológico, importantes para a avaliação prognóstica (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999).

2.1. Tumores mistos mamários

Os tumores mistos mamários são freqüentes em cadelas (JABARA, 1960; MOULTON, 1990; PRIESTER, 1979) e raramente encontrados na mulher (CASSALI, 2000). Entretanto, os tumores mistos são os neoplasmas mais freqüentes na glândula salivar humana, onde são denominados adenomas pleomórficos (MISDORP, 2002; TORTOLEDO; LUNA; BATSAKIS, 1984). Em ambas as espécies, esses tumores têm sido alvo de pesquisas no sentido de elucidar a histogênese de seus componentes heterólogos, a qual ainda não é completamente conhecida (ABURTO et al., 1997; PALMER; MONLUX, 1979).

Segundo o esquema atual de classificação histológica para os tumores mamários caninos, recomendado pela OMS, os tumores mistos são classificados em tumor misto benigno, carcinoma ou sarcoma em tumor misto benigno e carcinossarcoma (MISDORP, 2002).

Os tumores mistos são reconhecidos por apresentarem uma arquitetura complexa. A aberrante associação de tecidos e o grau de variação citológica encontrados em um mesmo tumor muitas vezes tornam difícil a avaliação histológica de malignidade (JABARA, 1960).

Ao longo dos anos, observou-se uma dificuldade por parte dos patologistas em caracterizar a contraparte maligna dos tumores mistos, gerando então os vários esquemas de classificação destes neoplasmas (MOULTON, 1990). Em estudos prévios, Moulton (1954) pontua que todos os tumores mistos são benignos e apresentam proliferação fibroadenomatosa com ou sem metaplasia osteóide e condróide do tecido conjuntivo. Jabara (1960), em trabalho direcionado especificamente a tumores mistos propõe uma diferenciação entre tumor misto benigno e maligno e Misdorp et al. (1973) define como sinonímia para o tipo maligno o termo carcinossarcoma.

Os carcinossarcomas, anteriormente denominados tumores mistos malignos, são referidos por alguns autores por apresentarem células epiteliais malignas (epitélio luminal ou mioepitelial) e células mesenquimais malignas, como cartilagem, osso, gordura ou tecido fibroso (HAMPE; MISDORP, 1974; MISDORP, 1973, 2002). Entretanto, outros pesquisadores consideram que não necessariamente ambos os componentes, carcinomatosos e sarcomatosos, estejam presentes para que o neoplasma seja considerado um carcinossarcoma, mas afirmam que cadelas que apresentam este tipo de neoplasma com alterações malignas em ambos os componentes tem um período de vida mais curto em relação aquelas acometidas por tumores com apenas uma parte maligna (MOULTON, 1990; MOULTON; ROSENBLATT; GOLDMAN, 1986). Benjamin, Lee e Saunders (1999) sugeriram um novo esquema de classificação para neoplasmas mamários em cadelas. Estes autores sugeriram o uso do termo carcinossarcoma apenas para lesões que apresentassem malignidade epitelial e mesenquimal, e que as lesões que apresentassem apenas um componente maligno, fossem denominadas como carcinoma ou sarcoma em um tumor misto.

Os carcinomas ou sarcomas em tumores mistos são caracterizados pelo desenvolvimento focal ou nodular de malignidade em associação com um tumor misto benigno primário. No entanto, em alguns casos, a distinção entre tumor benigno e sua contraparte maligna é difícil, pois o componente maligno pode ter substituído completamente o componente benigno (MISDORP, 2002). Esta

dificuldade também tem sido relatada no diagnóstico de carcinomas ex-adenomas pleomórficos da glândula salivar humana e Lewis, Olsen e Sebo (2001) citam que é difícil saber se o tumor primário era benigno ou se o carcinoma já existia e não havia sido detectado. Moulton et al. (1970), observaram que tumores mistos de cadelas diagnosticados histologicamente como benignos podem tornar-se malignos. Esta transformação para malignidade foi referida por estar intimamente relacionada ao tempo de evolução tumoral e ao número de recorrências, tanto em medicina humana como veterinária (FOOTE; FRAZEL, 1953; MOULTON et al., 1970). No entanto, em medicina humana, Lewis, Olsen e Sebo (2001) citam que para o estabelecimento do diagnóstico de carcinoma ex-adenoma pleomórfico é necessário que haja evidência histológica de um tumor benigno em associação com um carcinoma.

2.1.1. Epidemiologia

Existem algumas discrepâncias em relação à incidência e frequência de tumores mistos benignos e malignos em cadelas. Alguns autores tem relatado que os tumores mistos respondem por uma frequência de 50 a 66% dos neoplasmas mamários que acometem a fêmea canina (JABARA, 1960; PRIESTER, 1979). Os autores afirmam que os tumores mistos benignos são os mais comuns na cadela e relatam que cerca de 65% dos tumores mamários em cães pertencem a este tipo histológico (MOULTON, 1990; PRIESTER, 1979). No Brasil, poucos estudos epidemiológicos específicos em neoplasmas mamários têm sido conduzidos (CASSALI, 2000; DALECK, 1996). Nos trabalhos nacionais pertinentes ao assunto, tratando-se de tumores mistos, observa-se um maior número de diagnósticos de tumores mistos malignos em relação aos tumores mistos benignos (DeNARDI et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003). Isto pode estar relacionado aos diferentes métodos de classificação que estão sendo adotados e modificados ao longo dos anos (MOULTON, 1990).

Tumores mistos ocorrem em cães de média idade a idosos (JABARA, 1960). Misdorp et al. (1973), em um estudo com carcinossarcomas, relata que a média de idade das cadelas afetadas por este tipo histológico foi de 11 anos, com uma variação entre 4 e 15 anos. Priester (1979), relata um pico de ocorrência entre 10 e 14 anos de idade. Os tumores mistos mamários têm sido diagnosticados frequentemente em cadelas, mas raramente em cães machos (JABARA, 1960).

Dados referentes às raças de cães mais acometidas têm sido publicados em relação a todos os tipos histológicos de neoplasmas mamários e poucos são os dados específicos referentes a tumores mistos, embora não se observe divergências (ELSE; HANNANT, 1979; MacVEAN et al., 1978; PRIESTER, 1979). Jabara (1960), menciona que tumores mistos ocorrem independentemente da raça, entretanto, em seu estudo, houve uma maior prevalência em Cocker Spaniels e Terriers. Priester (1979), pontua raças com risco relativo estimado maior em relação a outras, como Spaniels, Setter Inglês, Pointer e Poodles miniatura.

Neoplasmas mamários caninos são claramente hormônio dependentes (SILVA; SERAKIDES; CASSALI, 2004). Receptores de estrógeno e progesterona têm sido identificados em tecido mamário normal, tanto em neoplasmas benignos como em carcinomas (MOULTON, 1990). Geralmente, em neoplasias com maior grau de malignidade, a expressão dos genes que codificam os receptores desses hormônios pode estar diminuída (PELETEIRO et al., 1994). Existe evidência da etiologia hormonal para o tumor de mama em cadelas, sendo que o índice de risco varia entre cadelas castradas e não castradas e depende ainda da fase em que a intervenção cirúrgica é efetuada (FONSECA; DALECK, 2000). A ovariectomia precoce demonstrou um efeito protetor sobre o desenvolvimento de neoplasmas mamários. O risco de desenvolvimento de neoplasmas mamários em cadelas castradas antes do primeiro cio é de 0,05%, aumenta para 8% após o primeiro cio e após o segundo cio poderá aumentar para 26% (WITHROW; MacEWEN, 1996). Entretanto, Morris et al. (1998) afirmam que a ovariectomia após os dois anos e meio de idade ou no momento da mastectomia não demonstrou um efeito significativo sobre a progressão dos neoplasmas malignos.

Brodey, Fidler e Howson (1966), em um estudo utilizando um grupo de cadelas com tumor mamário e outro de cadelas normais, não encontraram diferenças significativas entre os dois grupos em relação à regularidade de ciclo estral, pseudogestação ou gestação. O tratamento com anticoncepcional em cadelas não está diretamente relacionado ao risco de formação tumoral. Este tratamento promove, a longo prazo, apenas a formação de alguns nódulos hiperplásicos na glândula mamária, mas não neoplasmas malignos (MOULTON, 1990).

Alguns estudos tem avaliado o efeito de vários fatores dietéticos e da obesidade sobre o risco de desenvolvimento de neoplasmas mamários em cães. Um

estudo revelou que animais portadores de neoplasmas mamários alimentados com dietas pouco gordurosas e com alto valor protéico apresentavam um tempo de sobrevida maior em relação a animais alimentados com dietas pouco gordurosas e baixo valor protéico (SORENMO, 2003). Pérez Alenza et al. (1998) relatam que a obesidade em idade precoce e um ano antes do diagnóstico é positivamente associada com risco de tumores mamários caninos. Os mesmos autores também citam que o risco aumenta em animais que consomem dietas ricas em carne vermelhas em relação aos que consomem dietas contendo carnes brancas.

2.1.2. Apresentação clínica

Tumores mamários são caracterizados clinicamente como nódulos únicos ou múltiplos que podem estar associados com o teto ou com o próprio tecido glandular mamário. Em alguns animais estes tumores podem estar ulcerados e/ou inflamados (WITHROW; MacEWEN, 1996).

De uma maneira geral, os neoplasmas mamários apresentam-se como nódulos de diferentes tamanhos, firmes a endurecidos, diferindo da consistência mole do parênquima normal. As bordas do tumor geralmente são circunscritas quando ocorre crescimento expansivo, enquanto que margens pouco definidas são características de tumores com crescimento invasivo, muitas vezes infiltrando para tecidos adjacentes, fáscia e pele, sugerindo um quadro de malignidade (BRODEY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1983). Os tumores mistos mamários são descritos como massas, firmes a duras, bem encapsuladas e não aderidas, com crescimento variando de lento, quando benignos, a rápido, quando malignos (JABARA, 1960; MOULTON, 1990).

A cadela tem cinco pares de glândula mamária, sendo que todas podem desenvolver tumores benignos ou malignos (SILVER, 1966). Geralmente, os neoplasmas mamários têm sido referidos por acometer mais as glândulas abdominais e inguinais (ELSE; HANNANT, 1979; FIDLER; ABT; BRODEY, 1967; WITHROW; MacEWEN, 1996). Os tumores mistos mamários, indiferentemente dos outros tipos histológicos, também possuem uma predileção pelas glândulas posteriores, conforme descrito por Misdorp et al. (1973) e Moulton (1990).

Adicionalmente, outros sinais podem ser observados devido ao potencial metastático dos neoplasmas mamários malignos, incluindo carcinossarcomas e

carcinomas ou sarcomas em tumores mistos benignos. Dispneia tem sido descrita pelos clínicos como o mais importante sinal atribuído a metástases pulmonares (MISDORP; HART, 1979b). Misdorp et al. (1973) em trabalho dirigido especialmente a carcinossarcomas relatou que a dispneia foi o sinal mais evidente entre as cadelas acometidas por metástases. Sinais neurológicos como convulsões, paralisia e incoordenação também foram citados em cadelas acometidas por tumores mistos, mas com menor frequência. Ocasionalmente foi observada distensão abdominal e claudicação (MISDORP et al., 1973).

2.1.3. Histogênese

Tumores mamários caninos são conhecidos por sua complexidade estrutural e contestada histogênese. Desde a primeira vez em que os tumores mistos foram descritos, a origem do tecido mixóide, ósseo e cartilaginoso é motivo de controvérsias entre os pesquisadores e algumas contradições tem sido geradas ao longo do tempo (MISDORP, 2002).

Muitas teorias foram propostas e vários mecanismos podem estar envolvidos. Quatro linhas de pensamento tem sido desenvolvidas em relação a histogênese destes tecidos: originários de células tronco pluripotenciais ou **stem cells** (HELLMÉN; LINDGREN, 1989; HELLMÉN et al., 2000); derivados de metaplasia de células epiteliais (JABARA, 1960; MONLUX et al., 1977); derivados de metaplasia de células mioepiteliais (ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002; PULLEY, 1973; TATAEYAMA; COTCHIN, 1978; TATAEYAMA et al., 2001); derivados de metaplasia de tecido conjuntivo (PALMER; MONLUX, 1979).

Pulley (1973), utilizando técnicas histoquímicas e microscopia eletrônica de transmissão, demonstrou diferentes estágios de proliferação mioepitelial em tumores mistos da mama canina, sugerindo possível papel destas células na histogênese destes neoplasmas. Neste estudo, foi observado que células mioepiteliais, à medida que proliferavam, tornavam-se mais esparsas e separadas umas das outras por uma quantidade abundante de substância mixomatosa, denominada matriz extracelular. Estudos prévios desenvolvidos por Erichsen (1955) demonstraram que grande parte deste material intercelular era composto por sulfato de condroitina. Alguns autores relataram que este material é produzido pelo complexo de golgi das células neoplásicas e que posteriormente, há secreção de proteínas e colágeno pelo retículo

endoplasmático rugoso, contribuindo para o processo de formação de cartilagem hialina (PULLEY, 1973).

A cartilagem hialina contém vários tipos de colágeno, proteoglicanos e outras proteínas. Dentre eles, colágeno dos tipos II, IX, X e XI são os maiores componentes proteínicos (ARAI; UEHARA; NAGAI, 1989). Arai, Uehara e Nagai (1989), demonstraram imuno-histoquimicamente a presença dos colágenos tipo II e XI no processo de desenvolvimento de cartilagem metaplásica de células mioepiteliais proliferadas em neoplasmas mamários caninos. Além disso, os anticorpos utilizados foram hábeis em demonstrar os mesmos tipos II e XI sendo produzidos por células neoplásicas cultivadas em gel colágeno.

Ao contrário do observado nos experimentos de Pulley (1973) e de Tateyama e Cotchin (1977, 1978), alguns pesquisadores reforçam a idéia que a formação de tecido heterotrópico deriva-se de células de origem mesodérmica. Palmer e Monlux (1979), utilizando histoquímica e microscopia eletrônica estudaram a relação entre os ácidos mucopolissacarídeos e células neoplásicas da mama de cadelas e demonstraram não haver evidências de que tanto o tecido epitelial como o tecido mioepitelial contribuem para ou transformam-se em células capazes de produzir glicosaminoglicanos. Ainda foi demonstrado que os mucopolissacarídeos produzidos eram oriundos de tecido mesodérmico ou estroma e que os complexos proteínas-polissacarídeos formados eram imuno-histoquimicamente idênticos àqueles encontrados na matriz de desenvolvimento normal de cartilagem hialina (PALMER; MONLUX, 1979).

Jabara (1960) pontua que as células epiteliais luminais são as principais responsáveis pela produção de mucina e matriz cartilaginosa, mas não exclui a possibilidade de contribuição de outros tecidos, como o mioepitelial e o estromal. Esta proposição foi baseada nos resultados de um estudo dirigido especificamente a tumores mistos de cadelas, na qual foi observado que abundante quantidade de mucina estava presente apenas em áreas de tecido epitelial proliferativo.

Outros pesquisadores (HELLMÉN; LINDGREN, 1989; HELLMÉN et al., 2000) sustentam a teoria da existência de uma célula progenitora pluripotencial ou **stem cell** como sendo responsável pela heterotipia dos tumores mistos. Atualmente, a hipótese inicialmente levantada por Pulley (1973), o qual sugeriu uma origem mioepitelial para os componentes mesenquimais é a mais abordada (ARAI et al., 2003; ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002; RAMALHO et al., 2006).

2.1.3.1. Papel das células mioepiteliais nos tumores mistos

O mioepitélio da mama normal é constituído por células contráteis, com formato cubóide ou fusiforme, posicionadas entre o epitélio luminal e a membrana basal (BATSAKIS et al., 1983). Formam a base de ductos e lóbulos e separam o epitélio luminal do estroma intersticial (LAKHANI; O'HARE, 2000). Embora se originem do ectoderma, as células mioepiteliais apresentam dupla característica. São constituídas tanto por microfilamentos citoesqueléticos característicos de músculo liso, o que lhes confere capacidade contrátil e proporciona a ejeção do leite, quanto por filamentos intermediários característicos de células epiteliais (DESTEXHE et al., 1993; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, 2002).

Atualmente, no que diz respeito à histogenênese dos tumores mistos, os estudos vem sendo direcionados para a identificação das células mioepiteliais normais e proliferativas, pois acredita-se que sejam as principais responsáveis pela presença de componentes heterólogos. Recentes pesquisas, principalmente através do uso de marcadores imuno-histoquímicos, têm demonstrado possível progressão das células mioepiteliais até tecido cartilaginoso (ARAI et al., 2003; ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002).

Nos tumores mistos, vários tipos de células com possível origem mioepitelial têm sido reconhecidas: células em repouso e células proliferativas, localizadas sobre a lâmina basal; células fusiformes, células estreladas e células redondas (mioepiteliais), presentes no estroma e progredindo para a formação de cartilagem (MOULTON; ROSENBLATT; GOLDMAN, 1986; ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002).

Estudos empregando marcadores para componentes do citoesqueleto celular têm revelado que as células mioepiteliais em repouso mantêm suas características protéicas, mas à medida que proliferam começam a diminuir a expressão de constituintes mioepiteliais como α -actina de músculo liso, citoqueratinas e calponina (DESTEXHE et al. 1993; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, 2002) e apresentam aumento paralelo de proteínas característica do fenótipo mesenquimal como a vimentina e tubulina tipo II (ARAI et al., 2003; DESTEXHE et al., 1993). Pulley (1973) já havia sugerido a hipótese deste fenômeno de transformação progressiva das células mioepiteliais, em estudo com a avaliação

de alterações de filamentos citoplasmáticos destas células utilizando microscopia eletrônica de transmissão.

Alguns trabalhos têm demonstrado o papel da proteína morfogênica óssea desempenhando importante função na formação cartilaginosa e óssea, incluindo o processo de ossificação ectópica. Tateyama et al. (2001) demonstraram através de imuno-histoquímica, que células mioepiteliais proliferativas de neoplasmas mamários benignos de cadelas, especialmente as do tipo fusiforme e estreladas foram intensamente positivas para o tipo 6 (BMP-6) destas proteínas.

Atualmente, o componente miofilamentoso é considerado o alvo mais sensível e específico para a identificação de células mioepiteliais em lesões proliferativas e neoplásicas da mama. A α -actina de músculo liso e a calponina são proteínas miofilamentosas presentes no citoesqueleto mioepitelial e que vem sendo utilizadas como marcadores específicos destas células. A calponina parece ser um marcador muito sensível para células mioepiteliais normais e neoplásicas e sua expressão em neoplasmas mamários caninos têm sugerido o papel histogenético destas células na formação de tecido cartilaginoso e ósseo presente nos tumores mistos (ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002).

2.1.4. Caracterização morfológica e comportamento biológico

Macroscopicamente, os tumores mamários mistos apresentam-se como massas nodulares ovóides bem circunscritas, encapsuladas, com tamanho variável, sendo relatado variação de 1 a 15 centímetros (JABARA, 1960; MISDORP, 2002; MISDORP et al., 1973). Jabara (1960) observou que alguns tumores mistos podem apresentar-se não encapsulados e com ulceração. A consistência pode variar em diferentes áreas do neoplasma, desde mole e cística até firme e sólida. À superfície de corte, geralmente observam-se nódulos de tecido glandular esbranquiçados, contendo áreas de vários tamanhos de tecido cartilaginoso semitranslucentes ou brancos e muitas vezes, áreas ósseas de coloração branco-amareladas. Em muitos tumores, observam-se cistos de diâmetros variados, com conteúdo fluido ou gelatinoso amarronzado. Pequenas áreas de hemorragia e áreas centrais de necrose podem ocorrer em alguns casos (JABARA, 1960; MISDORP et al., 1973). Carcinossarcomas são usualmente indistinguíveis de tumores mistos benignos através de avaliação macroscópica (MOULTON, 1990).

O padrão histológico varia consideravelmente entre tumores diferentes e áreas dentro de um mesmo tumor. A mistura de todos os tipos de componentes, carcinomatosos e sarcomatosos, pode ser reconhecida (HAMPE; MISDORP, 1974). Misdorp et al. (1973) observaram que dentro de um mesmo tumor, mais de um tipo de carcinoma pode ser reconhecido e vários tipos de diferenciação também ocorreram em tecidos sarcomatosos.

