

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**MARIANA PAVELSKI**

**EXAMES AUXILIARES NO DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO DE NEOPLASIAS  
DE MAMA EM CADELAS**

**CURITIBA**

**2013**

**MARIANA PAVELSKI**

**EXAMES AUXILIARES NO DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO DE  
NEOPLASIAS DE MAMA EM CADELAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Clínica, Cirurgia e Patologia Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof.º Dr. Peterson Triches Dornbusch

**CURITIBA**

**2013**


**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**



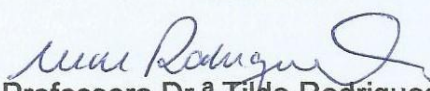
**PARECER**

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“EXAMES AUXILIARES NO DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO DAS NEOPLASIAS DE MAMA EM CADELAS”** apresentada pela Mestranda **MARIANA PAVELSKI** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 18 de fevereiro de 2013



Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch  
Presidente/Orientador

  
Professora Dr.ª Silvia Regina Kleeb  
Membro  
Professora Dr.ª Tilde Rodrigues Froes  
Membro



“As ciências se adquirem com a luz da inteligência, mas a fé supera a inteligência”.  
São João da Cruz

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades que tem me dado, por sempre iluminar meu caminho e guiar meus passos, me amparar e fortalecer em todos os momentos.

Aos meus pais, Julio e Sonia, pelo amor, pelo apoio, por acreditarem em mim e por todo incentivo.

Aos amigos, que são tantos e de tantos lugares, pela amizade, companheirismo e parceria, pelos momentos de riso e alegria, por estarem presentes nos momentos que eu mais precisei.

Ao meu orientador, Prof. Peterson Triches Dornbusch, pelo aceite, por todos os ensinamentos, pelas experiências compartilhadas, pela paciência e confiança.

Aos residentes do Hospital Veterinário dessa instituição, turma 2011 e 2012, a cada um, pela amizade, pelas experiências profissionais compartilhadas e principalmente aos residentes dos setores de Oncologia, Patologia, Diagnóstico por Imagem e Anestesiologia pelo auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores dessa Instituição, por serem motivadores e espelho para minha vida profissional, por partilharem seus conhecimentos. Principalmente a Prof.<sup>a</sup> Simone Domit Guérios pela acolhida, pelas oportunidades que me proporcionou, pelas experiências compartilhadas. A Prof.<sup>a</sup> Tilde Rodrigues Froes e ao Prof<sup>o</sup> Renato Silva de Sousa pelos ensinamentos, pelo incentivo e apoio na pesquisa.

A Maria Angelina, técnica do laboratório de Patologia do Hospital Erasto Gaertner, pela acolhida e pelo auxílio na confecção das lâminas citológicas.

*“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós”. Charles Chaplin*

Muito obrigada a cada uma!

## RESUMO

O tumor de mama é uma das neoplasias mais frequentes em cadelas. Os estudos sobre essa enfermidade tem aumentado devido sua alta incidência e por apresentar grandes similaridades aos tumores de mama em mulheres. O diagnóstico precoce do tumor primário e de possíveis metástases é a chave do sucesso na terapia e melhora do prognóstico dos pacientes. Essa dissertação compreende três estudos sobre exames auxiliares no diagnóstico e estadiamento do tumor de mama em cadelas. O primeiro estudo é uma revisão de literatura que aborda os exames que podem ser utilizados desde o diagnóstico do tumor primário, até identificação de metástases à distância. Sendo descrito as principais características, vantagens e acessibilidade de cada ferramenta diagnóstica na veterinária, comparando o uso dessas ferramentas em mulheres com tumor de mama. No segundo estudo o lavado broncoalveolar é proposto como ferramenta auxiliar na pesquisa de metástases pulmonares, sendo realizada a diferenciação celular entre grupos de animais saudáveis e com tumor de mama e relacionados os resultados citológicos do lavado broncoalveolar com as alterações radiográficas torácicas encontradas. O terceiro estudo procura avaliar a o uso da termografia infravermelha tanto em mamas híginas como em mamas com neoplasia e verificar sua aplicabilidade na rotina clínica veterinária. Os três artigos foram formatados segundo as normas da Revista *Archives of Science Veterinary* da Universidade Federal do Paraná.

## **ABSTRACT**

The mammary tumor is one of the most common neoplastic diseases in bitches. Studies about this subject have increased due to its high incidence and to have many similarities to breast tumors in women. Early diagnosis of the primary tumor and possible metastases is the key of success in the therapy and to improve the prognosis of the patients. This dissertation consists of three studies about ancillary tests in the diagnosis and staging of mammary cancer in female dogs. The first study is a literature review that discusses the tests that can be used from diagnosis of the primary tumor, to identify distant metastases. Have been described the main features, benefits and accessibility of each diagnostic tool in veterinary medicine, comparing the use of these tools in women with breast cancer. In the second study bronchoalveolar lavage is proposed as an auxiliary tool in the research of lung metastasis, cell differentiation have been done between groups (healthy and breast tumor) and related the results of bronchoalveolar lavage cytology with chest radiographic changes found. The third study evaluates the use of infrared thermography in both healthy mammary tissue and in mammary cancer, to evaluate its applicability in clinical routine. All three papers were written according to the Archives of Veterinary Science Journal of the Federal University of Paraná norms.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- 3.1** Imagem radiográfica de tórax incidência lateral esquerda, de cadela SRD, 9 anos, apresentando padrão intersticial nodular sugestivo de metástase pulmonar de tumor de mama. ....34
- 3.2** Citologia de lavado broncoalveolar de cadela da raça Cocker de 11 anos, portadora de tumor de mama, apresentando atipia celular, sugestivo de metástase (Objetiva 40 X).....37
- 3.3** Citologia de lavado broncoalveolar de cadela da raça Cocker de 11 anos, portadora de neoplasia mamária, apresentando atipia celular, sugestivo de metástase (Objetiva 40 X).....37
- 3.4** Imagem de corte histopatológico pulmonar de cadela Cocker de 12 anos, portadora de neoplasia mamária, apresentando metástase. Seta vermelha aponta alvéolo infiltrado por células neoplásicas metastáticas. Seta verde aponta vaso sanguíneo infiltrado por células neoplásicas metastáticas .....38
- 4.1** Realização do exame termográfico das mamas de cadela hígida, SRD, de 9 anos. Animal em decúbito dorsal, sob mesa de metal, com abdômen tricotomizado e câmara termográfica posicionada a um distância média de 40 cm do paciente, em sala climatizada a 22°C .....53
- 4.2** Imagem termográfica das mamas abdominais craniais esquerda e direita de uma cadela sem raça definida de 7 anos. Temperatura média da mama esquerda de 33,4°C e da mama direita de 34, 2°C. Retângulos delimitam as mamas formando uma imagem de 227 X 189 pixels. ....54
- 4.3** Comparação da temperatura termográfica entre os grupos de mamas das cadelas híidas. ( $p < 0,05$ ) .....56
- 4.4** Comparação dos valores termográficos de m1, m2 e m3 do grupo controle com as mesmas mamas do grupo tumor ( $p < 0,05^*$ ). .....57
- 4.5** Comparação dos valores termográficos de m4 e m5 do grupo controle com as mesmas mamas do grupo tumor ( $p < 0,05^*$ ). .....57
- 4.6** Imagem termográfica das mamas abdominais caudais de uma cadela hígida, sem raça definida de 8 anos. ....58
- 4.7** Imagem termográfica de tumor mamário localizado nas mamas abdominal caudal e inguinal da cadeia direita de uma cadela da raça poodle de 10 anos de idade .....59
- 4.8** Imagem de tumor mamário localizado nas mamas abdominal caudal e inguinal da cadeia direita de uma cadela da raça poodle de 10 anos de idade. Imagem referente à termografia anterior (figura 4.7). .....59

## LISTA DE TABELAS

<b>2.1</b> Sistema de estadiamento TNM modificado para tumores mamários em cadelas (Withrow et.al., 2007) .....	6
<b>2.2</b> Classificação histológica das neoplasias mamárias em cadelas. Modificado Misdorp et.al. 1999.....	8
<b>2.3</b> Resumo da graduação histológica para tumor de mama segundo Elston e Ellis (1998).....	9
<b>3.1</b> Média da contagem diferencial celular da citologia do lavado broncoalveolar, sendo $*(P<0,05)$ .....	35
<b>4.1</b> Médias e desvio padrão das temperaturas termográficas mamárias de cadelas híidas.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>aC</b>	Antes de Cristo
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>BAAF</b>	Biópsia aspirativa com agulha fina
<b>cDNA</b>	Ácido Desoxirribunucleico complementar
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenase tipo 2
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribunucleico
<b>EV</b>	Endovenoso
<b>LBA</b>	Lavado Broncoalveolar
<b>PET</b>	Tomografia por emissão de pósitrons
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>RPM</b>	Rotações por minuto
<b>TC</b>	Tomografia Computadorizada
<b>US</b>	Ultrassonografia
<b>VEGRF-1</b>	Fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS NA NEOPLASIA MAMÁRIA EM CADELAS</b> ...	3
2.1 Introdução.....	3
2.2 Diagnóstico e Estadiamento clínico.....	4
2.3 Citopatologia e Histopatologia.....	6
2.4 Métodos de imagem.....	10
2.4.1 Radiografia.....	10
2.4.2 Ultrassonografia.....	11
2.4.3 Tomografia Computadorizada e Ressonância Magnética.....	12
2.4.4 Broncoscopia e Toracoscopia.....	14
2.4.5 Medicina Nuclear.....	15
2.4.6 Termografia.....	16
2.5 Biologia Molecular.....	17
2.6 Conclusão.....	18
2.7 Referências.....	19
<b>3. PESQUISA DE METASTÁSE PULMONAR EM CADELAS COM NEOPLASIA MAMÁRIA POR MEIO DE LAVADO BRONCOALVEOLAR</b> 26	
3.1 Introdução.....	27
3.2 Material e Métodos.....	30
3.3 Resultados.....	33
3.4 Discussão.....	38
3.5 Conclusão.....	42
3.6 Referências.....	43
<b>4. AVALIAÇÃO TERMOGRÁFICA DAS MAMAS DE CADELAS HÍGIDAS E COM NEOPLASIA MAMÁRIA</b> .....	47
4.1 Introdução.....	48
4.2 Material e Métodos.....	52
4.3 Resultados.....	55
4.4 Discussão.....	60
4.5 Conclusão.....	63
4.6 Referências.....	64
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	68

6. ANEXO .....	69
7. VITA .....	75

## 1. INTRODUÇÃO

Com o avanço tecnológico na medicina veterinária e a crescente conscientização da sociedade quanto aos cuidados dispensados à saúde animal, esses têm seu tempo de vida prolongado, o que aumenta a probabilidade de desenvolver processos neoplásicos.