Alterações sarcomatosas em carcinossarcomas ocorrem principalmente nos componentes cartilagosos e ósseos. Condrossarcoma se caracteriza por apresentar uma área de cartilagem hialina imatura envolta por condroblastos indiferenciados. Osteossarcoma é composto por proliferação de osteoblastos, osteoclastos e trabéculas de tecido osteóide ou osso mineralizado (MOULTON, 1990). As alterações carcinomatosas em carcinossarcomas e carcinomas em tumores mistos benignos geralmente lembram as outras formas de carcinoma, como o tipo adenomatoso, sólido, escamoso, mucinoso e anaplásico (MISDORP, 2002; MISDORP et al., 1973; MOULTON, 1990).

Hampe e Misdorp (1974) relataram que um número considerável de carcinossarcomas possuíam áreas compostas por células alongadas, consideradas como sendo de origem mioepitelial ou de tecido conjuntivo. Observaram também, transição entre o componente carcinomatoso e condrossarcomatoso, provavelmente via um estágio mucinoso intermediário. Entretanto, os mesmos autores relatam não haver transição de carcinoma a osteossarcoma e acreditam que o componente osteossarcomatoso seja formado via ossificação endocondral.

Alguns autores descreveram que carcinossarcomas geralmente são bem definidos e apenas uma minoria apresenta caráter infiltrativo. Além disso, invasão em linfáticos é raramente observada, mas lesões metastáticas, quando presentes, podem ser do tipo epitelial, mesenquimal ou mista (HAMPE; MISDORP, 1974; MISDORP, 2002; MISDORP et al., 1973).

Alguns carcinossarcomas podem apresentar um padrão histológico benigno (MISDORP, 2002). Misdorp et al. (1973), em uma série de vinte carcinossarcomas, relata que três tumores removidos cirurgicamente foram inicialmente diagnosticados como tumores mistos benignos, mas posteriormente revelaram sua verdadeira natureza pela ocorrência de metástases.

Os pulmões parecem ser o sítio mais comum de metástases dos carcinossarcomas. Há relatos que 50% a 75% de cadelas acometidas por este tipo

de neoplasma apresentaram metástase pulmonar (MISDORP et al. 1973; MOULTON; ROSENBLATT; GOLDMAN, 1986). Entretanto, Benjamin, Lee e Saunders (1999), considerando como carcinossarcomas apenas lesões malignas em ambos componentes (epitelial e mesenquimal), relatam a ocorrência de metástase em 100% das cadelas acometidas por este tipo histológico, enquanto uma taxa metastática de 34% é referida para cadelas acometidas por carcinomas em tumores mistos. Os autores ressaltam a importância de um novo esquema de classificação, pois demonstraram que estes dois tipos apresentaram comportamento biológico diferenciado.

Lesões metastáticas têm sido relatadas em outros órgãos, como linfonodos regionais e distantes, coração, fígado, rins, adrenais, cérebro, ovário, hipófise, músculo, ossos, baço e pleura (MISDORP et al., 1973).

2.1.5. Fatores prognósticos

Um fator prognóstico pode ser definido como sendo uma ou mais características clínicas, patológicas e biológicas dos indivíduos e de seus neoplasmas que permitem prever a evolução clínica e o tempo de sobrevivência do paciente, sem que o mesmo tenha sido submetido a terapias adicionais e adjuvantes após a cirurgia (CAVALCANTI; CASSALI, 2006).

Ao longo dos anos dados epidemiológicos, clínicos e patológicos têm sido utilizados como parâmetros para avaliação prognóstica de cadelas portadoras de neoplasmas mamários (HELLMÉN et al.1993; MISDORP; HART, 1976; PEREZ ALENZA et al., 1997). Geralmente, para serem avaliados, estes dados são confrontados entre si ou com o tempo de sobrevivência dos animais por um período de pelo menos dois anos a contar da data em que foram submetidos à terapia cirúrgica (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; HELLMÉN et al., 1993; KARAYANNOPOULOU et al., 2005; PEREZ ALENZA et al., 1997).

2.1.5.1. Epidemiológicos

Dados epidemiológicos, principalmente os reprodutivos, têm sido previamente relacionados como fatores prognósticos em cadelas com neoplasmas mamários (HELSE; HANNANT, 1979; PEREZ ALENZA et al., 1997).

Perez Alenza et al. (1997) menciona que a idade avançada do animal no momento do diagnóstico de um neoplasma mamário pode interferir negativamente, diminuindo o tempo de sobrevivência livre de doença neoplásica após a cirurgia. Além disso a idade do animal no momento do diagnóstico tem sido descrita por Hellmén et al. (1993) como um fator preditivo muito bom para avaliar o tempo de sobrevivência entre terapia cirúrgica e morte de cadelas em consequência de neoplasmas mamários.

Número de gestações, idade na primeira gestação, duração e regularidade do ciclo estral, castração e uso de contraceptivos são fatores que revelam o estado reprodutivo das fêmeas caninas e têm sido relacionados como fatores prognósticos, mas os resultados obtidos são controversos e, na grande maioria das vezes, não demonstraram ter valor significativo como bons indicadores prognósticos (HELLMÉN et al., 1993; PEREZ ALENZA et al., 1997).

Não têm sido observada relação entre raças acometidas como tendo um prognóstico pior em relação à outras (PEREZ ALENZA et al., 1997).

2.1.5.2. Clínicos

Durante o exame clínico de animais com doença neoplásica, uma série de informações podem ser obtidas para a elaboração do diagnóstico, prognóstico e medidas terapêuticas a serem adotadas (CAVALCANTI; CASSALI, 2006). Inúmeros autores têm empregado estes dados na avaliação prognóstica de cadelas portadoras de neoplasmas mamários (BOSTOCK, 1986; MISDORP; HART, 1976; OWEN, 1966).

Dispnéia, aumento ou diminuição de sons pulmonares podem ser detectados através de auscultação pulmonar, sugerindo uma possível metástase, embora o animal só apresente estes sinais geralmente quando mais de 70% do órgão está acometido pela disseminação tumoral (BRODEY, GOLDSCHIMIDT; ROSZEL, 1983; OWEN, 1966). O exame radiológico é uma ferramenta muito útil para detecção de nódulos no campo pulmonar, podendo sugerir uma lesão metastática, embora nódulos menores que 0,5 centímetro de diâmetro são de difícil detecção neste exame. Animais que apresentam evidência clínica e radiológica de metástase pulmonar geralmente apresentam um pior prognóstico (MIALOT, 1984; OWEN, 1966).

Edema de membros pode indicar drenagem linfática inadequada e, portanto, os linfonodos regionais devem ser examinados (OWEN, 1966). O envolvimento neoplásico de linfonodos regionais, detectados clinicamente e por exames citológico e/ou histopatológico, estão associados a um prognóstico pior em cadelas, apresentando menor tempo de sobrevida em relação à cadelas linfonodo-negativas (HELLMÉN et al., 1993; QUEIROGA; LOPES, 2002). Entretanto, outros autores não encontraram associação entre envolvimento de linfonodos regionais com menor tempo de sobrevida dos animais acometidos (MISDORP; HART, 1976, 1979a).

O tamanho do neoplasma é um dos mais importantes fatores já estabelecidos para a avaliação do prognóstico no câncer de mama da mulher, sendo útil também na abordagem clínica dos neoplasmas mamários na cadela (CAVALCANTI; CASSALI, 2006). Em estudo desenvolvido por Kurzman e Gilbertson (1986), foi constatado que animais portadores de neoplasmas invasivos iguais ou maiores que três centímetros tiveram prognóstico significativamente pior que animais com neoplasmas menores que três centímetros. Bostock (1986) observou que cadelas com carcinomas mamários maiores que cinco centímetros de diâmetro têm um tempo de sobrevida menor em relação àquelas com carcinomas menores que três centímetros. O tamanho do neoplasma também tem sido utilizado na correlação com o tempo livre de doença neoplásica, seja na forma de recorrências ou de metástases. Queiroga e Lopes (2002) verificaram que pacientes com neoplasmas menores que três centímetros e linfonodos negativos tem maior tempo livre de doença que animais portadores de grandes massas tumorais.

Alguns autores têm observado que fatores como aderência a tecidos adjacentes e ulceração também são bons indicadores prognósticos, podendo ser avaliados clinicamente. Animais que apresentam tumores ulcerados e/ou crescimento invasivo apresentam pior prognóstico em relação aqueles com tumores não aderidos e com integridade da pele (ALLEN; MAHAFFEY, 1989; ELSE; HANNANT, 1979; PEREZ ALENZA et al., 1997; WITHROW; MacEWEN, 1996).

A cirurgia é considerada a terapia de escolha para os neoplasmas mamários, a menos que haja evidência de metástase pulmonar. Vários trabalhos já demonstraram que somente a cirurgia, sem outra terapia adjuvante é curativa na grande maioria dos casos (BOSTOCK, 1975, 1986). Várias técnicas têm sido empregadas: nodulectomia e mastectomias simples, regional, unilateral e bilateral (WITHROW; MacEWEN, 1996). Estudos baseados nas taxas de recorrência,

metástase e sobrevida dos animais demonstraram que a realização da cirurgia radical não apresenta vantagens em relação à excisão simples. A meta do procedimento adotado é a remoção do tumor por um procedimento simples, mas não significa que a ressecção incompleta seja aceitável. (ALLEN; MAHAFFEY, 1989; MISDORP; HART, 1979b; WITHROW; MacEWEN, 1996). Para tanto, o uso de técnicas para avaliação de margens cirúrgicas tem sido utilizadas (DERNELL; WITHROW, 1998; ROCHAT et al., 1992). Adicionalmente, a remoção cirúrgica de linfonodos reconhecidamente positivos não demonstrou influência prognóstica positiva na sobrevida destes animais (ALLEN; MAHAFFEY, 1989).

Embora haja uma predileção para acometimento das glândulas mamárias inguinais, por causas ainda não conhecidas, não tem sido observada correlação prognóstica entre a localização do tumor e o tempo de sobrevida dos animais acometidos (MISDORP; HART, 1976).

2.1.5.3. Patológicos

A avaliação histopatológica dos neoplasmas mamários e da rede linfática fornece informações importantes sobre a sua natureza, tipo histológico e a extensão microscópica da lesão, auxiliando na determinação do prognóstico (CAVALCANTI; CASSALI, 2006). Além disso, embora pouco utilizados em medicina veterinária, outros métodos tem sido desenvolvidos no estabelecimento do prognóstico, como a utilização de marcadores imuno-histoquímicos, técnicas para avaliação de neovascularização, angiogênese e potencial proliferativo dos neoplasmas mamários que acometem as cadelas (QUEIROGA; LOPES, 2002).

Vários trabalhos têm demonstrado que a determinação do tipo histológico é um dos critérios mais importantes de avaliação prognóstica (ELLIS et al., 1992; ELSE; HANNANT, 1979; HELLMÉN et al., 1993). Embora em medicina veterinária a classificação histológica dos neoplasmas mamários não seja consensual, a mais aceita e utilizada é o sistema proposto por Misdorp et al., publicado em 1999 pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Armed Forces Institute of Pathology (AFIP). Os sarcomas têm um comportamento biológico específico, evidenciado por curto período de sobrevida e ocorrência freqüente de metástases, apresentando pior prognóstico em relação aos carcinomas (HELLMÉN et al., 1993; MISDORP, 2002; MISDORP et al., 1971, 1972). Dentre os vários tipos histológicos de carcinomas

mamários existentes, tem sido relatado melhor prognóstico de uns em relação a outros, quando comparado o tempo de sobrevivência pós cirúrgico de cadelas acometidas (BOSTOCK, 1975; FOWLER, WILSON, KOESTNER, 1974; MISDORP, 2002; MOULTON, 1990).

Os tumores mistos mamários apresentam grande heterogeneidade morfológica e complexidade histogenética, gerando dificuldade no estabelecimento de uma classificação universal e avaliação prognóstica (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; JABARA, 1960; MISDORP, 2002; MOULTON, 1990). Frequentemente, animais acometidos por tumores mistos mamários apresentam concomitantemente tumores mamários de outro tipo histológico, devendo esta característica sempre ser considerada para se evitar diagnóstico histopatológico incorreto e falhas no prognóstico (CAVALCANTI; CASSALI, 2006; PELETEIRO, 1994). Portanto, Cavalcanti e Cassali (2006) recomendam que, em casos de tumores múltiplos, as amostras devem ser colhidas separadamente, identificadas quanto à localização e enviadas em frascos distintos para avaliação histopatológica.

No atual sistema de classificação recomendado por Misdorp et al. (1999), os tumores mistos mamários são classificados em tumores mistos benignos, carcinomas ou sarcomas em tumores mistos benignos e carcinossarcomas, diferentemente de sistemas de classificação prévios, onde consideravam os dois últimos tipos citados como tumores mistos malignos (HAMPE; MISDORP, 1974, MOULTON, 1990). Benjamin, Lee e Saunders (1999) encontraram diferenças prognósticas significativas entre carcinossarcomas e carcinomas em tumores mistos benignos. Entretanto, Misdorp (2002) cita que animais acometidos por carcinossarcomas apresentam sobrevivência pós-cirúrgica relativamente longa, com média de 18 meses, enquanto que para carcinomas ou sarcomas originados em tumores mistos benignos não existem estudos que permitam uma avaliação prognóstica.

Na área humana, a graduação histológica dos carcinomas mamários e sua utilização como fator prognóstico tem apresentado resultados significativos (ELSTON; ELLIS, 1991). Em veterinária, os critérios geralmente são extrapolados dos utilizados para avaliação prognóstica dos carcinomas mamários que acometem mulheres. Alguns pesquisadores tem empregado o sistema de Nottingham, utilizado em humanos para avaliação de carcinomas mamários da cadela, e que considera os seguintes critérios: índice de formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem

mitótica. Neste sistema, cada um desses critérios recebe um escore de pontos de um a três, e a soma dos escores individuais permite classificar os carcinomas em grau I, II e III, em ordem crescente de anaplasia. Este sistema não é aplicável a sarcomas (ELSTON, ELLIS, 1991; KARAYANNOPOULOU et al., 2005; MISDORP, 2002).

Karayannopoulou et al. (2005) observaram que cadelas portadoras de carcinomas indiferenciados (grau III) apresentaram pior prognóstico em relação a cadelas portadoras de carcinomas grau I e II. Adicionalmente, correlacionaram o tipo e o grau histológico, e relataram que carcinomas complexos e carcinomas em tumores mistos benignos, geralmente de grau I ou II, foram considerados como tendo melhor prognóstico em relação aos carcinomas simples, predominantemente classificados como grau II ou III. Mendes (2006) graduou 87 carcinomas mamários de cadelas utilizando o método de Nottingham e observou que os carcinomas simples, principalmente os subtipos sólido e anaplásicos, foram classificados geralmente como grau II ou III, enquanto que a maioria dos carcinomas complexos foram classificados como grau I.

Microscopicamente, a infiltração de células neoplásicas para tecidos adjacentes e para o interior de vasos tem sido considerada ferramenta útil na avaliação prognóstica de cadelas acometidas por neoplasmas mamários malignos (MISDORP, 2002). Tortoledo, Luna e Batsakis (1984) em estudo dirigido a tumores mistos malignos da glândula salivar de humanos mensuraram microscopicamente o grau de invasão destes tumores para cápsula de tecido conjuntivo adjacente e revelaram que pessoas portadoras de neoplasmas que invadiam mais que 8 milímetros morreram de doença neoplásica durante o período de acompanhamento, enquanto que pessoas portadoras de neoplasmas menos invasivos (>6 milímetros) não morreram como consequência desta doença. Misdorp e Hart (1976, 1979b) também relataram que cadelas que apresentavam neoplasmas mamários altamente infiltrativos apresentaram pior prognóstico em relação ao grupo de cadelas portadoras de neoplasmas bem definidos e com crescimento expansivo.

Marcadores imuno-histoquímicos vêm sendo utilizados de forma crescente na avaliação prognóstica de tumores mamários em humanos e têm se revelado importante ferramenta de trabalho na rotina diagnóstica e de pesquisa, mas em medicina veterinária os trabalhos ainda são escassos (CASSALI, 2000; MARTÍN DE LAS MULAS; MILLÁN; DIOS, 2005). Ainda na área da biologia molecular, tem-se

desenvolvido novos meios de estabelecimento de diagnóstico e prognóstico, como a pesquisa da presença de mutações gênicas, cálculo do índice de proliferação tumoral e quantificação do grau de microvascularização dos tumores mamários caninos (QUEIROGA; LOPES, 2002).

A técnica de coloração especial por impregnação argêntica das regiões organizadoras nucleolares (AgNOR) permite uma avaliação do potencial proliferativo dos neoplasmas e tem se demonstrado como fator prognóstico importante na avaliação dos tumores mamários, tanto na medicina humana como na veterinária (BOSTOCK; MORIARTY; CROCKER, 1992; CECCARELLI et al., 2000).

2.1.5.3.1. AgNOR

A avaliação da cinética celular é uma área de muito interesse na oncologia moderna. O estudo de parâmetros que refletem a fase do ciclo celular de células neoplásicas têm sido apresentadas por serem úteis na avaliação do comportamento biológico de tumores. Uma ampla variedade de métodos têm sido introduzidos nesta área de pesquisa, mas poucos são aplicáveis a tecidos fixados em formalina e/ou embebidos em parafina (LÖHR et al., 1997). Marcadores imuno-histoquímicos de proliferação celular, como o Ki-67 e o PCNA e métodos de coloração especial como a técnica de AgNOR demonstraram ser fatores de interesse diagnóstico e prognóstico. A técnica de AgNOR é descrita como sendo de fácil realização, interpretação e apresentar custos relativamente baixos, podendo ser padronizada com relativa facilidade (BARWIJUK-MACHATA et al., 2004; DERENZINI, 2000; LÖHR et al, 1997).

A técnica histoquímica da AgNOR consiste na impregnação pela prata das proteínas associadas às regiões organizadoras nucleolares (NORs) e constitui um recurso para analisar a proliferação celular, uma vez que estas estruturas estão relacionadas com o nível de atividade celular e nuclear. Nas células em proliferação o número das NORs aumenta, tornando possível a relação entre a contagem das NORs e a proliferação celular (DERENZINI, 2000; TRERÈ, 2000). Alguns autores demonstraram a relação do número de NORs x atividade mitótica utilizando como parâmetro marcadores imuno-histoquímicos de proliferação celular, verificando uma correlação positiva entre o aumento do número de NORs e expressão de

marcadores como PCNA e Ki-67 (BARWIJUK-MACHATA et al., 2004; LÖHR et al., 1997).

As NORs são definidas como alças de DNA que possuem os genes para a transcrição de RNA ribossômico, dos quais decorre a formação de ribossomos e conseqüentemente a síntese protéica. Através da impregnação pela prata, uma série de proteínas ácidas associadas às NORs e correlacionadas diretamente com a atividade transicional e proliferativa das células se tornam evidentes à microscopia de luz, como pontos escuros distribuídos pelo núcleo e nucléolo, sendo o número e a configuração das NORs relacionados com atividade nuclear (DERENZINI, 2000; DERENZINI et al., 2000).

A atividade proliferativa celular é representada pelo aumento do número de NORs/núcleo, refletindo seu estágio de mitose. A célula interfásica possui NORs volumosas e agregadas ao núcleo, apresentando uma ou duas NORs/núcleo. Por outro lado, quando a célula entra em mitose, o nucléolo se fragmenta, dando origem a NORs numerosas e pequenas observadas no núcleo (DERENZINI, 2000).

O número de NORs pode ser obtido através da contagem direta em microscopia de luz ou por análise computadorizada. Existem muitas controvérsias entre o melhor método para sua avaliação (TRERÉ, 2000). Crocker, Boldy e Egan (1989) citam a contagem direta por ser o método mais acurado, ressaltando que a análise por imagem computadorizada pode não ser hábil a considerar NORs muito pequenos ou discretos. Por outro lado, Destexhe, Vanmanshoven e Coignoul (1995) citam que a contagem direta de NORs é tediosa e apresenta um alto risco de variações causadas por condições de observação. Através de estudo comparado entre os dois métodos de contagem, os mesmos autores encontraram superioridade da análise por imagem em relação à contagem direta.