As cadelas portadoras de tumor mamário são rotina diária na clínica veterinária, e muitas vezes, ao primeiro exame clínico o animal já apresenta múltiplas nodulações, tumores maiores que 3 cm de diâmetro, tumores ulcerados, ou até mesmo metástases regionais ou a distância.

Segundo Withrow, et.al. (2007) mais de 50% dos tumores mamários são considerados malignos à histopatologia, sendo a grande maioria de origem epitelial, carcinomas, esses são o tipo tumoral que mais comumente fazem metástase principalmente para o pulmão.

Considerando que mais da metade das neoplasias são malignas e que todas estas tem potencial à metástase, constata-se quão agressiva é esta enfermidade, sendo necessário investir em pesquisas nessa área.

A identificação precoce da neoplasia mamária, como também das metástases regionais ou a distância são fundamentais para a escolha do tratamento e prognóstico do paciente.

A fim de estabelecer um prognóstico e o plano de tratamento o paciente deve passar por estadiamento com intuito de avaliar o tamanho do tumor primário, o comprometimento dos linfonodos regionais e a presença de metástases à distância.

Diversos exames diagnósticos podem ser usados no diagnóstico e estadiamento do paciente com neoplasia mamária como: citologia, histologia, radiografia torácica, ultrassonografia abdominal, tomografia computadorizada, entre

outros, como também a termografia infravermelha e o lavado broncoalveolar exames propostos nesse trabalho.

O estudo do resultado das técnicas diagnósticas citadas, utilizadas em associação, pode fornecer dados importantes, para o diagnóstico. Uma vez que o diagnóstico é feito, um tratamento adequado poderá ser instituído, fornecendo um melhor prognóstico ao paciente, como prolongamento e qualidade de vida.

Os objetivos dessa dissertação são apresentar as diversas modalidades diagnósticas que podem ser utilizadas no diagnóstico e estadiamento do tumor de mama, focando principalmente a termografia infravermelha e o lavado broncoalveolar que são métodos de fácil acesso, baixo custo e rápida realização.

## 2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS NA NEOPLASIA MAMÁRIA EM CADELAS

(Mammary tumors in female dogs: Diagnosis tools)

**RESUMO** - Os tumores de mama em cadelas se tornaram um importante objeto de estudo devido a sua alta incidência e devido a similaridades com os tumores de mama em mulheres. A determinação de um diagnóstico e estadiamento clínico são etapas importantes para definir o tratamento mais adequado e prognóstico do paciente. Esse trabalho tem o objetivo de descrever as diversas modalidades diagnósticas desde a identificação do tumor primário à metástases que podem ser usadas em cadelas com neoplasia mamária.

**palavras chave:** estadiamento, neoplasia mamária, metástases

**ABSTRACT** - Mammary tumors in female dogs have become an important subject of study due to its high incidence and due to similarities with breast tumors in women. The determination of a diagnosis and clinical staging are important steps to define the most appropriate treatment and prognosis. This paper aims to describe the various diagnostic modalities to identify the primary tumor or metastasis that can be used in dogs with mammary tumors.

**key words:** staging, breast câncer, metastasis

### INTRODUÇÃO

Fatores genéticos, ambientais e biológicos como raça, idade, exposição hormonal e obesidade tem sido descritos como predisponentes no desenvolvimento

da neoplasia mamária em cadelas (Fonseca e Daleck, 2000; Misdorp, 2002; Andrade et al., 2010; Kopfleisch et al., 2011; Sonremo et al., 2013).

Entretanto a carcinogênese dos tumores mamários não está bem definida, devido à heterogeneidade morfológica e biológica desses tumores (Im et al., 2012). O carcinoma inflamatório, por exemplo, possui uma apresentação clínica única. Pacientes acometidos apresentam sinais característicos de um processo inflamatório sistêmico, tem evolução rápida e alto poder metastático (Marconato et al., 2009; Clemente et al., 2010; Sá et al., 2011).

Os tumores da glândula mamária estão entre os tumores mais comuns em cadelas e representam de 50 a 70% de todas as neoplasias (Merlo, 2008; Withrow, et. al., 2007; Sonremo et al., 2013). As fêmeas de média idade a idosas são as mais acometidas e mais de 50% das neoplasias mamárias são malignas (Queiroga e Lopes, 2002; De Nardi et al., 2008; Allison et. al., 2009; Sonremo, 2013).

Diversas modalidades diagnósticas como de imagem, citologia, histopatologia e diagnósticos moleculares podem ser associadas para obtenção de informações, como a extensão do tumor primário e a existência de metástases à distância.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho de revisão é relatar o que tem sido estudado e utilizado no que se refere a métodos diagnósticos na neoplasia mamária em cães, desde a identificação do tumor primário à metástases.

## **DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO CLÍNICO**

O diagnóstico clínico deve incluir histórico do paciente, dados sobre o aparecimento e desenvolvimento do tumor e exame físico completo. A descrição macroscópica da lesão é muito importante, devem ser descritos: número de lesões,

localização, tamanho, presença ou não de ulceração (Ferreira et al., 2003; Sorenmo et al., 2011).

Tumores benignos geralmente apresentam-se circunscritos, não aderidos aos tecidos adjacentes e são de evolução lenta. Já os tumores malignos exibem crescimento invasivo e são na maioria das vezes de evolução rápida, podendo apresentar ulcerações e envolvimento de linfonodos regionais e a distância. Apesar das diferentes características o exame clínico não pode determinar o diagnóstico do tumor (Withrow et.al., 2007).

A única neoplasia mamária que tem diagnóstico predominantemente clínico é o carcinoma inflamatório. As cadelas acometidas apresentam as glândulas mamárias difusamente edemaciadas com pouca demarcação entre os tecidos, tornando a região firme, sob forma de placas, quente e dolorosa a palpação (Clemente, et al., 2010; Sá e Repetti, 2011).

O estadiamento tem como objetivo avaliar o tamanho do tumor primário (T), o comprometimento dos linfonodos (N) regionais e a presença de metástases à distância (M). Uma versão modificada do original sistema TNM publicada por Owen (1980) tem sido utilizada (Tabela 2.1).

Tumores de mama diagnosticados em fase inicial tem um bom prognóstico, mas 25 a 50% das cadelas já apresentam micrometastases no momento do diagnóstico (Hedlund, 2005). Fazem metástase principalmente para o pulmão; outros locais metastáticos menos comuns são os ossos, fígado, cérebro, rins e glândulas adrenais (Ngwyen et.al., 2009; Kopfleisch, 2010; Langley e Fidler, 2011; Lorusso e Ruegg, 2012).

Tabela 2.1 – Sistema de estadiamento TNM modificado para tumores mamários em cadelas (WITHROW et.al., 2007)

Estadiamento clínico de tumores mamários em cadelas
<p><b>T: tumor primário</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- T<sub>1</sub>: menor que 3 cm de diâmetro</li> <li>- T<sub>2</sub>: entre 3 e 5 cm de diâmetro</li> <li>- T<sub>3</sub>: maior que 5 cm de diâmetro</li> </ul>
<p><b>N: linfonodos regionais</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- N<sub>0</sub>: sem envolvimento neoplásico</li> <li>- N<sub>1</sub>: com envolvimento neoplásico</li> </ul>
<p><b>M: metástases à distância</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- M<sub>0</sub>: ausência de metástases à distância</li> <li>- M<sub>1</sub>: presença de metástases à distância</li> </ul>
<p><b>Estádios</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- I: T<sub>1</sub>,N<sub>0</sub>,M<sub>0</sub></li> <li>- II: T<sub>2</sub>,N<sub>0</sub>,M<sub>0</sub></li> <li>- III: T<sub>3</sub>,N<sub>0</sub>,M<sub>0</sub></li> <li>- IV: qualquer T,N<sub>1</sub>,M<sub>1</sub></li> <li>- V: qualquer T, qualquer N, M<sub>1</sub></li> </ul>

## CITOPATOLOGIA E HISTOPATOLOGIA

Na citologia dos tumores mamários podem ser encontradas células epiteliais ductubulares, células secretórias, células mesenquimais ou uma combinação delas (tumor misto) (Friedrichs e Young, 2013).