Adicionalmente as variações das condições de observação, erros cometidos pelo observador e outros fatores podem afetar a reprodutibilidade da técnica de AgNOR, como condições de fixação da amostra, tempo de coloração na preparação das lâminas e variabilidade na aparência morfológica individual dos tumores mamários (BOSTOCK; MORIARTY; CROCKER, 1992; LINDNER, 1993).

Em medicina veterinária, a técnica de AgNOR vem sendo empregada principalmente na avaliação de tumores cutâneos de caninos (DIAS, 2006; GIRALDO et al., 2003; KRAVIS et al., 1996) e tumores mamários de cadelas

(BOSTOCK; MORIARTY; CROCKER, 1992; DESTEXHE; VANMANSHOVEN; COIGNOUL, 1995; LÖHR et al., 1997; MENDES, 2006).

Bostock, Moriarty e Crocker (1992) correlacionaram o diagnóstico histológico e a contagem das NORs com o prognóstico de cadelas portadoras de tumores mamários, e observaram que neoplasmas benignos apresentaram menor contagem das NORs, apresentando prognóstico mais favorável em relação a neoplasmas malignos, que tiveram maior contagem das NORs. Embora tenham encontrado uma correlação positiva entre aumento do número das NORs e potencial de malignidade, enfatizando o valor do uso desta técnica, os mesmos autores citam que a avaliação morfológica para tumores que são claramente invasivos demonstrou ser mais útil na avaliação prognóstica.

3 METODOLOGIA

Para realização deste estudo, foram obtidos dos arquivos do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel) protocolos e amostras de tumores mistos mamários de cadelas provenientes de biópsias ou necrópsias. Do número total de amostras recebidas para diagnóstico histopatológico, entre o período de janeiro de 2000 a julho de 2006, foram selecionados os casos de neoplasmas mamários e dentro deste universo os casos de tumores mistos mamários. Dos protocolos, foram tabulados os dados epidemiológicos, clínicos e a avaliação macroscópica. As amostras recuperadas na forma de blocos de parafina ou fixadas em formalina foram clivadas para avaliação histopatológica. Adicionalmente, foi possível o acompanhamento pós-cirúrgico de alguns dos casos de cadelas acometidas por tumores mistos.

3.1. Avaliação dos aspectos epidemiológicos e clínicos

Foi realizado um estudo retrospectivo e prospectivo. Os dados dos animais cujas amostras foram recebidas durante o período de janeiro de 2000 a dezembro de 2004, ou seja, previamente ao início deste estudo, foram obtidos através dos registros dos livros e dos protocolos de exame anatomo-patológico dos arquivos do LRD/UFPel. Das amostras recebidas durante o período de janeiro de 2005 a julho de 2006, os dados foram obtidos através das fichas específicas de encaminhamento de neoplasmas mamários (apêndice 1). Todos os dados obtidos foram então agrupados e tabulados para posterior avaliação (apêndice 2).

Desse levantamento, foram colhidos dados referentes à raça e idade dos animais acometidos, quando mencionados.

Quando possível, foram coletados dados referentes ao tempo de evolução tumoral, baseado em informações fornecidas pelo proprietário do animal para o médico veterinário. O período considerado compreende desde o momento de detecção do tumor pelos proprietários ou clínicos até a realização da mastectomia.

Os dados referentes à apresentação clínica dos tumores foram obtidos através de informações presentes nas fichas de encaminhamento das amostras (Apêndices) ou diretamente pelos médicos veterinários que realizaram os exames clínicos. Neste sentido, foram avaliadas informações relativas à localização, tamanho, aderência a tecidos adjacentes e ulceração dos neoplasmas. Quanto ao tamanho, as medidas foram obtidas através da mensuração em centímetros da massa tumoral em três dimensões, sendo determinado para comparação o maior valor. O tamanho dos tumores recebidos em fragmentos foi determinado pelas dimensões fornecidas pelos clínicos ou cirurgiões.

3.2. Aspectos patológicos

3.2.1 Avaliação macroscópica

A avaliação macroscópica foi realizada em relação ao tamanho, forma, consistência, padrão de crescimento dos neoplasmas, bem como aspecto da superfície de corte. Dados de casos prévios ao início do estudo foram obtidos através dos protocolos.

Quando as amostras foram obtidas de necropsias, foi realizada a busca de lesões metastáticas ou outras lesões relacionadas ao neoplasma que pudessem ter ocasionado a morte ou indicação para eutanásia do animal.

Para identificação das margens cirúrgicas foram incluídas somente amostras de tumores mistos recebidas como peças cirúrgicas inteiras. Após fixadas em formalina à 10%, as margens de interesse foram pintadas com tinta nanquim de cor preta e posteriormente embebidas em solução de ácido acético glacial e formol. As amostras foram clivadas e incluídas de forma que proporcionassem avaliação histológica em três dimensões, permitindo o exame das bordas laterais, antero-posterior e profunda.

3.2.2 Avaliação histopatológica

3.2.2.1 Hematoxilina-eosina (HE)

Foram resgatadas amostras em blocos de parafina ou fixadas em formalina à 10%. De um total de 80 registros diagnósticos de tumores mistos mamários durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006, foi possível a recuperação de 60 amostras. Do material incluído em parafina, foram realizadas secções de 4 a 6 µm, montadas sobre lâminas histológicas, coradas com hematoxilina-eosina (ALLEN, 1994) e avaliadas através de microscopia de luz.

Os tumores mistos mamários foram classificados segundo o esquema atual preconizado pela AFIP/OMS (MISDORP et al., 1999), classificando-os em tumores mistos benignos, carcinomas ou sarcomas em tumores mistos benignos e carcinossarcomas.

Aspectos microscópicos dos neoplasmas foram avaliados no âmbito quantitativo e qualitativo. Em relação ao componente epitelial neoplásico, três características foram estabelecidas para avaliação: índice de formação tubular, grau de pleomorfismo celular e taxa de proliferação celular, representada pelo número de mitoses observadas. Adicionalmente, os carcinomas em tumor misto benigno e os carcinossarcomas tiveram seus componentes carcinomatosos classificados em grau I, II e III, em ordem crescente de malignidade. A graduação foi possível através da soma dos escores atribuídos a eles em relação às características citadas anteriormente (Figura 1).

Para o componente mesenquimal cartilaginoso foram estabelecidos os seguintes critérios: pleomorfismo celular e nuclear, número de mitoses, presença de múltiplos núcleos, celularidade e presença de células agrupadas (POOL, 1990).

A avaliação das margens cirúrgicas foi realizada através de microscopia de luz. A amostra que apresentasse células neoplásicas em contato com a tinta nanquim foi classificada como margem comprometida e a amostra com ausência de invasão neoplásica foi classificada como margem livre.

A invasividade de células neoplásicas para cápsula de tecido conjuntivo ou outros tecidos adjacentes também foi avaliada.

Característica	Escore		
Formação tubular: 1 ponto para formação tubular bem demarcada e 3 para formação de pouco ou nenhum túbulo.	1	2	3
Pleomorfismo celular e nuclear: 1 ponto para células e núcleos uniformes em tamanho e forma; 3 pontos se pleomorfismo é marcado.	1	2	3
Índice mitótico: 1 ponto para uma figura de mitose/ campo; 2 para 2 ou 3 figuras/campo e 3 pontos se o número de mitoses é alto.	1	2	3
Soma dos escores	Grau de malignidade		
3-5	I		
6-7	II		
8-9	III		

Figura 1 – Características dos componentes epiteliais avaliados de carcinomas em tumor misto benigno e carcinossarcomas e classificação em graus de malignidade.

Fonte: Elston e Ellis, 1991.

3.2.2.2. AgNOR

A avaliação da técnica de AgNOR foi realizada no componente epitelial das amostras de tumores mistos examinadas na coloração de hematoxilina-eosina, como descrito anteriormente. Dos blocos de parafina, foram obtidos cortes de 3µm, os quais foram corados através de impregnação pela prata (Anexo).

Para determinar a frequência de AgNOR, os grânulos argentafins no interior dos núcleos foram contados através do método de contagem direta à microscopia de luz. Foram selecionados cinco campos representativos e aleatórios em aumento de 1000x, procedendo-se a contagem dos grânulos em 100 células neoplásicas (20 células cada campo). A frequência individual de cada neoplasma foi obtida dividindo-se o número total de grânulos contados por 100. A contagem foi realizada por dois observadores, em momentos distintos, sem que nenhum deles tivesse conhecimento prévio do tipo histológico da amostra avaliada.

Para análise estatística, foi utilizado o teste de Duncan para comparação das médias dos diferentes tipos histológicos de um mesmo observador. Para a comparação das médias AgNOR/núcleo entre os diferentes observadores foi utilizado o teste de T para duas amostras. Os resultados foram estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

3.3. Avaliação da sobrevida de cadelas portadoras de tumor misto mamário

Neste estudo foram incluídas amostras de tumores mistos de cadelas que foram submetidas à procedimento cirúrgico de exérese neoplásica e acompanhadas por um período mínimo de seis meses após a cirurgia. O acompanhamento foi realizado através de contato telefônico com os proprietários e/ou por exames periódicos de rotina realizados no HCV/UFPel ou clínicas veterinárias particulares. Na ocasião, se os animais estivessem vivos, os proprietários eram interrogados em relação ao estado geral do animal e ocorrência de recidivas ou metástases. Quando mortos, procuraram-se informações em relação à data e a causa e condições do óbito (Apêndices).

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação dos aspectos epidemiológicos e clínicos

No período de janeiro de 2000 a julho de 2006, foram recebidas para avaliação histopatológica no LRD/UFPel 1450 amostras de caninos. Deste total 237 foram diagnosticadas como neoplasmas mamários, sendo que 80 eram tumores mistos mamários. Dentre estes, foram recuperadas amostras de 60 animais, as quais foram avaliadas sob aspecto histomorfológico, sendo que sete delas foram excluídas por terem sido reclassificadas como carcinoma complexo mamário, obtendo-se então para avaliação neste estudo um total de 53 amostras. Quanto ao tipo de material recebido para diagnóstico, 49 eram biópsias ou peças cirúrgicas e 4 cadáveres.

Avaliaram-se dados referentes à idade de 51 animais. A média de idade dos animais acometidos foi de 9,5 anos, com uma amplitude de 5 a 18 anos. A distribuição da frequência de tumores mistos mamários por idade estão apresentados na figura 2.

Em relação à raça, dados referentes a todos animais (n=53) puderam ser avaliados. Houve um predomínio dos animais de raça mista (23/53), seguidos pelos animais da raça Cocker Spaniel (4/53), Poodle (3/53), Daschund (3/53), Rottweiler (3/53), Fila Brasileiro (3/53), Pastor Alemão (2/53), Pintcher (2/53) e Yorkshire (2/53). Havia registro de apenas um caso em cadelas das raça Husky Siberiano, Boxer, Dálmata, Fox, Setter Irlandês, Dogo Argentino, Akita e Doberman.

As massas tumorais apresentaram-se localizadas em uma ou múltiplas mamas. Das 53 amostras, dados referentes a 45 animais foram avaliados sob este aspecto. Quando as massas eram localizadas em apenas uma região (26/45), as mamas mais afetadas foram as inguinais (46,2%), seguidas pelas mamas

abdominais (34,6%) e torácicas (19,2%). Quando as massas eram múltiplas (19/45), foi observado predomínio de lesões envolvendo as três regiões (42,1%), ou seja, inguinal, abdominal e torácica, seguido por lesões localizadas concomitantemente nas regiões inguinal e abdominal (36,8%) (Figura 3A), abdominal e torácica (15,8%) e inguinal e torácica (5,3%).

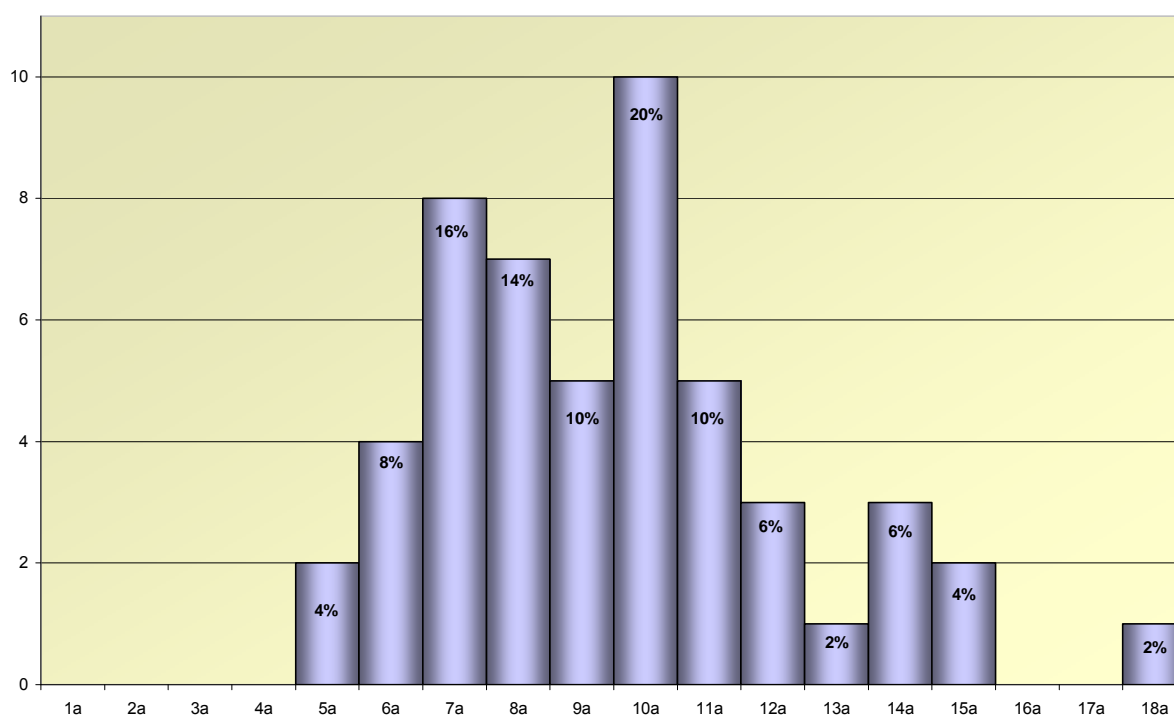


Figura 2 –Distribuição da frequência de tumores mistos mamários por idade, durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.

Dados referentes ao tamanho de 10 neoplasmas não puderam ser obtidos em função do recebimento de fragmentos e/ou ausência de informação a cerca do tamanho aproximado da massa tumoral. Neste sentido, foram avaliados dados referentes ao tamanho de 43 amostras. Destes, 32,6% apresentavam tamanho menor que 3cm, 23,3% tinham entre 3 e 5cm e 44,1% tinham tamanho maior 5cm.

Em relação à presença ou não de ulceração, das 53 amostras, dados relativos a 38 amostras foram avaliados. Destes, 27 (71%) apresentaram-se não ulcerados, enquanto que 11 (29%) apresentaram-se com ulceração. Em relação à aderência do neoplasma a tecidos adjacentes, foi possível a avaliação de 37 amostras, onde 26 (70,3%) neoplasmas apresentaram-se não aderidos e 11 (29,7%) apresentaram-se aderidos (Tabela 1).

Tabela 1 – Características macroscópicas dos diferentes tipos histológicos de tumores mistos em relação à aderência para tecidos adjacentes.

Tipo histológico	n	Aderência para tecidos adjacentes	
		-	+
Tumor misto benigno	2	2 (100%)	0 (0%)
Carcinoma em tumor misto benigno	12	9 (75%)	3 (25%)
Carcinossarcoma	23	15 (65,2%)	8 (34,8%)

Em relação ao tempo de evolução dos neoplasmas, foi possível a avaliação dos dados de 45 amostras. Foi observado que 11,1% (5/45) apresentavam evolução de até um mês, 40% (18/45) apresentaram evolução de 1 até 6 meses, 4,4% (2/45) apresentaram evolução de 6 até 12 meses e 44,5% (20/45) apresentaram evolução superior a 12 meses.

4.2. Aspectos patológicos

4.2.1. Avaliação macroscópica

Dos tumores mistos mamários avaliados, dados referentes a 28 amostras puderam ser obtidos em relação à descrição macroscópica. De uma maneira geral, os tumores apresentaram diâmetros variados e consistência firme a dura. Quanto à superfície de corte, a maioria apresentava-se como massas nodulares esbranquiçadas a semitranslúcidas (Figura 3B) e alguns tumores continham espículas ósseas brancas a amareladas. Estruturas císticas com conteúdo líquido a gelatinoso e coloração semitranslúcida a âmbar foi observado em alguns casos.

4.2.1.1. Descrição dos casos dos animais necropsiados

Através da necropsia, foi possível a realização do exame anatomopatológico de quatro cadáveres de cadelas portadoras de tumor misto mamário.

No caso 1, o animal era de raça mista, tinha 11 anos de idade e apresentava histórico de presença de tumores na região das mamas inguinais há três anos, anorexia e sinais nervosos como incoordenação, impossibilidade de reconhecimento dos donos e convulsões. Pelo prognóstico desfavorável, cirurgia de

exérese tumoral não foi realizada, procedendo-se então a eutanásia. Macroscopicamente foram observados nódulos esbranquiçados, alguns císticos com conteúdo líquido translúcido, medindo de dois a cinco centímetros de diâmetro localizados nas mamas inguinais e abdominais. Nódulos esbranquiçados de diferentes diâmetros também foram observados nos pulmões, rins e cérebro. Histologicamente, o neoplasma mamário foi classificado como carcinossarcoma, sendo os nódulos metastáticos compostos pelo componente epitelial.

No caso 2, o animal era de raça mista, tinha 15 anos de idade e apresentava nódulos ulcerados, aderidos e invasivos em toda cadeia mamária há aproximadamente três meses. Mastectomia bilateral radical foi realizada e através de exame radiográfico não foi encontrada evidência de metástases. Quatro meses após procedimento cirúrgico, o animal apresentou dispnéia grave, seguida de morte. Ao exame macroscópico, constatou-se a presença de hidrotórax contendo líquido sero-hemorrágico e nos pulmões foram observados numerosos nódulos firmes esbranquiçados com tamanhos variando de 0,2 a 5 centímetros de diâmetro. Os mesmos nódulos também foram encontrados na pleura, diafragma, costelas e adrenais. Histologicamente o tumor foi classificado como carcinossarcoma mamário e os nódulos metastáticos eram do tipo misto.

O caso 3 trata-se de uma cadela da raça Boxer com idade aproximada de seis anos. Não foi possível a obtenção de dados da história clínica, pois este animal era um cão errante que há pouco havia sido acolhido pelo biotério central. Macroscopicamente, na mama abdominal caudal havia uma massa de cerca de dez centímetros de diâmetro, firme, cística com conteúdo avermelhado. Na mama inguinal havia um nódulo de cerca de três centímetros de diâmetro, firme, com superfície de corte esbranquiçada de aspecto cartilaginoso. Nos pulmões (Figura 3C) havia múltiplos nódulos firmes esbranquiçados de tamanhos variados e no cérebro havia nódulos firmes esbranquiçados de cerca de 2 centímetros de diâmetro (Figura 3D). Histologicamente os tumores foram classificados como carcinossarcoma e os nódulos metastáticos continham células do tipo epitelial.

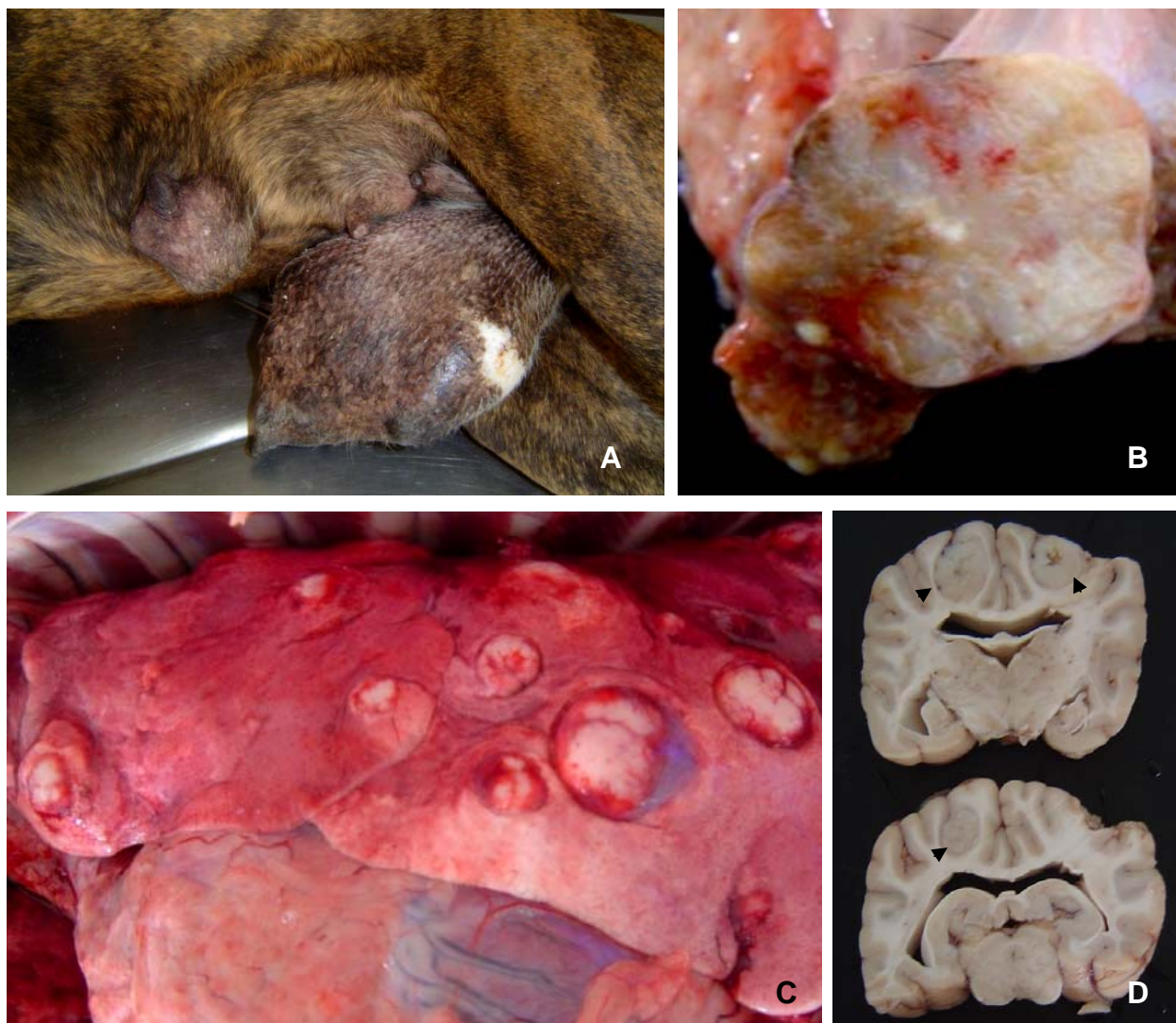


Figura 3 – Aspecto macroscópico dos tumores mistos mamários. **A)** Massas tumorais localizadas nas mamas abdominais e inguiniais; **B)** Superfície de corte de tumor misto. Aspecto nodular esbranquiçado a semitranslucente; **C)** Pulmões apresentando múltiplos nódulos metastáticos, esbranquiçados e de variados tamanhos; **D)** Superfície de corte de encéfalo contendo nódulos metastáticos (setas) esbranquiçados de aproximadamente dois centímetros de diâmetro.

O caso 4 consistiu de uma cadela com dez anos de idade, raça Doberman com histórico de claudicação e edema do membro anterior, paresia dos membros posteriores e nódulos mamários localizados na mama inguinal, abdominal e torácica. O animal foi submetido à eutanásia. Macroscopicamente, os nódulos mamários apresentavam tamanhos variando de 1 a 5 cm de diâmetro, eram firmes e com superfície de corte nodular esbranquiçada de aspecto cartilaginosa. Foi observado aumento de volume dos linfonodos axilares, onde histologicamente detectou-se metástase de células epiteliais.

4.2.2. Avaliação histopatológica

4.2.2.1. Hematoxilina-eosina

Através do esquema atual para classificação de tumores mamários em cadelas preconizado pela AFIP/OMS (MISDORP et al., 1999), foi avaliado o tipo histológico de 60 amostras. Sete amostras anteriormente classificadas como tumores mistos foram reclassificadas como adenomas ou carcinomas complexos mamários. Embora apresentassem proliferação epitelial e mioepitelial com produção abundante de matriz extracelular, o componente mesenquimal não estava distinto, caracterizando apenas formação de pseudo-cartilagem, e portanto foram excluídos do grupo dos tumores mistos avaliados neste estudo.

Assim sendo, foram avaliadas 53 amostras de tumores mistos mamários, sendo obtidos os seguintes resultados: 2 (3,8%) tumores mistos benignos, 16 (30,2%) carcinomas em tumores mistos benignos e 35 (66%) carcinossarcomas (Figura 4).

Características morfológicas do componente epitelial (Tabela 2) e mesenquimal destas amostras foram avaliadas (Figura 5 e 6). Das 53 amostras cujo componente mesenquimal foi avaliado, em 51 observou-se a presença de cartilagem. Noutras duas, um carcinoma em tumor misto benigno e um carcinossarcoma, observou-se exclusivamente tecido osteóide e lipóide, respectivamente (Tabela 3).

Adicionalmente, o componente carcinomatoso dos carcinomas em tumor misto benigno e dos carcinossarcomas foram graduados e classificados em grau I, II e III (Tabela 4), segundo parâmetros preconizados por Elston e Ellis (1991).

Tabela 2 – Características morfológicas do componente epitelial neoplásico avaliadas em diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários de cadelas, diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.

Características morfológicas do epitélio neoplásico										
Tipo histológico	n	Formação tubular			Pleomorfismo celular			Índice de mitoses		
		1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Tumor misto benigno	2	2 (100%)	0 (0%)	0(0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Carcinoma em tumor misto benigno	16	6 (37,5%)	6 (37,5%)	4 (25%)	2 (12,5%)	6 (37,5%)	8 (50%)	11 (68,8%)	5 (31,2%)	0(0%)
Carcinossarcoma	35	12 (34,3%)	15 (42,9%)	8 (22,8%)	5 (14,3%)	18 (51,4%)	12 (34,3%)	19 (54,3%)	15 (42,9%)	1 (2,8%)

Formação tubular - Escores: 1: túbulos bem formados; 2: formação tubular moderada; 3: pouca ou nenhuma formação tubular.

Pleomorfismo – Escores: 1: discreto; 2: moderado; 3: acentuado.

Índice de mitoses - Escores: 1: uma figura de mitose/campo; 2–duas ou três figuras de mitose/campo; 3: >3 figuras de mitose/campo.

Fonte: Elston e Ellis, 1991.

Tabela 3 – Características morfológicas avaliadas em diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários de cadelas, cujas amostras apresentaram tecido mesenquimal exclusivamente cartilaginoso (n=51), diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.

		Características morfológicas do tecido mesenquimal cartilaginoso														
Tipo histológico	n	Pleomorfismo			Celularidade			Células agrupadas			Índice de mitoses			Múltiplos núcleos		
		1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Tumor misto benigno	2	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Carcinoma em tumor misto benigno	15	9 (60%)	6 (40%)	0 (0%)	9 (60%)	4 (26,7%)	2 (13,3%)	12 (80%)	3 (20%)	0 (0%)	15 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	14 (93,3%)	1 (6,7%)	0 (0%)
Carcinossarcoma	34	0 (0%)	7 (20,6%)	27 (79,4%)	1 (2,9%)	13 (38,2%)	20 (58,9%)	8 (2,3%)	17 (50%)	9 (2,7%)	21 (61,8%)	12 (35,3%)	1 (2,9%)	19 (55,9%)	10 (29,4%)	5 (14,7%)

Pleomorfismo - Escores 1: discreto; 2: moderado; 3: acentuado.

Celularidade – Escores 1: discreta; 2: moderada; 3: acentuada.

Células agrupadas – Escores 1: discreta; 2: moderada; 3: acentuada.

Índice de mitoses - Escores: 1: uma figura de mitose/campo; 2–duas ou três figuras de mitose/campo; 3: > três figuras de mitose/campo.

Presença de múltiplos núcleos – Escores: 1: uma célula com dois ou mais núcleos/campo; 2 – duas ou três células com dois ou mais núcleos/campo; 3 - > três células com dois ou mais núcleos/campo

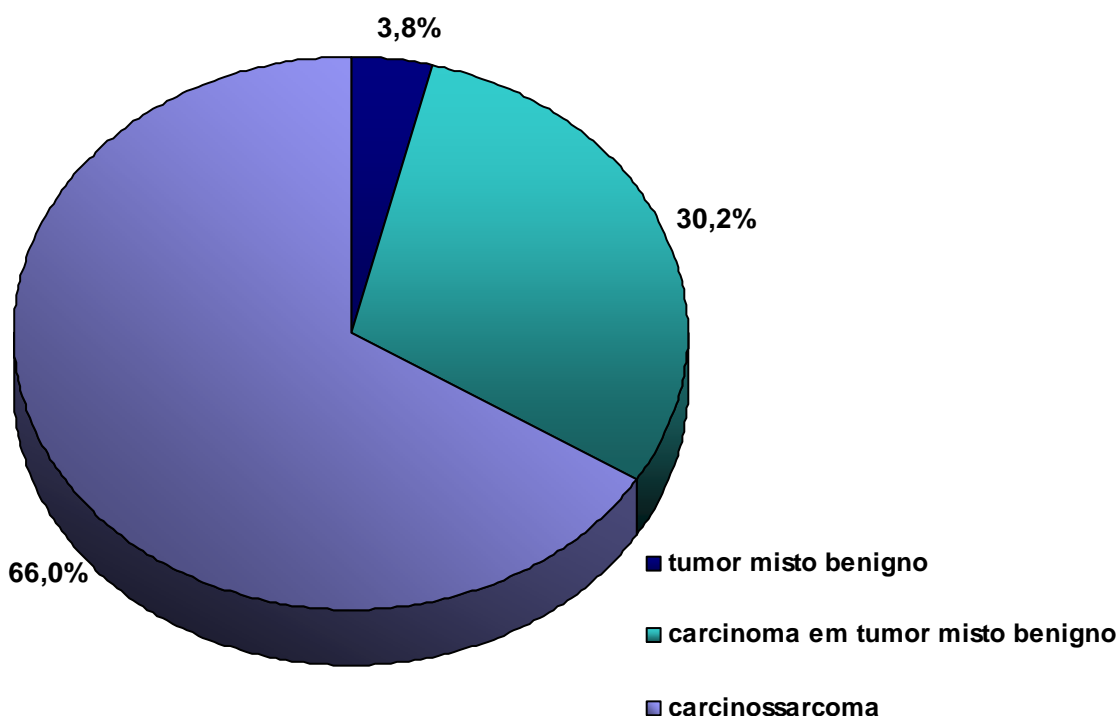


Figura 4 – Distribuição dos tumores mistos mamários avaliados (n=53) conforme o tipo histológico, segundo a classificação da AFIP/OMS.

Tabela 4 – Gradação histológica de carcinomas em tumor misto benigno e carcinossarcomas em relação ao componente carcinomatoso.

Tipo histológico	n	Grau I	Grau II	Grau III
Carcinoma em tumor misto benigno	16	7 (43,8%)	8 (50%)	1 (6,2%)
Carcinossarcoma	35	16 (45,7%)	17 (48,6%)	2 (5,7%)

A maioria das amostras classificadas como carcinoma em tumor misto benigno apresentou predomínio do componente epitelial maligno em relação ao componente epitelial benigno. Em algumas amostras, houve dificuldade em encontrar áreas contendo tecido epitelial benigno.

Foram avaliadas as margens de 13 amostras. Dez amostras apresentaram margens livres (Figura 7A e 7C), enquanto que três apresentaram margens comprometidas (7B e 7D). Doze das amostras foram provenientes de mastectomias e apenas uma de nodulectomia. Recidivas não foram observadas nos animais que apresentaram margens livres no período acompanhado. Um dos animais, cuja amostra apresentava margens comprometidas apresentou recidiva neoplásica quatro meses após procedimento cirúrgico.

Dentre os tumores mistos avaliados quanto à invasividade para tecidos adjacentes, não foi possível a avaliação de três amostras histológicas de carcinossarcomas, pois não continham cápsula de tecido conjuntivo ou outro tecido delimitando o neoplasma. As duas amostras de tumores mistos benignos não demonstraram invasividade, enquanto que 43,75% das amostras de carcinoma em tumor misto benigno e 50% das amostras de carcinossarcomas apresentaram-se invasivas (Tabela 5).

Tabela 5 – Padrão de microinvasividade para tecidos adjacentes nos diferentes tipos histológicos de tumores mistos.

Tipo histológico	n	Microinvasividade para tecidos adjacentes	
		-	+
Tumor misto benigno	2	2 (100%)	0 (0%)
Carcinoma em tumor misto benigno	16	9 (56,2%)	7 (43,8%)
Carcinossarcoma	32	16 (50%)	16 (50%)

4.2.2.2 AgNOR

As regiões organizadoras nucleolares argirofílicas coraram-se intranuclearmente, representadas microscopicamente como grânulos pretos ou marrom-escuros. Nos tumores mistos benignos observa-se geralmente 1-2 AgNOR/núcleo, (Figuras 8A) enquanto que nos malignos observam-se vários (Figura 8B).

Do total de tumores mistos incluídos neste estudo (n=53), realizou-se a contagem em 49 amostras. Foram obtidas as médias da contagem AgNOR/núcleo juntamente com seus respectivos erros padrões e a amplitude AgNOR/núcleo nos três tipos histológicos de tumores mistos.

Quando as médias AgNOR/núcleo dos grupos de tumores mistos malignos e benignos foram comparadas, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na contagem do observador 1 e de ambos os observadores (1 e 2), demonstrado através da tabela 6. Não houve diferença estatística significativa quando as médias AgNOR/núcleo dos diferentes tipos histológicos foram comparadas entre os observadores.

Tabela 6 – Médias AgNOR/núcleo para os diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários, diagnosticados durante o período de janeiro de 2000 a julho de 2006.

Tipos histológicos	n	Amplitude				
		Média AgNOR/núcleo (\pm EP)			AgNOR/núcleo	
		Obs 1	Obs 2	Obs 1 e 2	Obs 1	Obs 2
Tumor misto benigno	2	1,82 (\pm 0,33) b	2,13 (\pm 0,29) a	1,97 (\pm 0,31) b	1,49-2,15	1,84-2,42
Carcinoma em tumor misto benigno	15	3,53 (\pm 0,30) a	3,43 (\pm 0,19) a	3,48 (\pm 0,29) a	1,91-6,01	1,76-4,76
Carcinossarcoma	32	3,39 (\pm 0,21) a	3,36 (\pm 0,19) a	3,38 (\pm 0,20) a	1,69-6,53	1,91-5,77

Obs: Observador

4.3. Avaliação da sobrevida de cadelas portadoras de tumor misto mamário

Após procedimento cirúrgico de exérese neoplásica, foi possível o acompanhamento de 33 animais, num período de no mínimo seis meses pós mastectomia (Figuras 9 e 10). Destes, 10 animais portadores de carcinossarcoma e 8 portadores de carcinoma em tumor misto benigno foram acompanhados até a morte ou por um período de dois anos pós-mastectomia (Tabela 7). Não foi possível o acompanhamento dos dois animais portadores de tumor misto benigno.

Tabela 7 – Sobrevida de animais portadores de carcinoma em tumor misto benigno e carcinossarcoma acompanhados até a morte ou por um período de dois anos pós mastectomia.

Tipo histológico	n	Animais vivos	Mortes em decorrência de metástases	Mortes por outras causas ou causa indeterminada
Carcinoma em tumor misto benigno	8	7 (87,5%)	0 (0%)	1 (12,5%)
Carcinossarcoma	10	4 (40%)	3 (30%)	3 (30%)

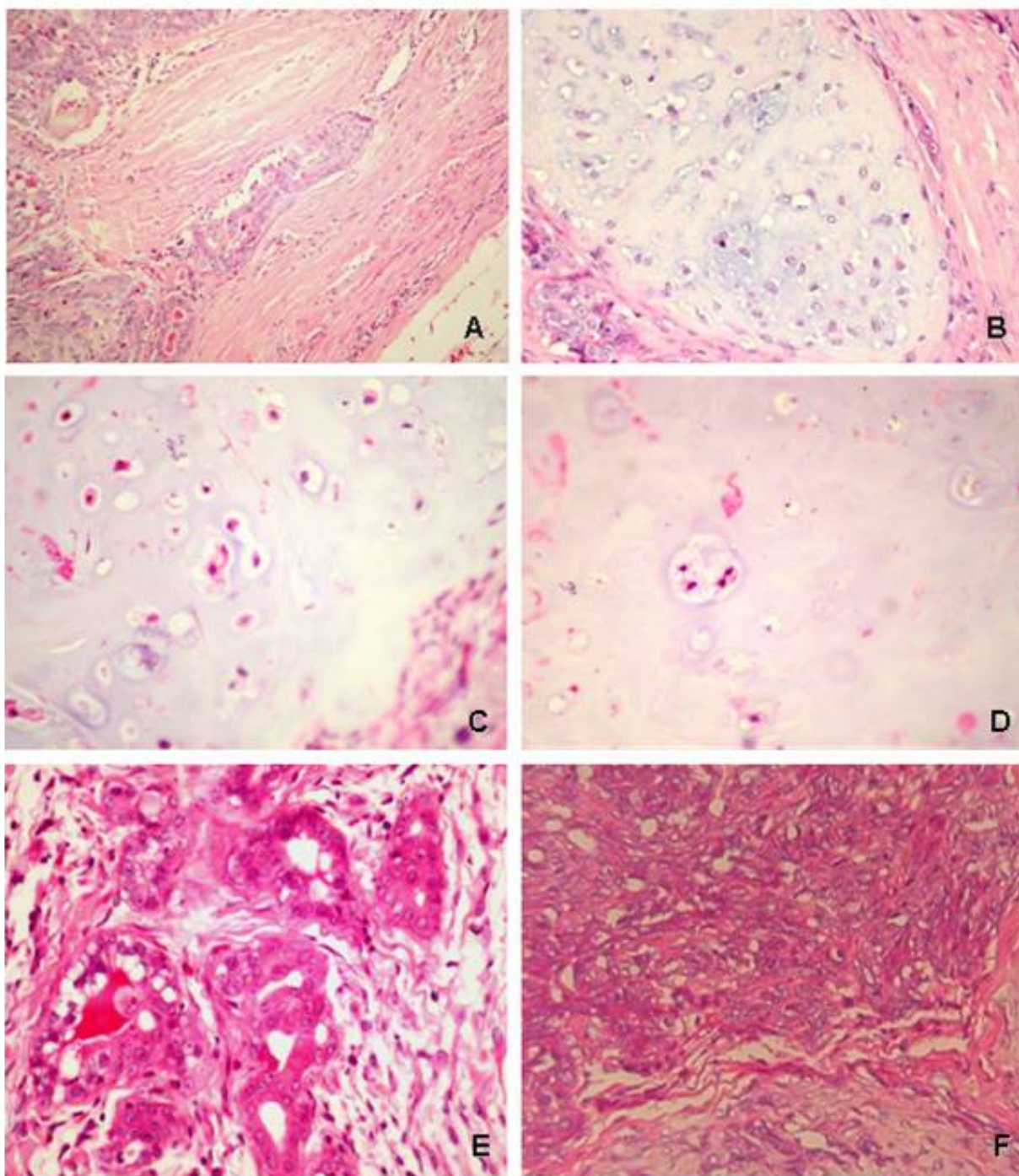


Figura 5 – Características microscópicas dos tumores mistos mamários: **A)** Grupo de células epiteliais malignas invadindo tecido conjuntivo adjacente ao neoplasma (Obj. 20x); **B)** Área de formação cartilaginosa benigna apresentando células bem diferenciadas (Obj. 20x); **C)** Área de formação cartilaginosa maligna apresentando células com pleomorfismo acentuado (Obj. 40x); **D)** Detalhe histológico de condrócito apresentando múltiplos núcleos (Obj. 40x); **E)** Células epiteliais bem diferenciadas com formação tubular evidente e proliferação mioepitelial em um tumor misto benigno (Obj. 40x); **F)** Células epiteliais pouco diferenciadas, pleomórficas e escassa formação tubular (Obj. 20x).