O exame citológico de amostras obtidas por biópsia aspirativa com agulha fina (BAAF) podem gerar resultados equivocados nos casos de tumores mistos de mama, contudo estudos realizados por Zuccari et al. (2001) e por Cassali et al. (2007) demonstraram alto grau de concordância dos resultados da citologia com a histopatologia mamária.

O exame citológico pode ser útil para exclusão de diagnósticos diferenciais como mastite, mastocitoma, lipoma entre outros (Cassali et al., 2011). Também quando linfonodos são identificados com aumento de volume, a BAAF é recomendada, pois tem alta sensibilidade em detectar processos metastáticos (Sorenmo et al., 2011).

A biópsia por excisão ou incisão é o método de eleição para o diagnóstico de neoplasias mamárias (Cassali et al., 2011). Diversas são as classificações histológicas propostas, mas a mais utilizada é a de Misdorp et al. (1999) listada na tabela 2.2. As cadelas normalmente possuem múltiplos tumores, frequentemente, de tipos histológicos diferentes, sendo o adenocarcinoma simples o mais comum. (Alisson e Maddux, 2009; Cassali et al., 2011).

A graduação histológica tem sido proposta como uma sensível ferramenta como fator prognóstico, seu uso tem aumentado na medicina veterinária, sendo sugerido o uso do sistema de Nottingham modificado por Elston e Ellis (1998) (Tabela 2.3) o qual é utilizado na medicina. A graduação é obtida pela soma dos pontos, sendo 3-5 pontos – grau I, 6-7 pontos – grau II, 8-9 pontos – grau III (Karayannopoulou et al., 2005; Cavalcanti et al., 2006; Mendes et al., 2007; Cassali, et al., 2011).

Tabela 2.2 Classificação histológica das neoplasias mamárias em cadelas. Modificado de Misdorp et.al. (1999).

---

**Lesões epiteliais não neoplásicas****Hiperplasia epitelial**

- Hiperplasia ductal
- Hiperplasia lobular
- Adenose

**Lesões colunares**

- Alterações celulares colunar
  - Hiperplasia colunar
  - Atipia celular
- 

**Neoplasias benignas**

- Adenoma
  - Adenoma complexo ou adenomioepitelioma
  - Adenoma basal
  - Fibroadenoma
  - Tumor misto benigno
  - Papiloma ductal
- 

**Neoplasias malignas****Carcinomas*****Carcinoma in situ***

- Carcinoma ductal in situ
- Carcinoma lobular in situ

**Carcinoma misto****Carcinoma complexo****Carcinoma papilar****Carcinoma tubular****Carcinoma sólido****Carcinomas atípicos****Carcinoma micropapilar****Carcinoma lobular invasivo****Carcinoma lobular pleomórfico****Carcinoma secretório****Carcinoma mucinoso****Carcinoma rico em lipídeos****Carcinoma de células escamosas****Carcinoma anaplásico****Neoplasia mamária com diferenciação sebácea****Sarcomas****Fibrossarcoma****Osteossarcoma****Carcinossarcoma****Sarcoma misto****Outros sarcomas****Condrossarcoma puro****Lipossarcoma****Hemangiossarcoma**

---

Tabela 2.3 - Resumo da graduação histológica para tumor de mama segundo Elston e Ellis (1998).

<b>Característica</b>	<b>Pontos</b>
<b>Formação Tubular</b>	
> 75 % do tumor	1
10 a 75 % do tumor	2
< 10 % do tumor	3
<b>Pleomorfismo Nuclear</b>	
Tamanho nuclear similar a uma célula normal	1
Moderado aumento de tamanho e variação	2
Marcada variação	3
<b>Figuras de mitose (HPF) *</b>	
0 a 8 / 10 HPF	1
9 a 16 / 10 HPF	2
17 ou mais/ 10 HPF	3

\*HPF = high power field. Olympus BX-41, objetiva 40 X. (Cassali et al., 2011)

Quando colorações de rotina (hematoxilina- eosina) são insuficientes para determinação de um diagnóstico a imunohistoquímica pode ser requerida. A escassez de anticorpos específicos para cães tem levado ao uso de anticorpos para ratos e pessoas, o que tem sua especificidade questionável (Matos et al., 2012). Recente estudo de Zacchetti et al. (2007) validou o uso de anticorpos para detecção de p53.

Tanto a imunocitoquímica como a imunohistoquímica tem sido muito utilizadas para identificar a expressão de marcadores moleculares que elucidam a

carcinogênese e denotam fatores prognósticos do tumor de mama em cadelas (Zuccari et al., 2004; Matos et al., 2012).

## **MÉTODOS DE IMAGEM**

### **Radiografia**

A radiografia é o exame de imagem de maior acesso na Medicina Veterinária. Em pacientes com tumor de mama tem sido utilizada principalmente para estadiamento torácico. É um procedimento rápido e não invasivo e, na maioria das vezes, é desnecessária a sedação do paciente (SAMII V.F., 2008).

Apesar de ser um procedimento relativamente fácil de ser realizado requer uma equipe altamente preparada para a interpretação dos filmes. A observação da localização e distribuição das lesões, do formato e expansão pulmonar e alterações de opacidade são requisitos fundamentais na interpretação da radiografia pulmonar (Scrivani, 2009; Thrall, 2013).

As alterações radiográficas pulmonares podem ser divididas em padrões de anormalidades: vascular, brônquico, alveolar e intersticial. As neoplasias pulmonares metastáticas normalmente apresentam padrão intersticial nodular, com a presença de múltiplos nódulos em toda extensão do parênquima pulmonar. Nódulos podem não ser vistos se circundados por tecido pulmonar consolidado também a presença de inflamação, edema, efusão pleural, hemorragia secundária e atelectasia podem dificultar o diagnóstico (Mai et al., 2008; Thrall, 2013).

Nos exames radiográficos somente são detectados nódulos maiores que 4 a 5mm., sendo que a sensibilidade do exame em detectar metástases é estimada em 65 a 97%, quando realizadas no mínimo duas projeções (lateral direita e

ventrodorsal/dorsoventral) (LAMB, 2002). Porém, o exame tem maior fidedignidade, quando se faz três projeções (laterais direito e esquerdo e ventrodorsal/dorsoventral) (BAEZ; SORENMO, 2004).

### **Ultrassonografia**

A ultrassonografia (US) é muito utilizada no diagnóstico complementar e acompanhamento do tumor de mama em mulheres. A caracterização das massas é feito segundo *Breast imaging reporting and data system* (BI-RADS) <sup>®</sup> sistema implantado pelo Colégio americano de Radiologia. Características como ecogenicidade do parênquima, regularidade das superfícies e achados ultrassonográficos como reforço acústico são avaliados na diferenciação de tumores em malignos e benignos (Nastri et al., 2011). A sensibilidade da US em diferenciar massas benignas e malignas em mulheres foi descrita em 70,5 a 82,3% (Nascimento et al., 2009). Além do examinador outro fator limitante é o tamanho do nódulo a ser detectado: para lesões menores que 5mm foi de 41,7%, para lesões entre 5 e 11 mm de 61% e para lesões maiores que 11mm, de 97% ( Berg et al., 2006; Nastri et al., 2011).

Estudo realizado por Basan et al. (2009) sobre a avaliação ultrassonográfica em tumores mamários de cadelas demonstrou a diferença na regularidade de superfície entre tumores malignos e benignos, sendo os tumores malignos irregulares e também apresentavam sombreamento acústico. Feliciano et al.(2012) apresentou resultados de correlação positiva entre o doppler colorido e tumores mamários malignos.

Apesar desses estudos o uso da ultrassonografia no diagnóstico da neoplasia mamária em cadelas ainda é restrita devido à escassez de trabalhos que

principalmente identifiquem a sensibilidade da US e correlacionem os achados macroscópicos e microscópicos das neoplasias com imagens ultrassonográficas.

Como visto diferente da utilização em mulheres, a ultrassonografia tem sido utilizada em cadelas com tumor mamário, principalmente na pesquisa de metástases abdominais e como guia para biópsias ou punção aspirativa com agulha fina de possíveis lesões encontradas em abdômen ou até em parede torácica, pleura ou superfície pulmonar (Forest e Kraft, 2013).

A US também foi sugerida na detecção de linfonodos (linfonodo inguinal) metastáticos, tendo taxa de concordância com os resultados histopatológicos de 92,5%, sensibilidade de 94,1% e especificidade de 92%. Contorno irregular, forma arredondada com razão C/E menor que 2, arquitetura desorganizada, ecogenicidade alterada, vascularização elevada e do tipo periférica são características atribuídas aos linfonodos metastáticos ( Muramoto et al., 2011).

### **Tomografia Computadorizada e Ressonância Magnética**

A tomografia computadorizada (TC) é uma ferramenta diagnóstica adicional à radiografia, permite melhor visibilidade da localização e extensão das enfermidades, tem excelente contraste entre estruturas, não ocasionando superposição de imagens (Schwarz e Johnson, 2011; D`anjou, 2013).

Na neoplasia mamária a TC pode ser adjuvante a radiografia torácica e a ultrassonografia abdominal na pesquisa de metástases (Forest e Kraft, 2013).

Entretanto por ser uma ferramenta de utilização relativamente recente na Medicina Veterinária tem-se muito a ser estudado. Pinto et al.(2006) descrevem aspectos técnicos que auxiliam a realização de uma tomografia torácica de uma forma adequada.

Segundo estudo retrospectivo realizado por Otoni et. al. (2010), com 18 cães portadores de metástase pulmonar, o tamanho tumoral mínimo a ser diagnosticado através da tomografia computadorizada foi de 1 mm, comparado a 7-9 mm feito diagnóstico através da radiografia; demonstrando assim, a maior sensibilidade da tomografia.