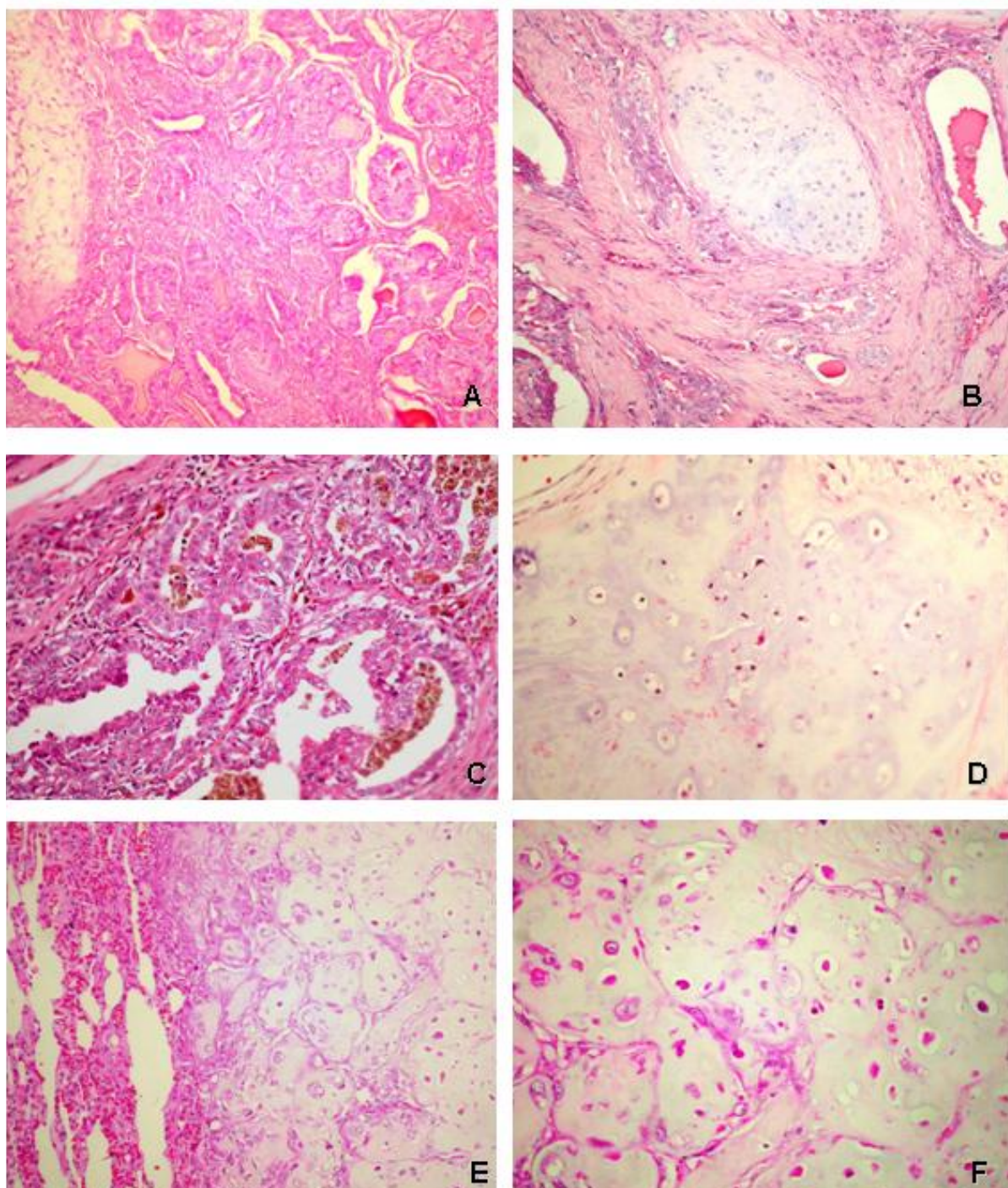


Figura 6 – Características microscópicas dos diferentes tipos histológicos de tumores mistos mamários: **A)** Tumor misto benigno apresentando formação tubular evidente, células epiteliais bem diferenciadas e área de formação cartilaginosa benigna (Obj. 20x); **B)** Carcinoma em tumor misto benigno apresentando túbulos de células epiteliais bem diferenciadas e ninhos de células epiteliais pleomórficas com pouca formação tubular adjacente à área de cartilagem benigna (Obj. 20x); **C)** Componente epitelial de um carcinosarcoma (Obj. 20x); **D)** Componente mesenquimal cartilaginoso de um carcinosarcoma; **E)** Pulmão apresentando nódulo metastático, do tipo misto, de carcinosarcoma (Obj. 20x); **F)** Detalhe de E, demonstrando pleomorfismo acentuado da cartilagem maligna (Obj. 40x).

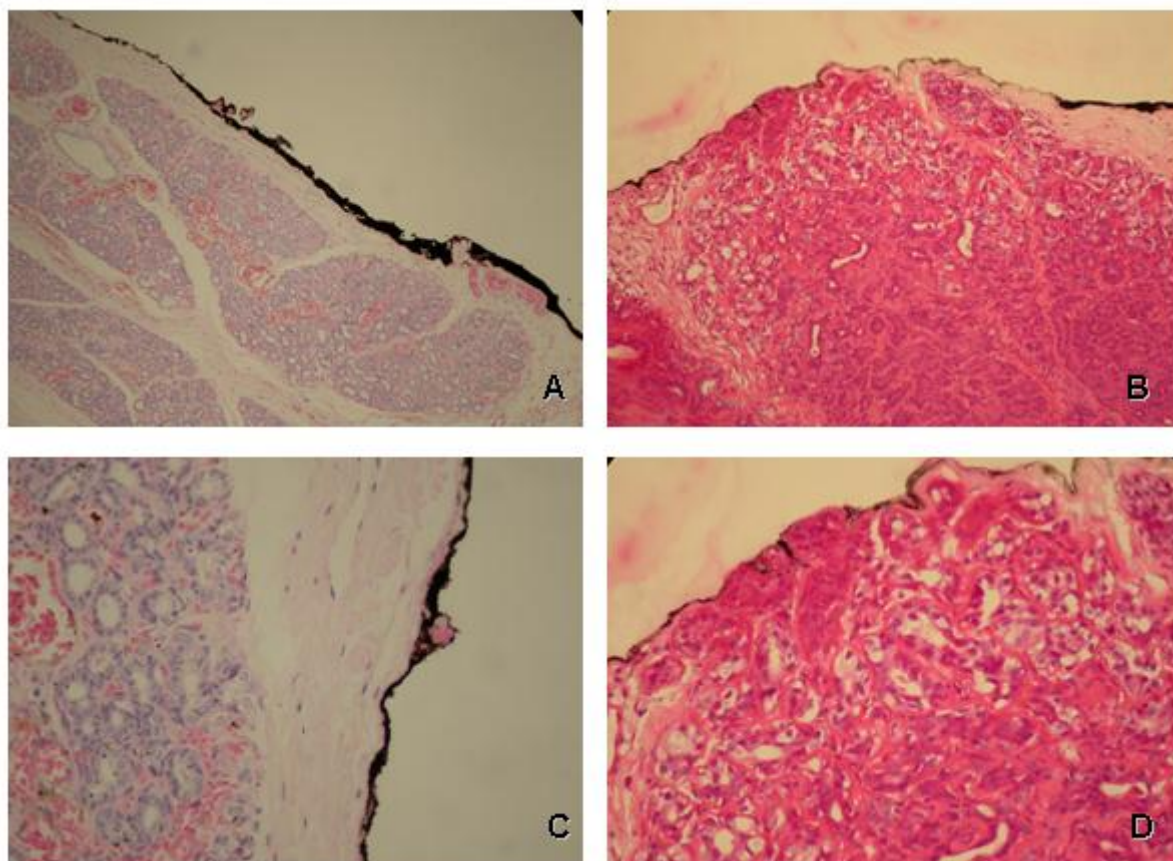


Figura 7 – Avaliação das margens cirúrgicas. **A)** Margem livre (Obj 10x). **B)** Margem comprometida (Obj 10x). **C e D)** Detalhe das figuras A e B, respectivamente (Obj 20x).

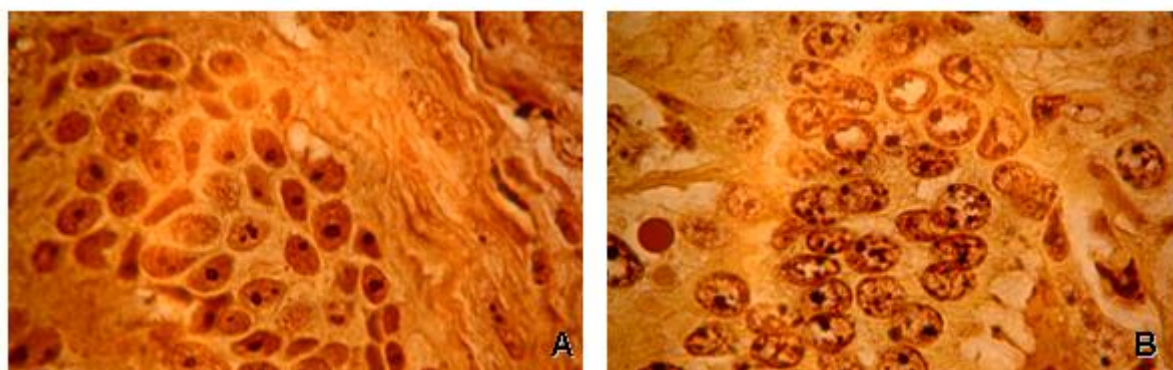


Figura 8 – Caracterização das regiões organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNOR). **A)** Células epiteliais bem diferenciadas de um tumor misto benigno com baixa contagem AgNOR/núcleo, ou seja 1-2/ núcleo (Obj 100x); **B)** Células epiteliais pouco diferenciadas em um carcinosarcoma apresentando alta contagem AgNOR/núcleo (Obj 100x).

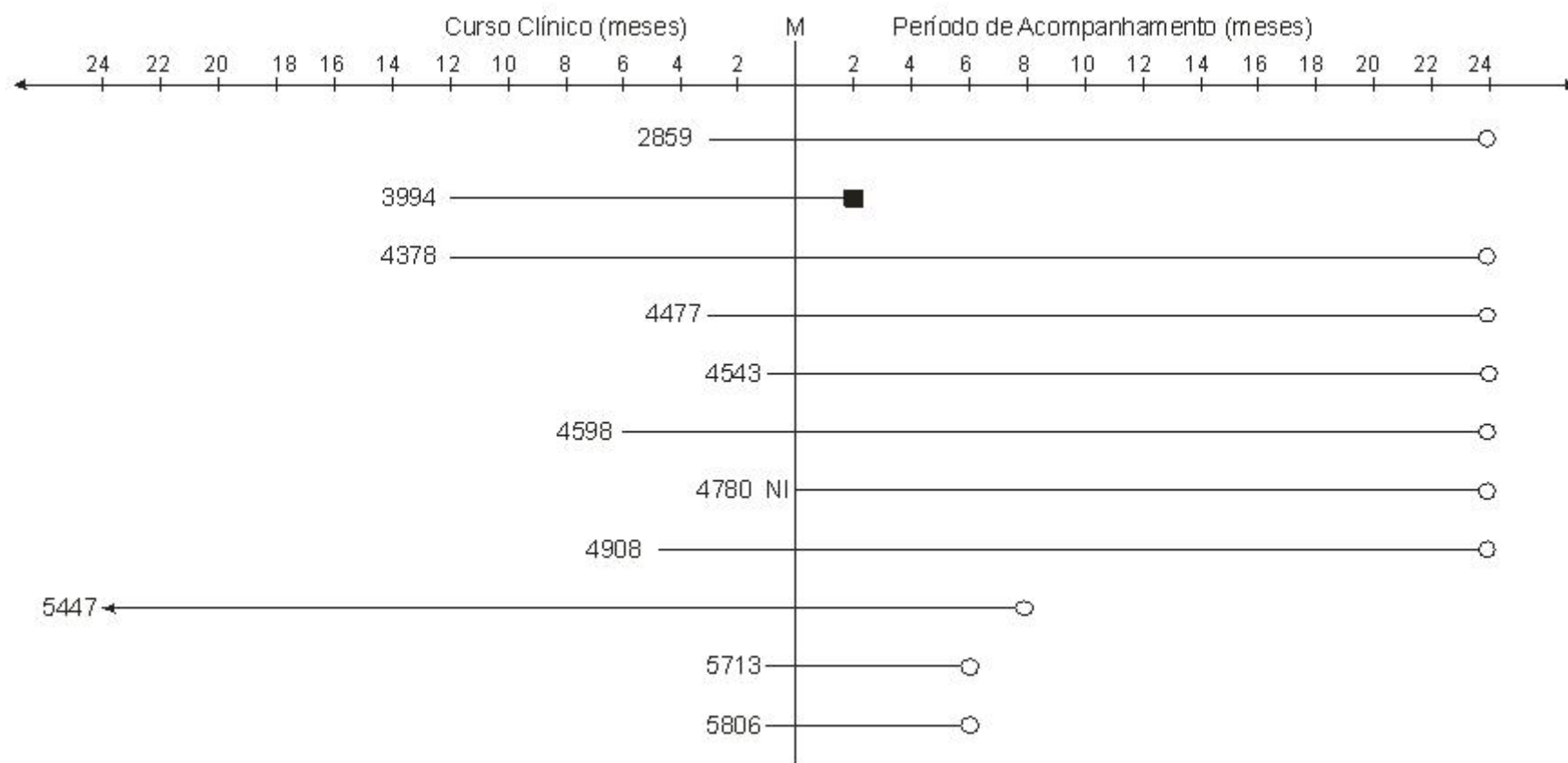


Figura 9 – Gráfico demonstrativo do curso clínico, período de acompanhamento e sobrevivência pós-mastectomia de 11 cadelas portadoras de carcinoma em tumor misto benigno. Símbolos: ○ animais vivos; ■ óbitos por causas diversas. Legendas: M= mastectomia; NI= não informado. Os números localizados na extremidade esquerda das linhas horizontais correspondem ao número dos protocolos no LRD/UFPel (anexo).

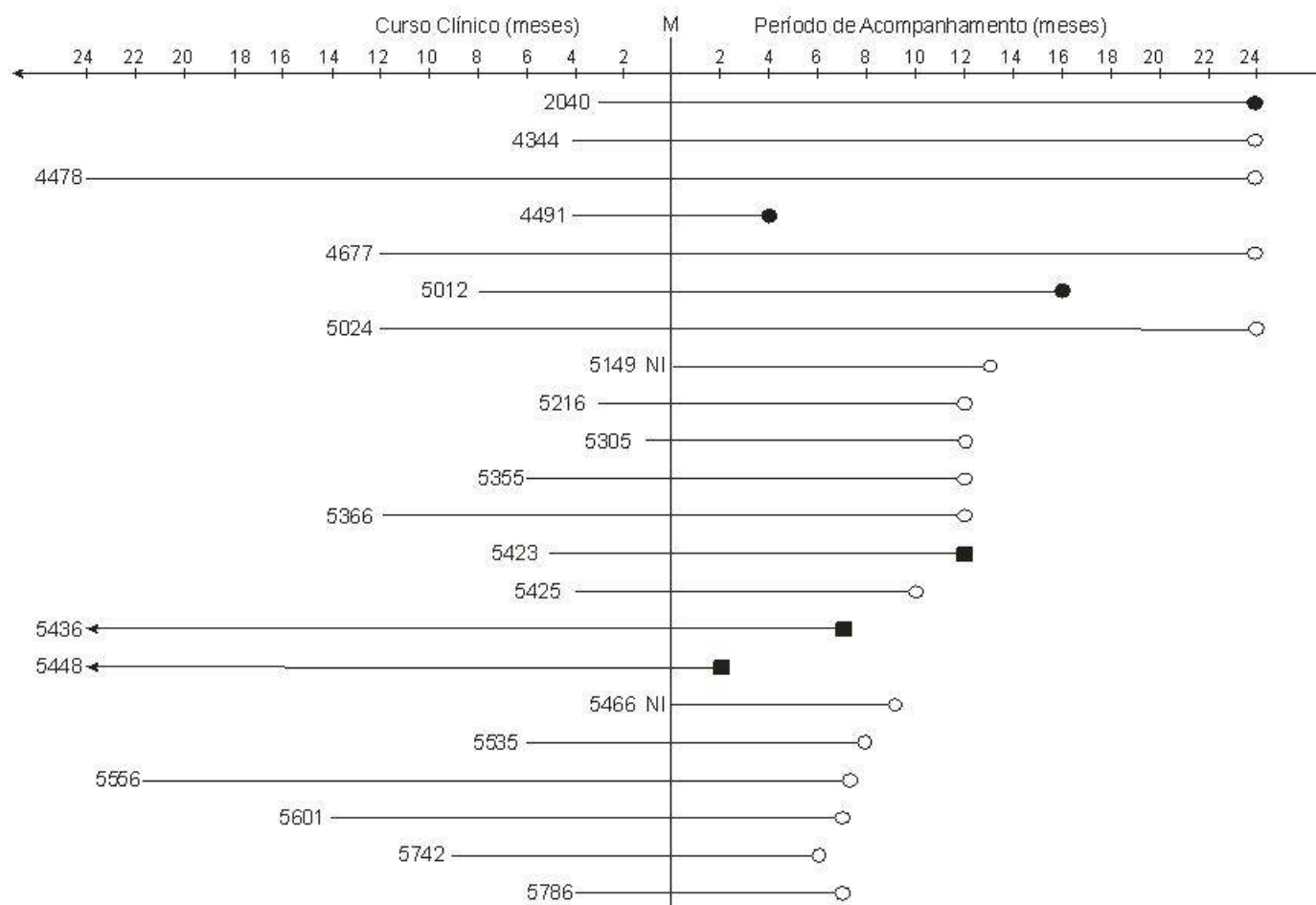


Figura 10 – Gráfico demonstrativo do curso clínico, período de acompanhamento e sobrevivência pós-mastectomia de 22 cadelas portadoras de carcinossarcoma. Símbolos: ○ animais vivos; ● óbitos decorrentes do neoplasma; ■ óbitos por causas diversas. Legenda: M= mastectomia; NI= não informado. Os números localizados na extremidade esquerda das linhas horizontais correspondem ao número dos protocolos no LRD/UFPel (anexo).

5. DISCUSSÃO

Neoplasmas mamários são os tumores que mais acometem as fêmeas caninas. Embora muitos esforços tenham sido feitos para a avaliação prognóstica dos diferentes tipos de neoplasmas mamários, observam-se ainda muitas divergências entre os diferentes autores à respeito da classificação morfológica e diagnóstico, principalmente no que se refere aos tumores mistos, dificultando a comparação de resultados de estudos de comportamento biológico.

Entende-se que através de estudos como este, basicamente retrospectivos, no qual foram colhidos dados de amostras que foram recebidas para diagnóstico, seja difícil estabelecer parâmetros epidemiológicos dos animais acometidos e até mesmo histomorfológicos dos neoplasmas. A falta de informações completas fornecidas em relação aos dados da resenha e condição clínica dos animais são fatores que prejudicam este tipo de avaliação. Adicionalmente, as conclusões obtidas em relação à frequência e prevalência devem ser interpretadas com cuidado, pois muitas vezes, a população de risco não é conhecida e nem todos os veterinários clínicos ou cirurgiões remetem para exame histopatológico os tumores provenientes de procedimentos de exérese tumoral (BRODEY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1983; ELSE; HANNANT, 1979; MacVEAN et al., 1978).

Dois grandes estudos epidemiológicos sobre tumores em cães e gatos foram realizados em medicina veterinária. O primeiro foi conduzido no ano de 1963 a 1967 (DORN et al., 1968a; DORN et al., 1968b) nos condados de Alameda e Contra Costa da Califórnia, e o outro no ano de 1978 no estado norte americano de Oklahoma (McVEAN et al., 1978). Nesses dois levantamentos, havia o conhecimento da população de cães e gatos da região geográfica em que foram realizados. No Brasil, não se tem conhecimento de trabalhos que contemplem esta abordagem (DALECK, 1996).

Dos casos avaliados neste estudo, observou-se que a média de idade das cadelas acometidas por tumores mistos foi semelhante aos resultados obtidos por outros autores, acometendo principalmente cadelas de meia idade a idosas (JABARA, 1960; MISDORP et al., 1973; PRIESTER, 1979). Embora Hellmén et al. (1993) terem afirmado que a idade avançada no momento do diagnóstico pode interferir negativamente na sobrevida destes animais, outros autores descartam esta hipótese (KURZMAN; GILBERTSON, 1986).

Na literatura existem muitas especulações em relação à predisposição de algumas raças de cadelas ao desenvolvimento de tumores mamários. Dados de países norte-americanos e europeus indicam uma predisposição maior das raças puras em relação às raças mistas (BRODEY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1983; MacVEAN et al., 1978). De uma maneira geral, embora algumas raças sejam citadas, como os Poodles, Spaniels e Daschunds, é difícil estabelecer um parâmetro, pois este tipo de avaliação epidemiológica é muito variável, visto que o tipo de estudo e a localização geográfica podem interferir fortemente nestes resultados (DORN et al., 1968a; SORENMO, 2003). No presente estudo houve uma predileção por cadelas de raça mista. Dos animais de raça pura, os mais afetados foram os da raça Cocker Spaniel, Poodle, Daschund, Rottweiler e Fila Brasileiro. Mitchell et al. (1974), em relação às raças puras, encontraram dados semelhantes, com tumores mistos acometendo principalmente cães das raças Poodle, Daschund, Pastor Alemão e Spaniels. Neste estudo houve um número maior de cães de raça mista acometidos, provavelmente por estes serem o tipo mais comumente encontrado na população canina de Pelotas. O fato de certas raças apresentarem risco elevado em relação a outras pode estar associado a um componente genético, embora uma mutação genética comum não tenha sido identificada em cadelas portadoras de neoplasmas mamários (SOENMO, 2003).

Quanto à localização dos tumores mamários, foi observada uma predileção pelas glândulas posteriores, ou seja, inguinais e abdominais. Os dados encontrados são similares aos encontrados por outros autores (MISDORP et al., 1973). A razão pela qual estas glândulas são as mais acometidas não é completamente conhecida, entretanto Moulton (1970) e Moulton, Rosenblatt e Goldman (1986) citam que isto pode estar associado ao fato destas glândulas apresentarem maior quantidade de tecido mamário e possuírem maior atividade fisiológica, tornando-as mais susceptíveis ao desenvolvimento de neoplasmas. Outros autores relataram que as

glândulas mamárias posteriores apresentam maior número de receptores hormonais, e assim teriam maior probabilidade ao desenvolvimento de neoplasias (DONAY et al.; 1995). A localização dos neoplasmas parece não influenciar o prognóstico dos neoplasmas mamários (ELSE; HANNANT, 1979; HELLMÉN et al., 1993; MISDORP; HART, 1976).

O tamanho do neoplasma tem se revelado importante fator na avaliação prognóstica de cadelas portadoras de tumores mistos (CAVACANTI; CASSALI, 2006). Estudos prévios demonstraram que os tumores mistos mamários podem apresentar grande variação, desde um até quinze centímetros de diâmetro (JABARA, 1960; MISDORP et al., 1973). No presente estudo foi observado que apenas 32,6% dos tumores avaliados apresentaram tamanho inferior a três centímetros de diâmetro e a maioria dos neoplasmas avaliados (20/45) apresentavam tempo de evolução superior à 12 meses. Oliveira et al. (2003), em estudo epidemiológico dirigido à 85 neoplasmas mamários, referiram que 34,5% apresentaram diâmetro máximo menor do que 5cm e que a maioria dos proprietários apenas buscaram atendimento após crescimento excessivo ou ulceração da lesão demonstrando que a grande maioria dos proprietários se preocupam pouco em tratar precocemente seus animais, o que lhes proporcionaria um melhor prognóstico. Yamagami et al. (1996) em trabalho realizado na região metropolitana de Tóquio, cita um predomínio de tumores menores que três centímetros de diâmetro. Estes autores associam este fato ao grande número de amostras provenientes de cães criados dentro de lares ou apartamentos, geralmente de raças pequenas ou miniaturas, que mantêm um contato maior com seus donos, facilitando o reconhecimento e identificação precoce de qualquer anormalidade na região mamária. Cabe aos veterinários um melhor esclarecimento à população de proprietários de cães sobre a importância desta doença nesta espécie e dos benefícios em proporcionar aos seus animais tratamento precoce.

Vários estudos têm demonstrado que animais portadores de neoplasmas ulcerados e aderidos a tecidos adjacentes apresentam pior prognóstico em relação àqueles portadores de tumores não ulcerados e com mobilidade sob a pele (PEREZ ALENZA et al., 1997; WITHROW; MacEWEN, 1996). Os tumores mistos mamários têm sido referidos por apresentarem na grande maioria das vezes, pouca invasividade a tecidos adjacentes e não apresentar ulceração (JABARA, 1960; MISDORP, 2002). Este padrão foi observado nos neoplasmas avaliados, onde

apenas 28,9% (11/38) apresentaram ulceração e 29,7% (11/37) aderência à pele ou tecidos adjacentes. Embora ulceração da pele represente um estado de malignidade (HELLMÉN et al., 1993; OWEN, 1966), este dado deve ser analisado com cautela, pois as lesões ulcerativas podem estar associadas a escoriações traumáticas ou lesões por pressão, dificultando a interpretação (WITHROW, 1975). No entanto, não foi possível avaliar este aspecto microscopicamente, pois na maioria dos casos os cortes histológicos não eram representativos de áreas de ulceração.

Bostock (1986) cita que algumas lesões clinicamente bem definidas podem apresentar evidência microscópica de invasão, e portanto o material excisado sempre deve ser submetido a exame histológico. No presente estudo, as amostras foram comparadas em relação à invasividade macroscópica e microscópica. Os neoplasmas benignos, clinicamente móveis, não apresentaram evidências microscópicas de invasividade, corroborando com o resultado de outros autores (MISDORP, 2002; MOULTON, 1990). Nos neoplasmas malignos foi observado que 40% (9/22) dos tumores clinicamente não aderidos apresentaram evidência microscópica de invasividade, enquanto que 62,5% (5/8) dos tumores classificados macroscopicamente como invasivos não apresentaram características microscópicas de invasividade. Este último resultado pode ter ocorrido pois, em muitos casos, utilizaram-se cortes histológicos resgatados de arquivos do serviço de patologia e nem sempre eram representativos da totalidade do tumor. Isso deve ser considerado, visto o alto grau de heterogeneidade dos neoplasmas mamários (MISDORP, 2002). Existe ainda a possibilidade de que dados incorretos ou duvidosos tenham sido fornecidos pelo clínico.

No presente estudo, houve um grande contraponto na classificação histológica dos tumores mistos quando comparados a estudos desenvolvidos em países da Europa e da América do Norte (MISDORP, 2002; MOULTON, 1990; PRIESTER, 1979). Houve o predomínio de tumores malignos em relação aos benignos (3,8%), sendo que 30,2% e 66% foram classificados como carcinomas em tumores mistos benignos e carcinossarcomas, respectivamente. Entretanto, frente aos poucos estudos da casuística nacional, os resultados obtidos foram semelhantes (DeNARDI et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003), embora nestes trabalhos não há classificação destes dois subtipos malignos, sendo caracterizados genericamente como tumor misto maligno. Apesar da existência de um sistema internacional de classificação (MISDORP et al., 1999), existem diferenças nos critérios adotados

entre as várias instituições e mesmo entre os patologistas. Além disso, vale ressaltar que estes resultados são baseados no número de amostras que chegam para diagnóstico e talvez não representem a verdadeira casuística, visto que nem todos médicos veterinários enviam as amostras para exame histopatológico. Neste sentido, observa-se a necessidade da conscientização dos profissionais sobre a importância da avaliação histopatológica de todo e qualquer nódulo mamário retirado cirurgicamente, contribuindo não só para o diagnóstico e prognóstico, mas auxiliando as estatísticas da verdadeira casuística nacional.

Em patologia, outros problemas podem ser encontrados em relação ao diagnóstico e classificação histológica dos neoplasmas mamários. Em aproximadamente metade dos casos, há o envolvimento de múltiplas glândulas, onde diferentes tipos histológicos podem ser observados. Neste estudo, esta condição foi observada em alguns casos. Muitas vezes, os tumores são muito grandes, o que impossibilita seu envio inteiro ao serviço de patologia, para a avaliação histopatológica. O envio de fragmentos e avaliação de apenas algumas secções do tumor são fatores que contribuem para omissão de áreas de malignidade. O envio de amostras não representativas, amostras mal fixadas e/ou com alterações degenerativas ou necrose, também são fatores que devem ser levados em consideração (BRODEY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1983).

Para minimizar erros diagnósticos, foram adotados critérios histológicos que caracterizassem a amostra quanto ao seu aspecto benigno ou maligno. Para tanto, os componentes epitelial e mesenquimal foram cuidadosamente examinados, permitindo uma avaliação qualitativa e quantitativa. Quando da avaliação do componente mesenquimal cartilaginoso, o mais prevalente nas amostras, os critérios adotados foram semelhantes àqueles utilizados na avaliação de condromas e condrossarcomas.

Em relação à quantificação morfológica e graduação do componente carcinomatoso dos carcinomas em tumores mistos benignos e carcinossarcomas, apesar da adoção das mesmas características utilizadas no esquema de graduação histológica de carcinomas mamários de cadelas, o presente estudo teve como objetivo comparar estes dois subtipos em relação às características epiteliais, visto que este esquema não é aplicável à carcinossarcomas (MISDORP, 2002). Foi observado que os dois subtipos apresentaram padrão de distribuição semelhantes com predomínio de neoplasmas de grau I e II. Na avaliação do componente

mesenquimal, foi observado que os carcinossarcomas apresentaram maior número de escores 2 e 3 em todas características avaliadas. Frente à dificuldade dos patologistas em caracterizar o grau de malignidade do componente mesenquimal dos tumores mistos mamários, talvez houvesse a necessidade da adoção de critérios únicos, promovendo diagnósticos e conseqüentemente prognósticos mais confiáveis.

Neste trabalho, apesar do enfoque não estar centrado especificamente na histogênese dos tumores mistos, foi imprescindível a sua compreensão para que houvesse coerência no estabelecimento do diagnóstico histopatológico. Alguns autores propuseram um esquema onde tumores mistos benignos podem se originar de um adenoma complexo ou ainda de uma lesão hiperplásica lobular (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999). Entretanto, não está claro se o carcinossarcoma se origina de um carcinoma ou sarcoma pré-existente ou se origina *de novo*. Este mesmo fato parece acontecer com o carcinoma em tumor misto benigno em relação ao carcinoma complexo e tumor misto benigno (BENJAMIN; LEE; SAUNDERS, 1999; MISDORP, 2002). Outros autores observaram que tumores mistos de cadelas diagnosticados histologicamente como benignos podem tornar-se malignos. Esta transformação para malignidade pode estar intimamente relacionada ao tempo de evolução tumoral (MOULTON, 1970).

Sete amostras anteriormente classificadas como tumores mistos não foram incluídas neste estudo por não apresentarem formação cartilaginosa evidente, embora houvesse proliferação mioepitelial com produção de matriz extracelular, sugerindo transformação para tecido cartilaginoso. Tumores mistos apresentam muitas similaridades com tumores complexos (MISDORP, 2002; MISDORP et al., 1973). Misdorp et al. (1973), em estudo dirigido a carcinossarcomas citou que sua diferenciação de carcinoma complexo e carcinoma ou sarcoma em tumor misto benigno é algumas vezes difícil e arbitrária. Benjamin, Lee e Saunders (1999) sugerem que o tumor misto benigno pode se originar de um adenoma complexo e Misdorp (2002) cita que a diferenciação entre estes dois tipos é baseada na presença ou na ausência de tecido cartilaginoso ou ósseo distinto. Carcinomas complexos podem apresentar áreas de acúmulo de substância mucóide intercelular que devem ser diferenciadas da cartilagem encontrada em carcinossarcomas (MISDORP, 2002). Atualmente, estudos imuno-histoquímicos evidenciam forte papel do mioepitélio na formação de cartilagem dos tumores mistos e talvez expliquem

alguma associação destes tumores aos tumores complexos (ARAI et al., 2003; DESTEXHE et al., 1993; ESPINOSA DE LOS MONTEROS et al., 2002).

Misdorp (2002) define que os carcinomas ou sarcomas em tumores mistos são caracterizados pelo desenvolvimento focal ou nodular de malignidade em associação com um tumor misto benigno primário. Neste estudo, na maioria dos casos avaliados houve dificuldade em encontrar áreas contendo componente epitelial benigno e muitas vezes o tecido epitelial maligno foi predominante sobre o benigno. Misdorp (2002) citou que a distinção entre tumor benigno e sua contraparte maligna é difícil, pois o componente maligno pode ter substituído completamente o componente benigno. Esta dificuldade também tem sido relatada no diagnóstico de carcinomas ex-adenomas pleomórficos da glândula salivar humana. Segundo Lewis, Olsen e Sebo (2001) há uma dificuldade em determinar se o tumor primário era benigno ou se o carcinoma já existia e não havia sido detectado. Moulton et al. (1970), observaram que tumores mistos de cadelas diagnosticados histologicamente como benignos podem tornar-se malignos. Esta transformação para malignidade foi referida por estar intimamente relacionada ao tempo de evolução tumoral e ao número de recorrências.

Nos 4 animais necropsiados, foram observados vários sítios metastáticos. Os pulmões foram acometidos em três casos e o cérebro em dois casos. Os neoplasmas mamários destes animais foram classificados histologicamente como carcinossarcomas. Em um dos casos, foram observados nódulos metastáticos pulmonares do tipo misto. Moulton (1970) cita que geralmente os nódulos metastáticos são do tipo epitelial, sendo o tipo misto de rara ocorrência. Dois dos animais apresentaram lesões metastáticas epiteliais concomitantemente nos pulmões e no cérebro. Adicionalmente foram observadas lesões metastáticas nos linfonodos, rins, pleura, diafragma, costelas e adrenais, como descrito por outros autores (FIDLER; BRODEY, 1967; MISDORP et al., 1973).

A cirurgia é considerada o tratamento de escolha para neoplasmas mamários e o tipo de procedimento dependerá da extensão da doença. Para tanto, para avaliar a eficácia do procedimento, utiliza-se das técnicas de identificação de margens cirúrgicas. Das amostras avaliadas, a maioria apresentou margens livres de células neoplásicas e em apenas um caso houve recidiva decorrente de margem comprometida. Estes resultados podem estar relacionados ao predomínio de mastectomias sobre a nodulectomia, a qual geralmente está indicada para excisão

de nódulos pequenos, superficiais, firmes e móveis (WITHROW; MacEWEN, 1996). Entretanto existe a possibilidade de pequenos nódulos com características macroscópicas de benignidade serem classificados microscopicamente como malignos e invasivos, possibilitando a ocorrência de recidivas e metástases (MENDES et al., 2005; MISDORP et al., 1973; SORENMO, 2003). Alguns autores descrevem que a meta do procedimento adotado é a remoção do tumor por um procedimento simples, mas não significa que a ressecção incompleta seja aceitável (ALLEN; MAHAFFEY, 1989; MISDORP; HART, 1979b). Os resultados obtidos também podem estar associados ao fato dos tumores mistos serem geralmente bem encapsulados e não aderidos, diferentemente de neoplasmas invasivos que apresentam delimitação macroscópica duvidosa.

Nos animais acompanhados por um período de dois anos pós-mastectomia, foi observado um número maior de mortes por metástases em cadelas portadoras de carcinossarcomas. Em cadelas portadoras de carcinoma em tumor misto benigno (n=8) foi observada apenas uma morte, mas de causa indeterminada. Karayannopoulou et al. (2005) graduaram 18 carcinomas em tumores mistos benignos e observaram que nenhum dos animais morreu num período de dois anos pós mastectomia. Benjamin, Lee e Saunders (1999) alertam para a importância de uma nova classificação para os chamados “tumores mistos malignos”, enfatizando a necessidade de separar estes dois subtipos, tanto por razões diagnósticas como prognósticas. Os mesmos autores relatam uma taxa metastática de 100% para os carcinossarcomas e 34% para os carcinomas em tumor misto benigno, durante um período de acompanhamento de dois anos pós-mastectomia. No presente estudo, dos 10 animais portadores de carcinossarcomas acompanhados durante período de dois anos pós-mastectomia, foi observado uma mortalidade de 60%, entretanto, em apenas 3 (30%) casos foi confirmada morte em decorrência do neoplasma por metástases. Misdorp (2002) relata haver pouca informação prognóstica em relação a carcinomas ou sarcomas em tumores mistos benignos.

Em relação à contagem AgNOR/núcleo, quando da comparação das médias obtidas do grupo de amostras dos diferentes tipos histológicos, foi observado no presente estudo que os tumores malignos, carcinoma em tumor misto benigno e carcinossarcoma, apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação aos tumores mistos benignos, embora deva ser levado em consideração um número pequeno (n=2) de amostras do tipo benigno. Este resultado foi possível quando

avaliadas as médias obtidas de ambos os observadores, ressaltando a importância da análise comparada. As médias dos grupos de tumores malignos, apresentaram uma amplitude muito grande quando avaliados individualmente. Bostock, Moriart e Crocker (1992), em estudo dirigido a tumores mamários caninos, observaram que a média de contagem AgNOR/núcleo dos grupos de tumores malignos foi maior em relação aos benignos, embora neste estudo não tenham sido incluídos tumores mistos do tipo maligno. Adicionalmente, estes mesmos autores também relatam a ocorrência de grandes amplitudes, porém, observaram que o grupo de animais portadores de carcinoma tubulopapilar e sólido com altas contagens AgNOR/núcleo obtiveram taxas elevadas de morte em decorrência do tumor no primeiro ano pós cirúrgico. Neste estudo, seis animais morreram ou foram eutanasiados em decorrência de metástases de carcinossarcomas confirmados através de exame histopatológico, sendo que três destes foram submetidos a procedimento de mastectomia e acompanhados até sua morte. Destes seis animais, cinco apresentaram amostras com contagem AgNOR/núcleo superior à média do grupo do tipo histológico do qual foram acometidos. Isto foi evidenciado por ambos observadores (Apêndice).

Destexhe, Vanmanshoven e Coignoul (1995) também encontraram diferenças significativas das médias AgNOR/núcleo entre os grupos de tumores mamários malignos e benignos, porém não observaram diferenças quando compararam diferentes tipos histológicos dentro destes grupos. No presente estudo, não foi observada diferença estatística das médias de contagem entre carcinomas em tumor misto benigno e carcinossarcomas, entretanto, vale ressaltar que apenas o componente carcinomatoso destes tumores foi considerado para quantificação AgNOR/núcleo.

Em relação à técnica de contagem de AgNORs, alguns autores tem relatado a superioridade da avaliação por imagem computadorizada em relação ao método de contagem direta à microscopia óptica (DESTEXHE; VANMANSHOVEN, COIGNOUL, 1995; LÖHR et al., 1997). Destexhe, Vanmanshoven e Coignoul (1995) citam que a contagem direta de NORs é tediosa e apresenta um alto risco de variações causadas por condições de observação. Crocker, Boldy e Egan (1989) entendem que a contagem direta por ser um método mais acurado e ressaltam que a análise por imagem computadorizada não teria habilidade para considerar NORs muito pequenas ou discretas. No presente estudo foi realizado o método de

contagem direta. Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias obtidas nos diferentes tipos histológicos quando comparadas entre os dois observadores, em acordo com os princípios de Bostock, Moriart e Crocker (1992). Estes consideram que a contagem direta pode apresentar excelente reprodutibilidade quando são levados em consideração fatores como erros de observação, variabilidade morfológica das amostras e/ou na preparação das lâminas. Em medicina veterinária, ainda são poucos os trabalhos publicados em relação ao emprego desta técnica em tumores mamários de cadelas, sendo que algumas discrepâncias entre diferentes autores tem sido observadas em relação às médias AgNOR/núcleo. Para tanto, inúmeros esforços tem sido realizados na padronização da técnica para que sua utilização se torne um parâmetro prognóstico fidedigno (LÖHR et al., 1997).