Embora a tomografia computadorizada seja considerada um método mais sensível que a radiografia para detecção de metástases pulmonares, resultados falso positivo e falso negativos podem ocorrer. (Biller, 2001; Toba et.al.2010).

A TC tem sido utilizada amplamente no planejamento do tratamento radioterápico em mulheres, também pode ser utilizada com esse intuito na veterinária apesar de não ser difundido pela baixa utilização da radioterapia em cadelas (Frangioni, 2008).

A ressonância magnética (RM) produz imagens de alta resolução principalmente de tecidos moles, utiliza campos magnéticos e radiofrequência. O que é uma vantagem em relação à TC, pois tem menor efeito carcinogênico (Forest e Kraft, 2013). A RM apresenta maior suscetibilidade a artefatos de moção causados por movimentos respiratórios e cardíacos e movimentos do paciente, comprometendo a qualidade das imagens (Barcellos, 2002).

Técnicas têm sido desenvolvidas para mensurar as propriedades angiogênicas do tumor, a ressonância magnética, aos poucos vem substituindo técnicas mais invasivas, e pode quantificar o volume vascular, permeabilidade capilar, extensão vascular e vários outros parâmetros vasculares mesmo em tumores mais profundos (Weissleder, 2002; Forest e Kraft, 2013).

Por ser um exame de alto custo tem sua disponibilidade restrita na veterinária. Em mulheres tem sido utilizada como adjuvante à outras técnicas diagnósticas do tumor de mama ( Zeri et a., 2006; Lehman et al., 2007)

### **Broncoscopia e Toracoscopia**

A broncoscopia e a toracoscopia são exames complementares de grande importância, que podem ser utilizados no estadiamento torácico de cadelas para elucidar diagnósticos diferenciais, permitem a visualização direta das vias aéreas como também a coleta de amostras (lavado broncoalveolar, biópsia aspirativa com agulha fina, biópsia incisional) para análise laboratorial (Johnson, 2001; Basso *et.al.*, 2008).

Por meio do diagnóstico por imagem nem sempre se pode obter um diagnóstico. Processos infecciosos, parasitários, inflamatórios não infecciosos, alérgicos e neoplásicos no pulmão podem exibir o mesmo padrão de alteração. Por isso amostras pulmonares podem ser obtidas para conseguir um diagnóstico definitivo (Hawkins, 1999; Melchert, 2008; Reneiro e Cohn, 2007; Samii, 2008; Thrall, 2013).

Por meio da broncoscopia pode ser realizado o lavado broncoalveolar, que é um método rápido, prático e de baixo custo utilizado para examinar as vias aéreas distais, devido sua eficácia na avaliação do meio celular, dentro de um segmento de brônquio, bronquíolos e alvéolos. Na indisponibilidade de um broncoscópio pode-se obter o lavado broncoalveolar por meio de tubo endotraqueal (Andreasen, 2003; Basso et. al. 2008;). Análise citológica do fluido recuperado deve ser feita cuidadosamente buscando-se evidências de ativação macrofágica, reatividade linfocítica, degeneração neutrofílica e critérios de malignidade. Culturas bacteriana e

fúngica e demais análises podem ser feitas para obter mais resultados. (English *et.al.*, 2009; Hirt *et.al.*2010).

O lavado broncoalveolar como ferramenta diagnóstica em tumores pulmonares metastáticos da mama foi citado por Fernandez *et.al.* (2002) e por Ohnishi e colaboradores em mulheres (2009), embora tenha sido mais utilizado no diagnóstico dos tumores pulmonares primários (Ferian *et.al.*, 2006; Lee *et.al.*, 2007; Khan e Din, 2009).

A colheita de material para biópsia pulmonar pode ser efetuada por meio de broncoscopia flexível ou por toracoscopia que permite a obtenção de maiores amostras de tecido pulmonar, o tecido coletado deve ser fixado em formalina para posterior avaliação histopatológica (Basso *et.al.*, 2008; Silverstein e Dobratz, 2013).

### **Medicina Nuclear**

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) é muito utilizada em pesquisas oncológicas e na aplicação clínica em pessoas. Desempenha um papel importante no diagnóstico, estadiamento, planejamento do tratamento e monitoramento do paciente oncológico. O análogo da glicose 18-F- fluorodeoxyglicose é o marcador mais utilizado. A PET pode ser usada em combinação em a TC e com RM, aumentando a especificidade na identificação de tumores (Hansen *et al.*, 2011; Forest e Kraft, 2013).

O número de estudos sobre a PET na veterinária vem crescendo, apesar de ter sua utilização bastante restrita devido ao alto custo dos equipamentos e do exame. É um exame promissor, mais sensível na detecção de malignidades, promove estadiamento mais completo e pode ser útil no acompanhamento do tratamento e involução da doença neoplásica (Lawrence *et al.*, 2010).

Estudo realizado por Schirrmeister et al.( 2001) demonstrou que a sensibilidade em detectar lesões malignas na mama de mulheres foi de 93% e especificidade de 75%, também indicou maior sensibilidade na detecção de linfonodos metastáticos e metástases a distância que os métodos convencionais. Muitos outros estudos como o de Schelling et al.(2000), de Kuma et al. (2005) e de Rosen et al. (2007) relatam a utilização da PET no diagnóstico e acompanhamento do tratamento do tumor de mama em mulheres.

A Cintilografia também é um método diagnóstico que utiliza marcadores, o principal é o tc99m (tecnécio 99 meta- estável). É um exame sensível para a detecção de lesões, mas de baixa especificidade quanto à etiologia. Lesões malignas e benignas podem ter aparência similar pelo exame (Forest e Kraft, 2013).

Apesar de estudos apresentaram alta sensibilidade (100%) e especificidade (80%) na pesquisa de tumores de mama em mulheres por meio da cintilografia esse método diagnóstico não tem sido muito utilizado, devido o avanço de outras técnicas de menor custo (Aldea et al., 2000).

A maioria dos estudos na oncologia veterinária fazem o uso da cintilografia na detecção de osteossarcoma e suas metástases ( forrest et al., 1994; Flibman et al., 2001; Jankowski et al., 2003).

### **Termografia**

A termografia infravermelha é um exame diagnóstico por imagem, que afere a temperatura superficial de um corpo ou objeto por meio da emissão de calor pelo mesmo. É um exame de rápida realização, não invasivo, indolor, sem envolvimento de radiação ou necessidade de contraste (Nunes et al.,2007; Y-K, 2009; Wang et al., 2010).

Na mamografia, ressonância magnética, ultrassonografia e na citologia o diagnóstico é baseado nas mudanças anatômicas da mama e podem levar anos para o tumor crescer até um tamanho suficiente para ser detectado por esses métodos. Em vez de mudanças anatômicas, na termografia o diagnóstico é baseado nas variações de temperatura relacionadas às modificações do fluxo sanguíneo e do metabolismo das células mamárias afetadas (Keer et al., 2004; Kennedy et al., 2009).

Segundo Keyserkingk e colaboradores (2000) o tamanho médio de detecção tumoral por meio da mamografia é de 1,66 cm enquanto da termografia é de 1,28 cm.

Achados anormais na termografia de mama são considerados fator de risco e prognóstico, pode ser ainda um diagnóstico diferencial para identificação do tumor benigno e maligno. (Gantherie et al., 1980; Ohsumi et al., 2002; Wang et al., 2010). São considerados sinais de malignidade na termografia a assimetria térmica entre mamas contralaterais, hipertermia localizada (a partir de 2°C) ou generalizada (a partir de 1°C) e alterações do entorno da massa (Avello, 1988; Kennedy et al., 2009). Segundo Kirubha et al. (2012) temperatura menores que 0,1°C podem ser aferidas em estágios iniciais do tumor.

## **BIOLOGIA MOLECULAR**

Os estudos da biologia molecular do tumor de mama em mulheres têm corroborado no entendimento e avanço de estudos sobre os tumores mamários em cães. Recentes avanços na biologia molecular para cães, incluindo a descoberta completa do genoma canino, pequenas matrizes de cDNA e as análises

proteômicas aumentaram drasticamente a compreensão deste grupo de tumores. Níveis de expressão aberrante de várias classes funcionais de genes incluindo mediadores de apoptose, sistemas de reparo do DNA, proto-oncogenes, supressores tumorais, moléculas de adesão celular, COX2 e o processo de angiogênese são mecanismos que ocorrem no desenvolvimento do tumor mamário em cadelas, e estes genes e as proteínas que eles codificam podem representar novos potenciais alvos terapêuticos, além de auxiliarem na determinação do prognóstico do paciente (Klopfleisch et al., 2011; Rivera e Euler, 2011; Matos et al., 2012).

## **CONCLUSÃO**

Diversos exames podem ser utilizados no diagnóstico e estadiamento do tumor de mama em cadelas. Ao contrário do que em mulheres, nas cadelas, as modalidades de imagem são mais utilizadas para detecção de metástases do que para o diagnóstico do tumor primário. A associação das diversas modalidades diagnósticas promove um diagnóstico mais acurado favorecendo tratamento adequado e facilitada determinação de um prognóstico.