6. CONCLUSÕES

1) De modo geral os tumores mistos mamários acometeram animais com média de idade de 9,5 anos e não houve predisposição racial. As glândulas inguinais foram as mais afetadas e a maioria dos neoplasmas apresentaram-se maiores que 5 centímetros, sem aderência e ulceração e com evolução clínica longa.

2) As características microscópicas avaliadas, principalmente aquelas referentes aos componentes mesenquimais, mostraram-se úteis na classificação histológica dos diferentes tipos histológicos de tumores mistos, possibilitando a sua utilização como critério diagnóstico padrão.

3) Animais que morreram em decorrência de metástases apresentaram médias AgNOR/núcleo superiores a média do grupo do tipo histológico que foram acometidos.

4) As médias AgNOR/núcleo dos tumores malignos tiveram diferença estatística significativa em relação aos benignos quando avaliadas em grupo, demonstrando que a técnica de AgNOR foi eficiente como indicador prognóstico.

5) No grupo dos tumores mistos malignos, não houve diferença estatística significativa entre as médias AgNOR/núcleo dos carcinossarcomas em relação aos carcinomas em tumor misto benigno.

6) Maior número de mortes por metástases foi observado no grupo de cadelas acometidas por carcinossarcomas quando comparados com o grupo de animais acometidos por carcinomas em tumor misto benigno.

Referências

ABURTO, F.E.; CHAVES, M.L.; DEBUÉN, A.N.; TRIGO, T.F.; REYNAGAS, O.J.; ROSALES, M.L.M. Histogénesis de los tumores mixtos de glándula mamaria canina. **Veterinaria México**, v.28 (4), p.317-324, 1997.

ALLEN, T.C. Hematoxilin and eosin. In: PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology – Armed Forces Institute of Pathology**, p.53-57, 1994.

ALLEN, S.W.; MAHAFFEY, E.A. Canine mammary neoplasia: prognostic indicators and response to surgical therapy. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.25, p.540-546, 1989.

ARAI, K.; UEHARA, K.; NAGAI, Y. Expression of type II and type XI collagens in canine mammary mixed tumors and demonstration of collagen production by tumor cells in collagen gel culture. **Japanese Journal of Cancer Research**, v.80, p.840-847, 1989.

ARAI, K.; NAKANO, H.; SHIBUTANI, M.; NAOI, M.; MATSUDA, H. Expression of class II beta-tubulin by proliferative myoepithelial cells in canine mammary mixed tumors. **Veterinary Pathology**, v.40, p.670-676, 2003.

BARWIJUK-MACHATA, M.; MUSIATOWICZ, B.; CYLWIK, J.; RESZEC, J.; AUGUSTYNOWICZ, A. AgNOR, Ki-67 and PCNA expression in fibroepithelial tumors of the breast in correlation with morphological features. **Folia Morphol.**, v.63, n.1, p.133-135, 2004.

BATSAKIS, J.G. et al. The pathology of head and neck tumors: the myoepithelial cell and its participation in salivary gland neoplasia, part 17, **Head & Neck Surgery**, v.5, p.222-223, 1983.

BENJAMIN, S.A.; LEE, A.C.; SAUNDERS, W.J. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles. **Veterinary Pathology**, v.36, p.423-436, 1999.

BERTAGNOLI, A.C. Expressão de p63 e p53 em tumores mamários mistos de cadelas. 2006. 59f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,.

BOSTOCK, D.E. The prognosis following the surgical excision of canine mammary neoplasms. **Europe Journal Cancer**, v.11, p.389-396, 1975.

BOSTOCK, D.E. Canine and feline mammary neoplasms. **British Veterinary Journal**, v. 142, p.506-515, 1986.

BOSTOCK, D.E.; MORIARTY, J.; CROCKER, J. Correlation between histologic diagnosis mean nucleolar organizer region count and prognosis in canine mammary tumors. **Veterinary Pathology**, v.29, p.381-385, 1992.

BRODEY, R.S.; FIDLER, I.J.; HOWSON, A.E. The relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy and pregnancy to the development of canine mammary neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 149, 15, p. 1047-1049, 1966.

BRODEY, R.S.; GOLDSCHMIDT, M.H.; ROSZEL, J.R. Canine mammary gland neoplasms. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.19, p.61-90, 1983.

BRONSON, R.T. Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. **American Journal of Veterinary Research**, v.43, n.11, p.2057-2059, 1982.

CASSALI, G.D., Estudo morfológico, imuno-histoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – Aspectos comparativos com neoplasias da mama humana. 2000. 80f. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas – revisão. **Clínica Veterinária**, n.61, p.56-64, 2006.

CECCARELLI, C.; TRERÈ, D.; SANTINI, D.; TAFFURELLI, M.; CHIECO, P.; DERENZINI, M. AgNORs in breast tumors. **Micron**, v.31, p.143-149, 2000.

CROCKER, J.; BOLDY, D.A.R.; EGAN, M.J. How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. **Journal of Pathology**, v.158, p.185-188, 1989.

DALECK, C.R. Tumor mamário canino. **Clínica Veterinária**, v.1, n.2, p.12-14, 1996.

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

DERENZINI, M. The AgNORs. **Micron**, v.31, p.117-120, 2000.

DERENZINI, M.; TRERÈ, D.; PESSION, A.; GOVONI, M.; SIRRI, V.; CHIECO, P. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissues. **Journal of Pathology**, v.191, p.181-186, 2000.

DERNELL, W.S.; WITHROW, S.J. Preoperative patient planning and margin evaluation. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.13, n.1, p.17-21, 1998.

DESTEXHE, E.; LESPAGNERD, L.; DEGEYTER, M.; HEYMANN, R.; COIGNOUL, F. Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial and connective tissue cells in canine mammary tumors. **Veterinary Pathology**, v.30, p.146-154, 1993.

DESTEXHE, E.; VANMANSHOVEN, P.; COIGNOUL, F. Comparison of argiophilic nucleolar organizer regions by counting and image analysis in canine mammary tumors. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, n.2, 1995.

DIAS, M.F. Estudo da aplicabilidade de critérios morfológicos e morfométricos para a graduação de mastocitomas caninos. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DONAY, I.; RAUIS, J.; DEVLEESCHOUER, N.; WOUTERS-BALLMAN, P.; LECLECQ, G.; VERSTEGEN, J. Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mammary tissues from dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.1188-1194, 1995.

DORN, C.R.; TAYLOR, D.O.N.; FRYE, F.L.; HIBBARD, H.H. Survey of animal neoplasmas in Alameda and Contra Costa Counties, California. I. Methodology and description of cases. **Journal of the National Cancer Institute**, v.40, n.2, p.295-305, 1968.

DORN, C. R.; TAYLOR, D.O.N.; SCHNEIDER, R. HIBBARD, H.H.; KLAUBER, M.R. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II.

Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. **Journal of the National Cancer Institute**. v.40, p.307-318, 1968.

ELLIS, I.O.; GALEA, M.; BROUGHTON, N.; LOCKER, A.; BLAMEY, R.W.; ELSTON, C.W. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v.20, p.479-489, 1992.

ELSTON, C.W.; ELLIS, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v.19, p.403-410, 1991.

ELSE, R.W.; HANNANT, D. Some epidemiological aspects of mammary neoplasia in the bitch. **Veterinary Record**, v.104, p.296-304, 1979.

ERICHSEN, S. A histochemical study on mixed tumors of the canine mammary gland. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v.36, p.490-502, 1955.

ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A.; MILLÁN, M.Y.; ORDÁS, J.; CARRASCO, L.; REYMUNDO, C.; MARTÍN DE LAS MULAS, J. Immunolocalization of the smooth muscle-specific protein calponin in complex and mixed tumors of the mammary gland of the dog: assessment of the morphogenetic role of the myoepithelium. **Veterinary Pathology**, v.39, p.247-256, 2002.

FIDLER, I. J.; ABT, D.A.; BRODEY, R.S. The biological behavior of canine mammary neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.151, n.10, nov., 1967.

FIDLER, I.J.; BRODEY, R.S. A necropsy study of canine malignant mammary neoplasms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.151, n.6, p.710-715, 1967.

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

FOOTE, F.W.J.; FRAZEL, E.L. Tumors of the major salivary glands. **Cancer**, v.6, n.6, p.1065-3, 1953.

FOWLER, E.H.; WILSON, G.P.; KOESTNER, A. Biologic behavior of canine mammary neoplasms based on a histogenetic classification. **Veterinary Pathology**, v.11, p.212-229, 1974.

GENELHU, M. C.L.S.; GOBBI, H.; SOARES, F.A.; CAMPOS, A.J.H.F.M.; RIBEIRO, C.A.; CASSALI, G.D. Immunohistochemical expression of p63 in pleomorphic adenomas and carcinomas ex-pleomorphic adenomas of salivary glands. **Oral Oncology**, v.42, n.2, p.154-160, 2006.

GIRALDO, G.E.; ARANZAZU, D.A.; RODRIGUEZ, B.J.; PÉREZ, M.M.; RAMÍREZ, M.C. Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares coloreadas con plata (AgNORs) en tumores cutáneos caninos. **Rev. Col. Cienc. Pec.**, v.16, p.132-138, 2003.

HAMPE, J.F.; MISDORP, W. Tumours and dysplasias of the mammary gland. **Bulletin of the World Health Organization**, v.50, p.111-133, 1974.

HELLMÉN, E.; BERGSTRÖM, R.; HOLMBERG, L.; SPANBERG, I.B.; HANSSON, K. LINDGREN, A. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. **Veterinary Pathology**, v.30, p.20-27, 1993.

HELLMÉN, E.; LINDGREN, A. The expression of intermediate filaments in canine mammary glands and their tumors. **Veterinary Pathology**, v.26, p.420-428, 1989.

HELLMÉN, E.; MOLLER, M.; BLANKESTEIN, M.A.; ANDERSON, L.; WESTERMARK, B. Expression of different phenotypes in cell lines from canine mammary spindle-cell tumours and osteosarcomas indicating a pluripotent mammary stem cell origin. **Breast Cancer Research and Treatment**, v.61, p.197-210, 2000.

JABARA, A.G. Canine mixed tumours. **Australian Veterinary Journal**, v.36, p.212-221, 1960.

KARAYANNOPOULOU, M.; KALDRYMIDOU, E.; CONSTANTINIDIS, T.C.; DESSIRIS, A. Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. **Journal of Comparative Pathology**, v.133, p.246-252, 2005.

KRAVIS, L. D.; VAIL, D. M.; KISSEBERTH, W. C.; OGILVIE, G. K.; VOLK, L. M. Frequency of argyrophilic nucleolar organizer regions in fine-needle aspirates and

biopsy specimens from mast cell tumors in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, p.1418–1420, 1996.

KURZMAN, I.D.; GILBERTSON, S.D. Prognostic factors in canine mammary tumors. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.1, p.25-32, 1986.
LAKHANI, S.R.; O'HARE, M.J. The mammary myoepithelial cell-cinderela or ugly sister? **Breast Cancer Research**, v.3, p.1-4, 2000.

LEWIS, J.E.; OLSEN, K.D.; SEBO, T.J. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: pathologic analysis of 73 cases. **Human Pathology**, v.32, n.6, p.596-604, 2001.

LINDNER, L.E. Improvements in the silver-staining technique for nucleolar organizer regions (AgNOR). **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v.41, n.3, p.439-445, 1993.

LÖHR, C.V.; TEIFKE, J.P.; FAILING, K.; WEISS, E. Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. **Veterinary Pathology**, v.34, p.212-221, 1997.

MacVEAN, D.W.; MONLUX, A.W.; ANDERSON, P.S; SILBERG, S.L.; ROSZEL, J.F. Frequency of canine and feline tumors in a defined population. **Veterinary Pathology**, v.15, p.700-715, 1978.

MARTÍN DE LAS MULAS, J.; MILLÁN, Y.; DIOS, R. A prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor alpha and progesterone receptor expression and host and tumors factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. **Veterinary Pathology**, v.42, p.200-212, 2005.

MENDES, T.C. Avaliação comparativa de dois sistemas de classificação histológica e da validade da quantificação da AgNOR para adenomas e carcinomas mamários caninos. 2006. 73f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MENDES, T.C.; PEREIRA, G.M.; DIAS, M.F.; SCUSSEL, M.L.; TILLMANN, M.T.; PEREIRA, A.H.T.; CARAPETO, L.P.; BONEL-RAPOSO, J.; GEVEHR-FERNANDES, C. Caso ilustrativo do desafio clínico-patológico representado pelos tumores mamários caninos. **Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica e VI Encontro de Pós Graduação da UFPel**, 2005.

MIALOT, J.P. Pathologie de la mammele. In: **Pathologie de la reproduction chez les carnivores domestiques**. Maisons-Alfort; Éditions du Point Vétérinaire, p.147-158, 1984.

MITCHELL, L.; de la IGLESIA, F.A.; WENKOFF, M.S.; Van DREUEMEL; LUMB, G. Mammary tumors in dogs: survey of clinical and pathological characteristics. **The Canadian Veterinary Journal**, v.15, n.5, p.131-138, 1974.

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

MISDORP, W.; COTCHIN, E.; HAMPE, J.F.; JABARA, A.G.; VON SANDERSLEBEN, J. Canine malignant mammary tumors. I. Sarcomas. **Veterinary Pathology**, v.8, p.99-117, 1971.

MISDORP, W.; COTCHIN, E.; HAMPE, J.F.; JABARA, A.G.; VON SANDERSLEBEN, J. Canine malignant mammary tumors. II. Adenocarcinomas, solid carcinomas and spindle cell carcinomas. **Veterinary Pathology**, v.9, p.447-470, 1972.

MISDORP, W.; COTCHIN, E.; HAMPE, J.F.; JABARA, A.G.; VON SANDERSLEBEN, J. Canine malignant mammary tumors. III. Special types of carcinomas, malignant mixed tumors. **Veterinary Pathology**, v.10, p.241-256, 1973.

MISDORP, W.; ELSE, R.W.; HELLMÉN, E.; LIPSCOMB, T.P. Histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: **Armed Forces of Pathology**, 1999, 58p.

MISDORP, W.; HART, A.A.M. Prognostic factors in canine mammary cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v.56, n.4, p.779-786, 1976.

MISDORP, W.; HART, A.A.M. Canine mammary cancer. I. Prognosis. **Journal of Small Animal Practice**, v.20, n.7, p.395-404, 1979.

MISDORP, W.; HART, A.A.M. Canine mammary cancer. II. Therapy and causes of death. **Journal of Small Animal Practice**, v.20, n.7, p.395-404, 1979.

MORRIS, J.S.; DOBSON, J.M.; BOSTOCK, D.E.; O'FARRELL, E. Effect of ovariectomy in bitches with mammary neoplasms. **Veterinary Record**, v.142, p.656-658, 1998.

MONLUX, A.W.; ROSZEL, J.F.; MacVEAN, D.W.; PALMER, T.W. Classification of epithelial mammary tumors in a defined population. **Veterinary Pathology**, v.14, p.194-217, 1977.

MOULTON; J.E. Histological classification of the canine mammary tumours: study of 107 cases. **Cornell Veterinarian**, v.44, p.168-180, 1954.

MOULTON, J.E. Tumors of the mammary gland. In: **Tumors in domestic animals**. California: California Press, 3rd ed., 1990, p.518-552.

MOULTON, J.E.; ROSENBLATT, L.S.; GOLDMAN, M. Mammary tumors in a colony of beagle dogs. **Veterinary Pathology**, v.23, p.741-749, 1986.

MOULTON, J.E.; TAYLOR, D.O.N.; DORN, C.R.; ANDERSEN, A.C. Canine mammary tumors. **Pathologia Veterinaria**, v.7, p.289-320, 1970.

OLIVEIRA, L.O.; OLIVEIRA, R.T.; LORETTI, A.P.; RODRIGUES, R.; DRIEMEIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31(2), p.105-110, 2003.

OWEN, L.N. Mammary neoplasia in the dog and cat – III. Prognosis and treatment of mammary tumors in the bitch. **Journal of the Small Animal Practice**, v.7, p.703-710, 1966.

PALMER, T.E.; MONLUX, A.N. Acid mucopolysaccharides in mammary tumors of dogs. **Veterinary Pathology**, v.16, p.493-509, 1979.

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

PEREZ ALENZA, M.D.; PEÑA, L.; NIETO, A.I.; CASTAÑO, M. Clinical and pathological prognostic factors in canine mammary tumors. **Annali dell Istituto Superiore di Sanita**, v.33, n.4, p.581-585, 1997.

PEREZ ALENZA, D.; RUTTEMAN, G.R.; PEÑA, L.; BEYNEN, A.C.; CUESTA, P. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case control study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.12, p.132-139, 1998.

PICH, A.; CHIUSA, L.; MARGARIA, E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. **Micron**, v.31, p.133-141, 2000.

POOL, R.R. Tumors of bone and cartilage. In: MOULTON, J.E. **Tumors in domestic animals**. California: California Press, 3rd ed., 1990, p.157-230.

PRIESTER, W.A. Occurrence of mammary neoplasms in bitches in relation to breed, age, tumor type and geographical region from which reported. **Journal of Small Animal Practice**, v.20, p.1-11, 1979.

PULLEY, L.T. Ultrastructural and histochemical demonstration of mioepithelium in mixed tumors of the canine mammary gland. **American Journal of Veterinary Research**, v.34, n.12, p.1513-1522, 1973.

QUEIROGA, F.; LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.97, p.2119-2127, 2002.

RAMALHO, L.N.Z.; RIBEIRO-SILVA, A.; CASSALI, G.D; ZUCOLOTO The expression of p63 and citokeratin 5 in mixed tumors of the canine mammary gland provides new insights into the histogenesis of the neoplasms. **Veterinary Pathology**, v.43, p.424-429, 2006.

ROCHAT, M.C.; MANN, F.A.; PACE, L.W.; HENDERSON, R.A. Identification of surgical biopsy borders by use of India ink. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.201, n.6, p.873-878, 1992.

SILVA, A.E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio dependentes. **Ciência Rural**, v.34, n.2, 2004.

SILVER, I.A. Symposium on mammary neoplasia in the dog – I. The anatomy of the mammary gland of the dog and cat. **Journal of the Small Animal Practice**, v.7, p.689-696, 1966.

SIMÕES, J.P.C.; SHCONING, P.; BUTINE, M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. **Veterinary Pathology**, v.31, p.637-647, 1994.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumours. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v.33, p.573-596, 2003.

TATEYAMA, S.; COTCHIN, E. Alkaline phosphatase reaction of canine mammary mixed tumors: a light and electron microscopic study. **Research in Veterinary Science**, v.23, p.356-364, 1977.

TATEYAMA, S.; COTCHIN, E. Electron microscopic observations on canine mixed mammary tumors, with special reference to cytoplasmatic filamentous components. **American Journal Veterinary Research**, v.39, n.9, p.1494-1501, 1978.

TATEYAMA, S.; UCHIDA, K.; HIDAKA, T.; HIRAO, M.; YAMAGUCHI, R. Expression of bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumors. **Veterinary Pathology**, v.38, p.703-709, 2001.

TORTOLEDO, M.E.; LUNA, M.A.; BATSAKIS, J.G. Carcinomas ex pleomorphic adenoma and malignant mixed tumours. **Archives of Otolaryngology**, v.110, p.172-176, 1984.

TRERÈ, D. AgNOR staining and quantification. **Micron**, v.31, p.127-131, 2000.

WITHROW, S.J. The prognosis following the surgical excision of canine mammary neoplasms. **Europe Journal of Cancer**, v.11, p.389-396, 1975.

WITHROW, S.J.; MacEWEN, E.G. Tumors of the mammary gland. In: **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2nd ed., 1996, p.356-372.

YAMAGAMI, T.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI, K.; SUGIYAMA, M. Prognosis for canine mammary tumors based on TNM and histologic classification. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.58(11), p.1079-1083, 1996.

Anexo

Método de AgNOR

Soluções:

Nitrato de prata 50%

Nitrato de prata....50 g

Água deionizada..100 ml

Solução de gelatina

Gelatina.....2 g

Ácido fórmico.....1 ml

Água deionizada.....100 ml

Misturar primeiro o ácido fórmico e após a gelatina.

Solução de trabalho

Nitrato de prata.....8 ml (2 partes)

Solução de gelatina..4 ml (1 parte)

usar 12 ml de Nitrato de Prata e 6 ml de gelatina.

Misture a solução acima imediatamente antes do uso. O volume da solução de trabalho usada depende do número de lâminas a serem coradas. Este volume é adequado para corar aproximadamente 5 lâminas (em caixinha plástica para guardar lâminas).

Amarelo da Metanila

Amarelo de metanila.....1 g

Água desidratada.....100 ml

Ácido acético.....0,25 ml

Procedimento

Tempo: 1 hora.

Desparafine (20 minutos em xilol na estufa á 60°C) e hidrate as lâminas em água deionizada (somente para biópsias)

Neste ponto começa o procedimento para esfregaços

Coloque as lâminas na solução de trabalho em uma caixinha plástica por 45 minutos em estufa a 37°C.

Lave as lâminas em água deionizada por 1 minuto

Opcional: contracorar com amarelo de metanila por 3 minutos (lavar com água deionizada)

Desidrate (30 segundos em cada álcool), clarifique e monte a lâmina usando resina sintética.

Para esfregaços:

Deixe as lâminas em temperatura ambiente

Secar ao ar

Fixar em cetona por 10 minutos

Secar novamente

Começar no passo 3 da técnica acima.

Resultados

Locais AgNOR – pontos pretos intranucleares

Fundo – amarelo pálido

Apêndices

Apêndice 1 – Ficha de recebimento de amostras de neoplasmas mamários



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA

ONCOVET-UFPel

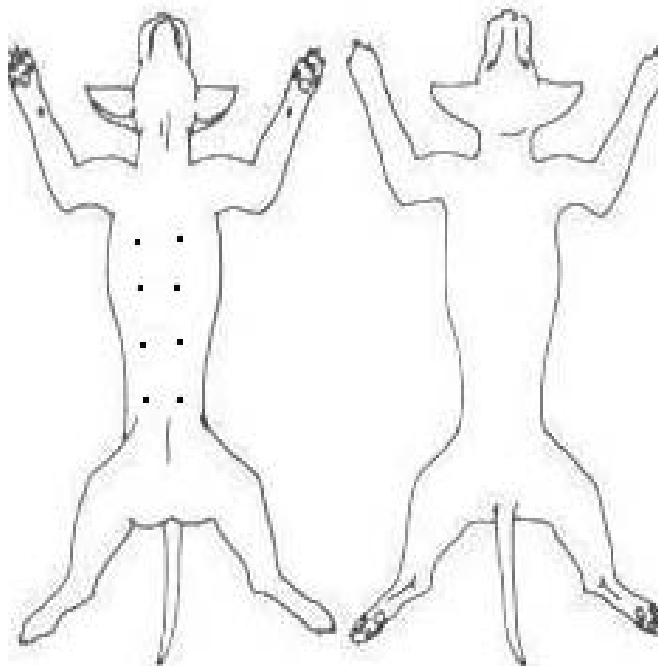


Dados para o Laudo	
Clínico Responsável:	Nº da Ficha na clínica:
Data:	E-mail:
Endereço:	Fone:
CEP/Cidade:	
Proprietário:	
Endereço:	CEP/Cidade:
Contatos (fones, e-mail):	

Enviar laudo para () clínica e/ou () proprietário.

O proprietário concorda em participar do inquérito epidemiológico? () sim; () não

Resenha	
Nome:	Espécie:
Raça	Porte
Peso	Conformação:
Sexo:	
Idade:	
Motivo da Consulta:	
Status reprodutivo	Castração
	sim
	não
	Data:
	Cio
	regular
	irregular
	Data do último cio:
	Prenhez/parição
	sim
	não
	Nº:
	Última:
	Anticoncepcional
	frequente
	esporádico
	raro
	nunca
Alimentação	Ração
	comida
	Mista
	Outra: _____
Histórico do Tumor	
Tempo de crescimento	<1 mês
	1-5 meses
	6-12 meses
	>1 ano: _____
Terapia	quimioterapia
	cirurgia
	Outra: _____
Outros exames	Rx: _____
	Citologia: _____
	Ultrasson: _____
	Hemograma: _____
Padrão	nodular
	plana
	pedunculado
	Outro: _____
Mobilidade	sim
	não
Distribuição	único
	múltiplo
Secreção	sim
	não
Metástases	sim
	não
Ulceração	sim
	não
Tamanho	x x (l x c x p)
Comentários	



Apêndice 2 – Ficha acompanhamento pós mastectomia das cadelas acometidas.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
ONCOVET - UFPEL**



FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES ONCOLÓGICOS

Ficha HCV: _____ **Ficha LRD:** _____ **Responsável:** _____

Data do procedimento cirúrgico: _____

Diagnóstico histopatológico: _____

1 semana após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

() ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Ferida cirúrgica:

() sem complicações () com complicações – Qual(is)? _____

Animal está apresentando algum sinal clínico?

() não () sim Qual? () dificuldade respiratória
() não sabe () dificuldade de locomoção
() sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
() outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

() não () sim – Onde? _____
() não sabe informar

1 mês após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

() ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

() não () sim Qual? () dificuldade respiratória
() não sabe () dificuldade de locomoção
() sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
() outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

() não () sim – Onde? _____
() não sabe informar

3 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

() ótimo () bom () regular () ruim () péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

() não () sim Qual? () dificuldade respiratória
() não sabe () dificuldade de locomoção
() sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
() outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

() não () sim – Onde? _____
() não sabe informar

6 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

 ótimo bom regular ruim péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

não sim Qual? dificuldade respiratória
 não sabe dificuldade de locomoção
 sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

não sim – Onde? _____
 não sabe informar

12 meses após procedimento cirúrgico (data do contato: _____)

Estado geral do paciente:

 ótimo bom regular ruim péssimo

Animal está apresentando algum sinal clínico?

não sim Qual? dificuldade respiratória
 não sabe dificuldade de locomoção
 sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 outros _____

Notou aumento de volume em alguma região do corpo?

não sim – Onde? _____
 não sabe informar

Campo para preenchimento em caso de óbito (data do contato: _____)

Data da morte: _____

Qual foi a causa da morte?

tumor como sendo a causa da morte (metástases ou outras complicações)
 outra causa (ex: atropelamento, cardiopatia, nefropatia, doença infecciosa, outros)
 não sabe informar
 (...) eutanásia

Apresentou aumento de volume em alguma região do corpo antes da morte?

 não sim – Onde? mesma região outra região _____

Apresentou algum sinal clínico antes da morte?

não sim Qual? dificuldade respiratória
 não sabe dificuldade de locomoção
 sinal neurológico (convulsão, ataxia, tremores, outros)
 outros _____

Apêndice 3 – Tabela das características macroscópicas, microscópicas e médias AgNOR/núcleo individuais das amostras avaliadas neste estudo.

Características macroscópicas

Ficha LRD	Tipo histológico	Material rec.	Raça	Idade	Evolução	Localização	Tamanho	Ader.	Ulcer.
2860	tumor misto benigno	biópsia	pintcher	10a	3 meses	NI	1-3cm	não	não
3720	tumor misto benigno	biópsia	daschund	7a	2 anos	inguinal	NI	não	NI
2489	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	7a	2 semanas	torácica	0,3cm diam	não	não
2783	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	11a	>1ano	inguinal	4cm diam	NI	sim
2859	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	cocker	8a	3 meses	NI	NI	não	não
3994	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	fila brasileiro	8a	>1ano	inguinal	5cm diam.	não	NI
4037	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	pastor alemão	8a	>1 ano	abdominal e inguinal	NI	NI	sim
4073	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	12a	2anos	todas	15x15cm	NI	não
4378	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	9a	1 ano	abdominal e inguinal	10cm	não	sim
4477	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	fila brasileiro	9a	3 meses	abdominal	1cm diam.	não	NI
4543	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	cocker	7a	1 mes	abdominal	2cm diam.	não	não
4598	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	6a	5 meses	abdominal	15cm diam.	sim	não
4780	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	doberman	7a	NI	inguinal	1,5cm diam.	não	não
4908	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	rottweiler	7a	5 meses	abdominal	0,5cm diam	não	não
5447	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	11a	2 anos	abdominal e torácica	12x12x5cm	sim	sim
5701	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	daschund	7a	2 anos	inguinal	0,5 cm diam.	sim	não
5713	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	husky siberiano	9a	1 mês	NI	NI	NI	NI
5806	carcinoma em tumor misto benigno	biópsia	mista	NI	1 mês	todas	5x6x3cm	não	não
2040	carcinossarcoma	biópsia	yorkshire	9a	3 meses	torácica	2 cm	não	não
2128	carcinossarcoma	biópsia	cocker	8a	3 anos	NI	4x8cm	NI	NI
2251	carcinossarcoma	biópsia	mista	8a	>1 ano	torácica	NI	não	NI
3055	carcinossarcoma	biópsia	dogo argentino	6a	NI	inguinal	15cm diam.	NI	NI
3195	carcinossarcoma	biópsia	akita	7a	NI	NI	NI	NI	NI
3488	carcinossarcoma	biópsia	mista	14a	2 meses	abdominal	NI	não	não
4019	carcinossarcoma	cadáver	mista	11a	3anos	abdominal e inguinal	5cm diam	NI	NI
4344	carcinossarcoma	biópsia	mista	14a	4meses	todas	NI	sim	sim
4478	carcinossarcoma	biópsia	mista	11a	2anos	abdominais e inguinal	5cm diam	sim	não

Continua

Continuação									
4491	carcinossarcoma	cadáver	mista	15a	4meses	todas	6cm diam	sim	sim
4677	carcinossarcoma	biópsia	mista	8a	>1 ano	torácica	5cm diam	não	não
4965	carcinossarcoma	biópsia	mista	18a	6anos	inguinal e abdominal	15cm diam.	NI	sim
5012	carcinossarcoma	biópsia	mista	14a	8meses	inguinal	>10cm	NI	NI
5024	carcinossarcoma	biópsia	setter	9a	1 ano	abdominal	NI	NI	NI
5149	carcinossarcoma	biópsia	daschund	5a	NI	NI	1cm diam.	NI	NI
5189	carcinossarcoma	biópsia	cocker	10a	NI	NI	1cm diam.	NI	NI
5216	carcinossarcoma	biópsia	fox	12a	3meses	todas	8x6cm	NI	NI
5305	carcinossarcoma	biópsia	pintcher	13a	2 semanas	inguinal e torácica	1cm diam.	NI	sim
5355	carcinossarcoma	biópsia	rottwailler	NI	6meses	torácica	NI	sim	não
5366	carcinossarcoma	biópsia	poodle	7a	1ano	NI	1cm diam.	não	não
5423	carcinossarcoma	biópsia	pastor alemão	10a	5 meses	inguinal	11x5x12cm	não	sim
5425	carcinossarcoma	biópsia	dalmata	10a	4 meses	inguinal	5x14x8cm	não	não
5436	carcinossarcoma	biópsia	mista	15a	>2 anos	todas	6x5x5xcm	sim	não
5448	carcinossarcoma	biópsia	mista	8a	>2 anos	inguinal	4 cm diam.	sim	não
5466	carcinossarcoma	biópsia	yorkshire	11a	NI	inguinal	0,5cm diam	não	não
5535	carcinossarcoma	biópsia	fila brasileiro	10a	5meses	inguinal	3cm diam	não	sim
5544	carcinossarcoma	biópsia	mista	10a	2 meses	todas	7x5x4cm	não	não
5556	carcinossarcoma	biópsia	mista	12a	> 1 ano	inguinal e abominal	5x4x4cm	sim	não
5601	carcinossarcoma	biópsia	rottwailler	6a	>1 ano	abdominal	5cm diam	não	não
5704	carcinossarcoma	cadáver	boxer	6a	NI	inguinal e abdominal	12x8x9cm	não	não
5742	carcinossarcoma	biópsia	poodle	10a	9 meses	torácica e abdominal	0,5 cm diam.	não	não
5786	carcinossarcoma	biópsia	mista	5a	4 meses	abdominal	8x5x1cm	não	não
5793	carcinossarcoma	biópsia	mista	10a	5meses	addominal	8x5x6 cm	sim	sim
5884	carcinossarcoma	cadáver	mista	10a	5 meses	todas	5 a 10cm	não	não
5900	carcinossarcoma	biópsia	poodle	10a	NI	torácica e abdominal	3x1,5x2cm	NI	NI

NI: dado não informado

Características Histológicas

Ficha LRD	Tipo histológico	Características Epiteliais			Características mesenquimais (cartilagem)					Microinvasiv.	Margens cirurgicas
		f. tubular	mitoses	pleomorf.	celularidade	núc. duplos	cel. agreg.	mitoses	pleomorf		
2860	tumor misto benigno	1	1	1	1	1	1	1	1	-	NA
3720	tumor misto benigno	1	1	1	2	1	1	1	1	-	NA
2489	carcinoma em tumor misto benigno	2	2	2	2	1	1	1	2	+	NA
2783	carcinoma em tumor misto benigno	3	1	3	1	1	1	1	1	-	NA
2859	carcinoma em tumor misto benigno	2	1	3	3	1	2	1	1	-	NA
3994	carcinoma em tumor misto benigno	1	1	1	2	1	1	1	2	-	NA
4037	carcinoma em tumor misto benigno	2	1	2	3	1	2	1	1	+	NA
4073	carcinoma em tumor misto benigno	1	2	3	2	1	1	1	1	+	NA
4378	carcinoma em tumor misto benigno	1	2	3	1	1	1	1	1	+	NA
4477	carcinoma em tumor misto benigno	3	1	3	1	1	1	1	2	-	NA
4543	carcinoma em tumor misto benigno	2	1	2	1	1	1	1	1	+	NA
4598	carcinoma em tumor misto benigno	3	1	3	1	1	1	1	2	-	NA
4780	carcinoma em tumor misto benigno	2	1	2	1	2	1	1	2	-	NA
4908	carcinoma em tumor misto benigno	1	2	3	2	1	2	1	1	+	NA
5447	carcinoma em tumor misto benigno	1	1	1	1	1	1	1	2	-	livre
5701	carcinoma em tumor misto benigno	3	2	3	1	1	1	1	1	-	livre
5713	carcinoma em tumor misto benigno	1	1	2	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
5806	carcinoma em tumor misto benigno	2	1	2	1	1	1	1	1	-	comprometida
2040	carcinossarcoma	1	1	2	2	1	2	1	3	-	NA
2128	carcinossarcoma	1	1	3	2	1	1	1	2	+	NA
2251	carcinossarcoma	2	2	3	3	1	3	1	3	-	NA
3055	carcinossarcoma	1	2	2	3	1	3	1	3	+	NA
3195	carcinossarcoma	3	2	3	3	2	2	2	3	+	NA
3488	carcinossarcoma	3	1	2	2	1	1	1	2	-	NA
4019	carcinossarcoma	1	1	2	3	1	2	1	2	+	NA
4344	carcinossarcoma	2	1	2	3	1	2	1	2	-	NA
4478	carcinossarcoma	2	2	2	3	1	3	1	3	+	NA
4491	carcinossarcoma	3	1	3	2	2	2	2	3	NA	NA

Continua

Continuação											
4677	carcinossarcoma	2	1	2	3	2	2	1	3	-	NA
4965	carcinossarcoma	3	3	3	2	3	2	2	3	-	NA
5012	carcinossarcoma	1	2	3	NA	NA	NA	NA	NA	-	NA
5024	carcinossarcoma	1	1	1	2	3	2	2	3	-	NA
5149	carcinossarcoma	2	2	2	3	1	3	2	3	-	NA
5189	carcinossarcoma	2	2	2	3	1	2	1	3	+	NA
5216	carcinossarcoma	2	2	2	2	1	1	1	3	+	NA
5305	carcinossarcoma	3	1	3	2	1	1	1	3	+	NA
5355	carcinossarcoma	2	2	3	3	2	2	3	3	+	NA
5366	carcinossarcoma	1	1	1	1	1	1	1	2	-	NA
5423	carcinossarcoma	1	2	3	3	2	2	2	3	+	comprometida
5425	carcinossarcoma	2	1	3	3	2	3	2	3	-	livre
5436	carcinossarcoma	1	2	1	3	2	2	1	3	NA	livre
5448	carcinossarcoma	1	2	2	3	1	3	1	3	-	livre
5466	carcinossarcoma	2	1	2	3	3	2	2	3	-	NA
5535	carcinossarcoma	3	1	2	2	1	3	2	3	NA	NA
5544	carcinossarcoma	2	1	3	3	1	3	2	3	-	livre
5556	carcinossarcoma	1	2	3	3	2	3	2	3	+	comprometida
5601	carcinossarcoma	1	1	1	3	2	2	1	3	+	livre
5704	carcinossarcoma	2	1	2	3	2	2	1	3	+	NA
5742	carcinossarcoma	2	1	2	2	1	1	1	3	+	livre
5786	carcinossarcoma	3	2	2	2	3	1	1	3	+	livre
5793	carcinossarcoma	2	1	2	3	3	1	1	3		livre
5884	carcinossarcoma	2	2	1	2	1	2	2	2		NA
5900	carcinossarcoma	3	1	2	2	1	2	1	2	-	NA

NA: não avaliada

Avaliação das AgNORs

Ficha LRD	Tipo histológico	AgNOR 1	AgNOR 2
2860	tumor misto benigno	2,15	2,42
3720	tumor misto benigno	1,49	1,84
2489	carcinoma em tumor misto benigno	3,57	3,51
2783	carcinoma em tumor misto benigno	3,99	4,57
3994	carcinoma em tumor misto benigno	2,56	3,03
4037	carcinoma em tumor misto benigno	2,75	3,19
4073	carcinoma em tumor misto benigno	3,1	4,39
4378	carcinoma em tumor misto benigno	2,5	3,21
4477	carcinoma em tumor misto benigno	2,29	2,92
4543	carcinoma em tumor misto benigno	3,21	3,53
4598	carcinoma em tumor misto benigno	4,14	3,88
4780	carcinoma em tumor misto benigno	4,71	3,2
4908	carcinoma em tumor misto benigno	1,91	1,76
5447	carcinoma em tumor misto benigno	3,15	2,82
5701	carcinoma em tumor misto benigno	3,64	3
5713	carcinoma em tumor misto benigno	6,01	4,76
5806	carcinoma em tumor misto benigno	5,47	3,78
2040*	carcinossarcoma	2,06	1,92
2128	carcinossarcoma	4,45	3,91
3055	carcinossarcoma	2,99	2,87
3195	carcinossarcoma	2,73	2,32
3488	carcinossarcoma	4,89	5,18
4019*	carcinossarcoma	3,97	4,36
4344	carcinossarcoma	4,33	4,69
4478	carcinossarcoma	2,13	2,58
4491*	carcinossarcoma	4,59	5,18
4677	carcinossarcoma	2,26	2,52
4965	carcinossarcoma	3,01	2,91
5012*	carcinossarcoma	4,01	4,26
5024	carcinossarcoma	2,9	3,63
5149	carcinossarcoma	3,63	2,96
5189	carcinossarcoma	1,69	2,19
5216	carcinossarcoma	2,21	1,94
5305	carcinossarcoma	2,12	1,91
5355	carcinossarcoma	2,84	3,32
5366	carcinossarcoma	2,17	1,94
5425	carcinossarcoma	1,9	2,31
5436	carcinossarcoma	2,39	2,8
5448	carcinossarcoma	5,91	3,87
5466	carcinossarcoma	2,5	2,18
5535	carcinossarcoma	2,89	2,55
5556	carcinossarcoma	3	2,85
5601	carcinossarcoma	5,41	4,98
5704*	carcinossarcoma	4,3	4,01
5742	carcinossarcoma	3,75	3,88
5786	carcinossarcoma	3,41	3,86
5793	carcinossarcoma	4,34	4,06
5884*	carcinossarcoma	6,53	5,77
5900	carcinossarcoma	3,37	3,83

* Animais que morreram ou foram eutanasiados em decorrência de metástases