## REFERÊNCIAS

- ALDEA, M.J; ONOFRIESCU, M; BRANISTEANU, I; BENDESCU, M; DOCAN, L; RUSU, M; NAUM, G; BOSTACA, T. Scintigraphy in breast cancer **Revista medico-chirurgicala a societatii de medici si natualisti din iasi** v.104, n.3, p.143-149, 2000.
- ALISSON R. W. e MADDUX J.M. Tecido Glandular subcutâneo: mamário, salivar, tireóide e paratireoide. In: COWELL R.L. *et.al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009.p.112-117.
- ANDRADE, F.; FIGUEIRO, F.C.; BERSANO, P.R.; BISSACOT, D.Z.; OCHA, N.S. Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants **Diagnostic Pathology** 05h45min, 2010.
- ANDREASEN, C.B. Bronchoalveolar Lavage **the Veterinary Clinics – Small Animal Practice** v.33 p.69-88, 2003.
- AVELLO, E. Diagnóstico Termográfico **Universidad de Oviedo** v.2, p.93-98, 1988.
- BAEZ, J. L.; SORENMO, K. U. Pulmonary and bronchial neoplasia. In: KING L. G. **Respiratory disease in dogs and cats**. Saint Louis: Saunders, 2004. p. 508-515.
- BASSO, P.C.; BARCELLO, H.H. A; BRUN, M.V.; RODRIGUEZ, L.B.; BORTOLINI, C.E.; MELATTI, L.; NETO, J.F.S.; BASTIANI, P.V.; VALLER, S.F.; SANTOS, L.R. Lavado traqueobrônquico auxiliado por endoscópio rígido ou por tubo endotraqueal em cães **Ciência Rural** v.38 n.3 p723-728, 2008.
- BARCELLOS, M. Radiologia do câncer de pulmão **Journal Pneumology** v.28 p.94-99, 2002.
- BASAN, M.; RISLER, T.; FRANÇOIS, J.; SASTRE-GARAU, X.; PROST, J. Homeostatic competition drives tumor growth and metastasis nucleation **HFSP Journal** v.3 n.4 p.265-272, 2009.
- BERG,W.A.;BLUME,J.D.; CORMACK,J.B.; MENDELSON,E.B. Operator dependence of physician-performed whole-breast US: lesion detection and characterization **Radiology** v.241,n.2, p.355-365, 2006.
- BILLER D.S. Imaging of the Oncology Patient. In: ROSENTHAL R.C. **Veterinary Oncology Secrets**. Philadelphia: Hanley & Belgus, 2001.p.43-50.
- CASSALI, G.D.; GOBBI, H., MALM, C., SCHMITT, F. Evaluation of accuracy of needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours **Cytopathology** v. 18, p. 191-198, 2007.
- CASSALI G.D., LAVALLE G.E., DE NARDI A.B., FERREIRA E., *et.al.* Consensus for diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumours **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, p. 153-180, 2011
- CAVALCANTI, M.F. **Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológica dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de Nottingham**. 2006, 106f. Mestrado. Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

CLEMENTE,M.; PEREZ-ALENZA, M.D.; PENA, L. Metastasis of Canine Inflammatory versus non-inflammatory mammary tumours **Journal Comparative Pathology** v.143, p. 157-163.

D'ANJOU M.A. Principles of Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging In: THRALL, D.C. **Textbook of veterinary diagnostic radiology** 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2013. P. 50-73.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; ROCHA, N.S.; FERNANDES, S.C. Neoplasias Mamárias In: DALECK, C.R., DE NARDI, A.B., RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2008, p. 372-393.

ELSTON, C.W.; ELLIS, I.O. Assessment of histological grade in: \_\_\_\_\_ Systemic Pathology. The Breast. London: Churchill Livingstone, 1998, p. 365-384.

ENGLISH K., COWELL R.L., TYLER R.D., MEINKOTH J.H Lavados Transtraqueal e Broncoalveolar In: In: COWELL R.L. *et.al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009.p.256-276.

FELICIANO,M.A.R.;VICENTE,W.R.R.; NEPOMUCENO,A.C. Ultrassonografia na diferenciação da neoplasia mamária em cadelas **Veterinaria e Zootecnia** v.19,sup.1, p.43-46,2012.

FERIAN, P.E.; SILVA, E.F.; GUEDES, R.C.; TORRES, R.C.S. Diagnóstico citológico de neoplasia pulmonar por meio de lavado broncoalveolar em uma cadela: relato de caso **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58 n.5 p.776-780, 2006.

FERNANDEZ A. *et.al.* Diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão **Jornal de Pneumologia** vol.28 n.4, 2002.

FERREIRA, E; BREGUNCI, G.C.; SCHMITT, F.C.; CASSALI, G.D. Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.55, p. 105-109, 2003.

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

FOREST, L.J.; KRAFT, S. Imaging in Oncology in: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsevier, 2013, p. 98-110.

FRANGIONI, J.V. New technologies for human cancer imaging **Journal of Clinical Oncology** v.26, n.24, 2008.

FRIEDRICH, K.R.; YOUNG, K.M. Diagnostic cytopathology in clinical Oncology In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsevier, 2013, p. 111-130.

GAUTHERIE, M.; GROS, C.M. Breast thermography and cancer risk prediction **Cancer** v. 45, p. 51-56, 1980.

HANSEN,A.E.; McEVOY,F.; ENGELHOLM,S.A.; LAW,I.; KRISTENSEN,A.T. FDG PET/CT Imaging in canine cancer patients **Veterinary Radiology & Ultrasound** v.52,n.2, p.201-206, 2011.

HAWKINS E.C., BERRY C.R. Use of a modified stomach tube for bronchoalveolar lavage in dogs **Journal American Veterinary Medical Association**, p.1635-1639, 1999.

HIRT R.A. *et.al.* Influence of the collection and oxygenation method on quantitative bacterial composition in Bronchoalveolar lavage fluid samples from healthy dogs **The Veterinary Journal** 184, p. 77–82, 2010.

HEDLUND C.S. Cirurgias do Sistema Reprodutivo e Genital In: FOSSUM T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2005.p.610-672.

IM, K.S.; KIM,N.H.;LIM,H.Y.;KIM,J.H.;SUR,J.H.; Breed-related differences in altered BRCA 1 expression, phenotype and subtype in malignant canine mammary tumor **The Veterinary Journal** xx,xx, 2012.

JANKOWSKI,M.K.; STEYN,P.F.; LANA,S.E.; DERNELL,W.S.; BLOM,C.M.; UHRIG,J.L.; LAFFERTY,M.; WITHROW,S.J. NUCLEAR SCANNING WITH <sup>99m</sup>Tc-HDP FOR THE INITIAL EVALUATION OF OSSEOUS METASTASIS IN CANINE OSTEOSARCOMA **VETERINARY AND COMPARATIVE ONCOLOGY** V.1, N.3, P.152-158, 2003.

JOHNSON L. Small Animal Bronchoscopy **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** v.31, n.4, p. 691-795, 2001.

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, n.4., p.246-252, 2005.

KEER, J. Review of the effectiveness of infrared thermal imaging (thermography) for population screening and diagnostic testing of breast cancer **NZHTA Tech Brief Series** v.3, n.3, 2004.

KENNEDY, D.; LEE, T.; SEELY, D. A comparative review of thermography as a breast screening technique **Integrative Cancer Therapies** v.8, n.1, p 9-16, 2009.

KEYSERLINGK, J.R.; AHLGREN, P.D; YU, E.; BELLIVEAU, N.; YASSA, M. Functional infrared imaging of the breast. **Engineering in Medicine and Biology Magazine** v.19. p. 30-41, 2000.

KIRUBHA, S.P.A.; ANBURAJAN, M.; VENKATARAMAN, B.; AKILA, R.; SHARATH, D.; RAJ, B. Evaluation of mammary cancer in 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-Induced Wister Rats by Asymmetrical Temperature Distributionanalysis Using Thermography: A comparison with serum CEA Levels and Histopathology **Journal of Biomedicine and Biotechnology** , v. 2012, 11 pages, 2012.

KOPFLEISCH, R., LENZE, D.; HUMMEL,M.; GRUBER,A.D. Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles **BMC Cancer** 10:618, 2010

KOPFLEISCH, R.; EULER,H.V.; SARLI, G.; PINHO, S.S.; GARTNER, F.; GRUBER, A.D. Molecular Carcinogenesis of Canine Mammary tumors: News from an old disease **Veterinary Pathology** v.48,n.1, p.98-116, 2011.

KHAN R.S., DIN R.U. Malignant lung tumors: efficacy of bronchial wash cytology and its correlation with biopsy in diagnosis **Professional Med Journal**, p. 187-191, 2009

KUMA,R.; LOVING,V.A.; CHAUHAN,A.; ZHUANG,H.; MITCHELL,S.; ALAVI,A. Potencial of Dual time point imaging to improve breast cancer diagnosis with F-FDG PET **The Journal of Nuclear Medicine** v.46,n.11, p.1819-1825, 2005.

- LAMB, C. R. The canine and feline lung. In: THRALL, D. E. **Text book of veterinary diagnostic radiology** 4.ed. Philadelphia: Saunders, 2002. p. 431-447.
- LANGLEY R.R. e FIDLER I.J. The seed and soil hypothesis revisited – the role of tumor stroma interactions in metastasis to different organs **International Journal of Cancer**, p. 2527-2535, 2011.
- LAWRENCE,J.; ROHREN,E.;PROVENZALE,J. PET/CT today and tomorrow in veterinary cancer diagnosis and monitoring: fundamentals, early results and future perspectives **Veterinary comparative Oncology** v.8,n.3, p.163-187, 2010.
- LEE H.S., KWON S.Y., KIM D.K., YOON H.I., LEE S-M., LEE J.H., YIM J.J. Determinants of diagnostic bronchial washing in peripheral lung cancers **Int J tuberc Lung Dis**, p. 227-232, 2007.
- LEHMAN,C.D.; GATSONIS,C.; KUHL,C.; HENDRICK,R.E.; PISANO,E.D.; HANNA,L.; PEACOCK,S.; SMAZAL,S.F.; MAKI,D.D.; JULIAN,T.B.; DePERI,E.R.; BLUEMKE,D.A.;SCHNALL,M.D.; MRI Evaluation of the contralateral breast women with recently diagnosed breast cancer **The new England journal of medicine** v.356, n.13,p.1295-1303, 2007.
- LEIBMAN, N.F.; KUNTZ,C.A.; STEYN,P.F.; FETTMAN,M.J.; POWERES,B.E.; WITHROW,S.J.; DERNELL,W. **ACCURACY OF RADIOGRAPHY, NUCLEAR SCINTIGRAPHY, AND HISTOPATHOLOGY FOR DETERMINING THE PROXIMAL EXTENT OF DISTAL RADIUS OSTEOSARCOMA IN DOGS VETERINARY SURGERY** V. 30, N.3, P.240-245, 2001
- LORUSSO G. e RUEGG C. New insights into the mechanisms of organ-specific breast cancer metastasis **Seminars in Cancer Biology**, 2012
- MAI,W.;OBRIEN,R.O.; SCRIVANI,P.; PORAT-MOSENCO,Y.; TOBIN,E.;SEILER, G.; McCONNEL,F.;SCHAWRZ,T.; ZWINGENBERGER,A. The lung parenchyma In: SCHAWARZ,T. e JOHNSON,V. **BSVA Manual of canine and feline thoracic imaging** British small animal association, 2008, p.242-320.
- MARCONATO, L.; ROMANELLI,G.; STEFANELLO,D.;GIACOBONI,C.; BONFANTI, U.; BETTINI, G.; FINOTELLO,R.; VERGANTI,S.; VALENTI, P.; CIARAMELLA, L.; ZINI,E. Prognostic Factors for dogs with mammary Inflammatory carcinoma: 43 cases (2003-2008) **Journal of American Medical association** v.235, n.8., p.967-972.
- MATOS, A.J.F.; BAPTISTA,C.S.;GARTNER,M.F.; RUTTEMAN,G.R. Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: the need for standardized procedures **The Veterinary Journal** v.193, p.24-31, 2012.
- MELCHERT A. *et.al.* Avaliação citológica e microbiológica do lavado broncoalveolar em cães hípidos **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 157-164, jan./mar. 2008.
- MENDES, T.C.; GUIM,T.N.; DIAS,M.C.F.; BONEL-RAPOSO,J.; FERNANDES,C.G. Comparação entre os sistemas histomorfológico e de graduação histológica para classificação prognóstica de tumores mamários em cadelas **Acta Scientiae Veterinariae** v. 35, p.339-345, 2007.
- MERLO D.F, ROSSI L. *et.al.* Cancer Incidence in Pet Dogs: findings of the animal tumor registry of Genova- Italy **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. 976-984, 2008.

MISDORP W., ELSE R.W., HELLMEN E., LIPSCOMB E. Definitions and explanatory notes. Who Histological Classification of mammary tumors of the dog and the cat. Washington: **Armed Forces Institute of Pathology**, 1999, 18-27.

MISDORP W. Tumors of the mammary gland In: MEUTEN D.J. **Tumors in Domestic Animals**. Ames: Blackwell publishing, 2002.p.575-606.

MURAMOTO,C.; STERMAN,F.A.; HAGEN,S.C.F.; PINTO,A.C.B.; OLIVEIRA,C.M.; FAUSTINO,M.; TALIB,M.S.F.; TORRES,L.N. Avaliação ultrassonográfica de linfonodos na pesquisa de metástases de neoplasia mamária em cadelas **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.31,n.11, p. 1006-1013, 2011.

NASCIMENTO, J.H.R., SILVA V.D.; MACIEL,A.C. Acurácia dos achados ultrassonográficos do câncer de mama: correlação da classificação BIR-RADS® e achados histológicos **Radiologia Brasileira** v.42, n.4, p.235-240.

NASTRI, C.O.; MARTINS W.P.;LENHARTE,R.J. Ultrassonografia no rastreamento do câncer de mama **Feminina** v.39, n.2, p.97-102, 2011.

NGUYEN D.X., BOS P.D., MASSGUÉ J., Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization **Nature Reviews**, p. 274-285, 2009.

NUNES, L.A.O.; CAMARGO, A.C.; FILHO, A.; SARTORI, J.L. Câmera Termográfica Nacional **Prática Hospitalar** Ano IX, n. 49, jan/fev, 2007.

OHNISHI H., HARUTA Y., YOKAYANA A., NAKASHIMA T., HATTORI N., KOHNO N. Metastatic Breast Cancer Representing as Air- space consolidation on chest computed tomography **Internacional Medicine**, p. 727-731, 2009

OHSUMI, S.; TAKASHIMA,S. ; AOGI. K. ; USUKI, H. Prognostic value of **thermographical findings in patients with primary breast câncer** **Breast Cancer Research and Treatment** v.74, p. 213–220, 2002.

OTONI *et.al.* Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors **Acta Veterinaria Scandinavica** 52:20, 2010.

OWEN L.N. Classification of tumors of domestic animals. 1ed. **WHO**, Geneva, 1980.

PINTO,A.C.B.; IWASAKI,M.; FIGUEIREDO,C.; CORTOPASSI,S.R.; STERMAN,F.A. Tomografia computadorizada do tórax de cadelas portadoras de neoplasias mamárias malignas – determinação da técnica do exame **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** v.43, n.1., p.95-102, 2006.

QUEIROGA, F.;LOPES,C. Tumores mamários caninos-novas perspectivas **Congresso de Ciências veterinárias**, Oeiras, Anais, p.183-190, 2002.

REINEIRO, C.R.; COHN, L.A. Interstitial lung diseases **Veterinary Clinics Small Animal Practice** v.37, p.937-947, 2007.

RIVERA,P.; EULER,H.V. Molecular Biological Aspects on Canine and Human mammary tumors **Veterinary Pathology** v.48,n.1, p.132-146, 2011.

ROSEN,E.L.; WILLIAM,B.E.; MANKOFF,D.A. FDG PET, PET/CT and breast cancer imaging **RadioGraphics** v.27, p. 215-229, 2007.

SÁ, S.S.; REPETTI, C.S.F. Carcinoma inflamatório canino – revisão de literatura **Acta Veterinaria Brasília** v.5,n.1, p.8-14, 2011.

SAMII V.F. Diagnóstico por Imagem dos Distúrbios Respiratórios In: BICHARD S.J. e SHERDING R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2008.

SCRIVANI P.V. Nontraditional interpretation of Lung Patterns **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** v.39, p.719-732, 2009.

SCHELLING,N.; AVRIL,N.; NOHRIG,J.; KUHN,W.; ROMER,D.; SATTLER, M.; WERNER,J.; DOSE,F.; JANICKE,F.; GRAEFF,H.; SCHWAIGER,M. Positron emission tomography using 18F fluorodeoxyglucose for monitoring primary chemotherapy in breast cancer **Journal of Clinical Oncology** v.18,n.8, 2000.

SILVERSTEIN D.C. e DOBRATZ K.J. Clinical Evaluation of Respiratory Tract In: Ettinger E.J and Feldman E.C. **Veterinary Internal Medicine** Saunders, 2013, p. 1206-1216.

SCHIRRMESTER,H.; KUHN,T.; GUHLMANN,A.; SANTJOHANSER,C.; HORSTER,T.; NUSSLE,K.; KORETZ,K.; GLATTING,G.; RIEBER,A.; KREIENBERG,R Fluorine-18 2-deoxy-2-fluoro-d-glucose PET in the preoperative staging of breast cancer: comparison with the standard staging procedures **European Journal of Nuclear medicine** v.28, n.3, p. 351-358, 2001

SONREMO,K.U; RASOTTO,R.;ZAPPULLI,V.;GOLDSCHMIDT,H. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms **Veterinary Pathology** v.48,n.1, p. 85-97, 2011.

SONREMO, K.U.; WORLEY, D.R.; GOLDSCHMIDT, M.H. Tumors of mammary Gland In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsever, 2013, p. 538-556.

SCHWARZ T. e JOHSON V. Lungs and Brochi In: SCHWARZ T. e SAUNDERS J. **Veterinary Computed Tomography** Wiley-Blackwesle, Iowa, USA, 2011, p. 261-268.

THRALL, D.C. The canine and feline lung. In: \_\_\_\_ **Textbook of veterinary diagnostic radiology** 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2013. p. 608-631.

TOBA,H.; KONDO,K.; OTSUDA,H.; TAKIZAWA,H.; KENZAKI,K.; SAKIYAMA,F.; TANGOKU,K. Diagnosis of the presence of lymph node metastasis and decision of operative indication using fluorodeoxyglucose-positron emission tomography and computed tomography in patients with primary lung cancer **The Journal of Medical Investigation** v.57 p.305-313, 2010.

WANG ET AL.; CHANG K. J.; CHEN C-Y; CHEN K-L; TSAI Y-S; WU Y-M; TENG Y-C; SHIH T. T-F; Evaluation of the diagnostic performance of infrared imaging of the breast: a preliminary study. **BioMedical Engineering** , vol.9, n.3, 2010.

WEISSLEDER, R. Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice **Nature Reviews** v. 2, 2002.

WITHROW S.J., LANA S.E., RUTTEMAN G.R. Tumors of the Mammary Gland In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Saunders, 2007.p.619-636.

Y-K, NG E. A review of thermography as promising non-invasive detection modality for breast tumor **International Journal of thermal Sciences** v. 48, p. 849-859, 2009

ZACCHETTI,A; GARDEREN,E.;RUTTEMAN,G.R. Immunohistochemical evaluation of p53 expression with diferente antibodies in malignant canine tumours with or without p53 gene mutation **Veterinary Comparative Oncology** v.5, p.654-656, 2007.

ZERI,H.R.;URBANETZ,A.A.; FILHO,O.H.R.O.; SILVA,C.S.B.; JUNIOR,E.S.; BUDEL,V.M. Ressonância nuclear magnética no diagnóstico do câncer de mama **Feminina** v.34,n.6., p.389-394, 2006.

ZUCCARI, D.A.P.C.; SANTANA, A.E.; ROCHA, N.S., Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas – revisão **Clínica Veterinária** n.32, p. 50-54, 2001.

ZUCCARI, D.A.P.C.; PAVAM,M.V.; CORDEIRO,J.A.; SANTANA,A.E.; A imuno-expressão das citoqueratinas como marcadores diagnósticos e prognósticos nas neoplasias mamárias caninas **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** v.99, p. 173-178, 2004.

### 3. PESQUISA DE METÁSTASE PULMONAR EM CADELAS COM NEOPLASIA MAMÁRIA POR MEIO DE LAVADO BRONCOALVEOLAR

(Research of mammary metastasis in the lung by bronchoalveolar lavage)

**RESUMO** – O processo metastático depende de um microambiente ideal para o seu crescimento, os tumores de mama fazem metástase principalmente para os pulmões. Apesar de a radiografia ser o método mais utilizado na veterinária para estadiamento do tórax, resultados negativos não excluem a possibilidade de que metástases pulmonares estejam presentes. Com o objetivo de avaliar o uso do lavado broncoalveolar como ferramenta auxiliar para o diagnóstico de neoplasia metastática pulmonar, foram estudadas vinte cadelas saudáveis e trinta cadelas portadoras de neoplasia mamária. A contagem diferencial das células do lavado broncoalveolar apresentou diferença estatística entre grupos ( $p > 0,05^*$ ). Quanto aos critérios de malignidade da citologia do LBA, em apenas uma lâmina foi identificada presença de atipia celular. Conclui-se que o LBA é uma ferramenta segura, de fácil realização, útil na diferenciação da celularidade pulmonar em diferentes situações, mas apresenta baixa sensibilidade na detecção de metástases pulmonares.

**palavras chave:** lavado broncoalveolar, metástase, tumor de mama.

**ABSTRACT** - The metastatic process depends on an optimal microenvironment for growth, mammary tumors metastasize mainly to the lungs. Although radiography is the method most commonly used in veterinary for staging the chest, negative results do not exclude the possibility that pulmonary metastases are present. With the aim to evaluate the use of bronchoalveolar lavage as an auxiliary tool for the diagnosis of neoplastic pulmonary metastases were studied twenty health bitches

and thirty with mammary tumors. The differential cell count of bronchoalveolar lavage fluid showed a statistical difference between groups ( $p > 0.05$ ). The criteria for malignancy in the BAL cytology only one blade were identified with cellular atypia. It is concluded that BAL is a safe tool, easy to perform and useful for the evaluation and differentiation of lungs cytology, but presents low sensitive in detecting lung metastases.

**Key words:** bronchoalveolar lavage, metastasis, mammary tumor

## INTRODUÇÃO

Metástase é um processo ativo, complexo, formado por múltiplas fases; nas quais é necessário que células do tumor primário desprendam-se e cheguem a um microambiente distante adequado para o seu crescimento (Joyce e Pollard, 2009; Basan *et.al.* 2009).

A eficiência do processo metastático depende de interações específicas entre as células tumorais invasoras e o tecido do órgão invadido (Fidler, 2003) esse conceito remete a hipótese “seed and soil” introduzida por Stephen Paget em 1889, no qual a célula metastática (*seed*) precisa ser compatível com o tecido em que irá fixar-se (*soil*), para que ocorra um crescimento ideal (Basan, 2009; Duda et al., 2010; Langley e Fidler, 2011). Por isso, a localização das metástases não acontece de forma aleatória, mas sim em locais previamente selecionados (Lorusso e Ruegg, 2012).

Tumores de mama fazem metástase principalmente para o pulmão e linfonodos regionais; outros locais metastáticos menos comuns são os ossos, fígado, cérebro,

cérebro, rins e glândulas adrenais (Ngwyen et.al., 2009; Kopfleisch et.al., 2010; Langley e Fildler, 2011; Lorusso e Ruegg, 2012).

A densa área vascular da superfície do pulmão torna-o um microambiente atraente para o suporte e desenvolvimento de metástases (Langley e Fildler, 2011). A liberação de fatores prometastáticos como a ativação do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR-1) (Hiratsuka et.al., 2002), a produção de fator estimulante para o aumento da produção de fibronectina pelos fibroblastos do pulmão (Kaplan et.al., 2005) formam juntamente um gradiente quimiotático favorável à implantação de células metastáticas no pulmão (Langley e Fildler, 2011). Além desses estudos, outros vêm sendo conduzidos na medicina para melhor elucidar a associação do tumor de mama com as metástases pulmonares, como a expressão de genes específicos pelo tumor mediando à implantação da metástase (Joyce e Pollard, 2009; Pavelic et.al., 2011; Lorusso e Ruegg, 2012), mas esta expressão ainda não está elucidada nos carcinomas mamários caninos (Kopfleisch, 2010).

A doença metastática continua sendo a condição limitante para a sobrevivência do paciente, o desenvolvimento de um tratamento eficaz para o câncer metastático incluindo o câncer de mama, é um dos maiores desafios da pesquisa clínica e experimental atual (Lorusso e Ruegg, 2012). O prognóstico para os tumores de mama diagnosticados em fase inicial é bom, mas 25 a 50% das cadelas já apresentam micro metástases no momento do diagnóstico (Hedlund, 2005). Oliveira Filho e colaboradores (2010) mostraram que de 120 cadelas necropsiadas com tumor de mama 89,5% apresentavam metástase pulmonar.

Dessa forma, a detecção precoce de metástases continua sendo a chave do sucesso para a terapia e melhora do prognóstico do paciente (De Nardi et.al., 2008; Otoni et.al., 2010; Fan et.al., 2012).

Cadelas portadoras de tumor mamário são rotina diária na clínica veterinária, representam aproximadamente 70% de todas as neoplasias que as acometem (De Nardi et al., 2002; Withrow et al., 2007; Merlo et al., 2008; Green et al., 2009; Cassali et al., 2011; Sonremo et al., 2013), e mais de 50% são neoplasias malignas, sendo a grande maioria de origem epitelial, carcinomas (Philibert, 2001; Mendes et al., 2007; Daleck et al., 2009; Allison et al., 2009).

A radiografia é o método de diagnóstico por imagem mais utilizada na veterinária para o estadiamento torácico do paciente oncológico, apesar de que, achados radiográficos negativos não excluem a possibilidade de que metástases pulmonares estejam presentes, lesões menores que 5mm de diâmetro podem não ser visíveis. (Lamb, 2002; Nemamic et al., 2006; Thrall, 2013).

Além disso, processos infecciosos, parasitários, inflamatórios não infecciosos, alérgicos e neoplásicos no pulmão podem exibir o mesmo padrão de alteração radiográfica, dificultando o diagnóstico definitivo (Hawkins, 1999; Melchert, 2003; Reneiro e Cohn, 2007; Samii, 2008; Thrall, 2013).

Dessa maneira, a avaliação citológica pulmonar pode fornecer informações mais específicas sobre a enfermidade presente (Basso et al. 2008; Hawakins et al. 2006; Melchert et al. 2008; Barçante et al. 2008; Hirt, 2010; Ribas et al. 2010).

O lavado broncoalveolar (LBA) é um método rápido, prático e de baixo custo usado para examinar as vias aéreas distais, devido à sua eficácia na avaliação do ambiente celular dentro de um segmento de brônquios, bronquíolos e alvéolos (Andreasen, 2003; English k. et al., 2009).

Sob estas circunstâncias o lavado broncoalveolar foi proposto neste estudo como técnica diagnóstica complementar no estadiamento da neoplasia pulmonar

metastática com o objetivo de avaliar a acurácia do teste e descrever as alterações citológicas se encontradas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram estudadas cinquenta cadelas, de raças e idades variadas, sendo vinte saudáveis (grupo controle- G1), com idade média de 8 anos e trinta cadelas portadoras de tumor de mama, estas foram divididas em dois grupos, sendo vinte cadelas sem sinais sugestivos de metástase ao exame radiográfico (grupo tumor – G2) , com idade média de 10 anos e dez cadelas com sinais sugestivos de metástase ao exame radiográfico (grupo metástase – G3) com idade média de 9 anos. Exame físico e exames laboratoriais foram realizados em todos os animais, sendo avaliados: frequência respiratória, frequência cardíaca, tempo de preenchimento capilar, linfonodos, coloração de mucosas, temperatura retal, estado de hidratação e estadiamento do tumor (quando presente), dos exames laboratoriais foram requeridos hemograma e bioquímicos (fosfatase alcalina, alanina-aminotransferase, uréia, creatinina). Todos os animais realizaram radiografia torácica. Como critérios de inclusão, todos os animais deveriam apresentar peso maior de 3Kg, os animais do grupo controle deveriam apresentar exame radiográfico do tórax sem alteração, ausência de tumores de mama e ausência de qualquer anormalidade em exame físico ou laboratoriais. Para os grupos tumor (G2) e grupo metástase (G3) os pacientes deveriam apresentar tumor de mama maior que 3cm de diâmetro ou múltiplos tumores e para a inclusão no grupo G3 os pacientes deveriam apresentar sinais sugestivos de metástase ao exame radiográfico.

A radiografia torácica foi realizada nas incidências ventrodorsal e lateral (recumbência direita e esquerda) em todas as cadelas. Em 35 animais foi realizada radiografia analógica com o aparelho Neo- Diagnomax. ZB-1 (Medicor Budapest<sup>®</sup> - Hungaria) e nas 15 demais foi realizado radiografia digital com o aparelho CR 30-X AGFA (AGFA Healthcare<sup>®</sup> - Bélgica).

Para a lavagem broncoalveolar o animal recebeu sedação (meperidina 5mg/Kg) seguida de indução anestésica com propofol 4mg/Kg EV. Após posicionamento do paciente em decúbito lateral e oxigenação a 100% por um período de cinco (5) minutos, uma sonda para alimentação enteral siliconada estéril adaptada pela remoção da extremidade metálica (nº12) foi inserida no interior do traqueotubo, até encontrar resistência, a seguir foram infundidos 20 ml de solução fisiológica 0,9% e 5 ml de ar para evitar resquícios da solução na sonda (Ribas R.C. et.al., 2010) . Imediatamente a solução infundida foi aspirada por sucção em seringa estéril devidamente identificada. Durante o procedimento pressão arterial, frequência cardíaca e saturação de oxigênio à pulso-oximetria foram monitorados. Concluída a aspiração da amostra, os animais com tumor de mama foram mantidos anestesiados (propofol 0,2mg/Kg e remifentanil 10mcg/Kg/h) para realização de mastectomia.

O conteúdo do lavado bronco alveolar foi encaminhado devidamente armazenado em isopor com gelo, logo após a coleta, para análise em laboratório.

Para análise laboratorial características macroscópicas como aspecto e coloração e microscópicas quanto à quantidade e qualidade das células foram realizadas. A contagem das células nucleadas e eritrócitos foram feitas na câmara de Neubauer. Do conteúdo foi separado 1mililitro (mL) para processamento em citocentrífuga (1500rpm, 5min), a lâmina produzida foi corada com corante tipo romanowsky – papanicolaou (Cowell *et al.*, 2009); após esse processamento foi

realizada diferenciação celular de um total de quatrocentas células diferenciando macrófagos alveolares, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e macrófagos alveolares espumosos. Avaliou-se como análise descritiva a presença de muco e células epiteliais cuboides e colunares, sendo classificado em grau 0- ausente grau 1- pouco, grau 2- moderado e grau 3- grande quantidade. Ainda foi observada a porcentagem de neutrófilos hipersegmentados e macrófagos multinucleados. Quanto aos critérios de malignidade foram avaliados presença de anisocitose, hiper celularidade, pleomorfismo e critérios nucleares como macrocariose. Considerou-se ainda aumento na relação núcleo:citoplasma, multinucleação, anisocariose, aumento de figuras de mitose, amoldamento nuclear, macronúcleolos e cromatina grosseira.

Ao final do processamento laboratorial foi realizada a comparação da citologia entre os três grupos do LBA e o resultado de cada lâmina citológica foi relacionado aos resultados radiográficos encontrados. O estudo foi duplo cego, sendo a leitura dos filmes radiográficos feita por um radiologista experiente e um radiologista em treinamento, os mesmos assinalaram 0 – ausência de metástase, 1- suspeita de metástase e 2 – presença de metástase.

As mamas retiradas na mastectomia foram imersas em formalina 10% e encaminhadas para confecção de lâminas histológicas, coradas com hematoxilina eosina. A leitura das lâminas de lavado broncoalveolar foi realizada por dois patologista experientes, sendo assinalada a- ausência de malignidade celular e b- presença de malignidade celular. Dos pacientes que vieram a óbito durante o estudo (n=6), foi realizada necropsia em quatro cadelas.

Para evidenciar relações estatísticas entre a citologia do lavado broncoalveolar entre os três grupos foi utilizado o teste de ANOVA, com pós teste de Tukey

( $p < 0,05$ ). Para determinação da precisão do lavado broncoalveolar os testes de sensibilidade e especificidade foram realizados. O programa estatístico utilizado foi o *Graphpad prism v.5*.

Este trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/SCA protocolo 049/2011.

## RESULTADOS

Dentre as trinta cadelas com tumor de mama (G2 e G3), 30 % eram ovariectomizadas e 80% apresentava múltiplas nodulações (> 5 cm), sendo ulceradas em todos os pacientes do grupo metástase (G3)(10/10) e em quatro pacientes do grupo tumor (G2)(4/20).

No exame citológico realizado por biópsia aspirativa com agulha fina, vinte e três cadelas receberam diagnóstico sugestivo de neoplasia epitelial maligna de mama, as demais (n=7) receberam laudo inconclusivo. Uma cadela do grupo tumor e três do grupo metástase apresentavam neoplasia epitelial maligna metastática em linfonodo poplíteo.

Os exames laboratoriais (hemograma e bioquímicos) estavam dentro dos valores de referência (Kaneko et al., 2008) e não houve diferença estatística entre os grupos.

Na radiografia torácica, não foram observadas anormalidades nos pacientes do grupo controle nem nos pacientes do grupo tumor (G2), nas cadelas do grupo metástase, oito apresentavam sinais sugestivos de doença metastática, apresentando padrão intersticial com presença de múltiplas estruturas circulares com margens definidas e com radiopacidade de tecidos moles (Figura 3.1), duas

receberam laudo de suspeita para metástase, uma apresentava padrão intersticial difuso e outra padrão bronquial difuso sendo mais severo em lobos caudais.

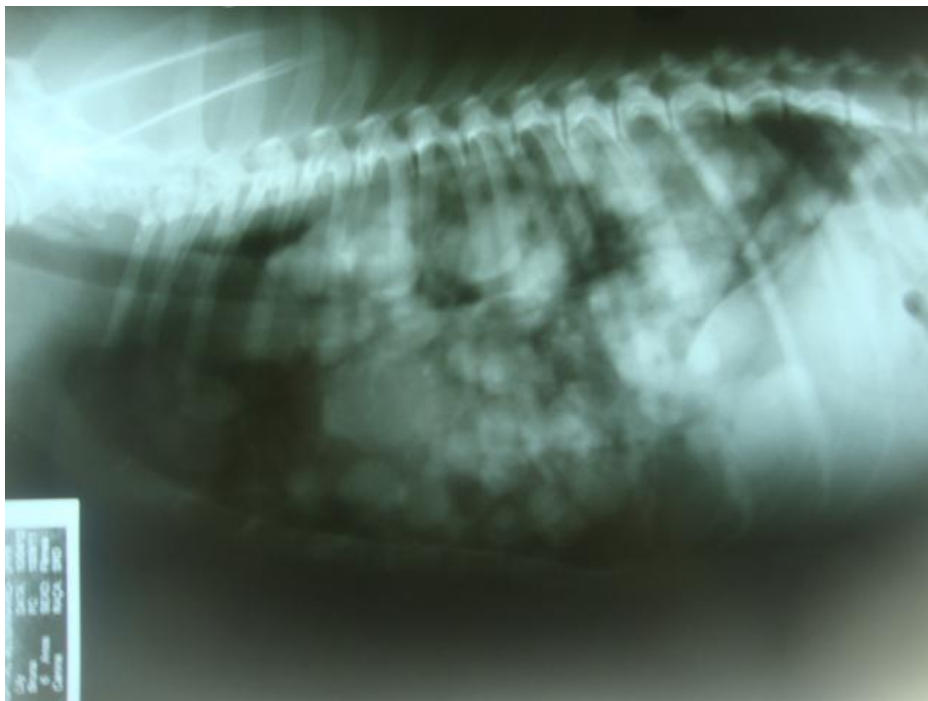


Figura 3.1 – Imagem radiográfica de tórax incidência lateral esquerda, de cadela SRD, 9 anos, apresentando padrão intersticial nodular sugestivo de metástase pulmonar de tumor de mama.

Do lavado broncoalveolar, o volume médio recuperado foi  $6,75 \pm 0,576$  mL para todos os grupos. Nenhum dos animais apresentou complicações após a realização do lavado broncoalveolar. O tempo médio entre a coleta do material até o seu processamento em laboratório foi de duas horas. Na análise macroscópica do líquido coletado, todas as amostras apresentavam-se turvas e espumosas, quanto a coloração as amostras do grupo G1 e G2 eram esbranquiçadas enquanto as do grupo metástase eram rosadas. Na contagem na câmara de Neubauer não foi encontrado diferença estatística entre os grupos na contagem de nucleados e eritrócitos.

A contagem diferencial de macrófagos alveolares, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos alveolares espumosos diferiram significativamente entre grupos ( $p < 0,05$ ). A avaliação da contagem diferencial de células está demonstrada na tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Média da contagem diferencial celular da citologia do lavado broncoalveolar, sendo que letras diferentes representam diferença entre os grupos\* ( $P < 0,05$ ).

Tipo Celular	Contagem diferencial (%)		
	Grupo 1 (n=20)	Grupo 2 (n=20)	Grupo 3 (n=10)
Macrófagos Alveolares	56,64±12,20 <sup>a</sup>	56,54±17,81 <sup>a</sup>	38,87±17,75 <sup>b*</sup>
Neutrófilos	14,77±8,78 <sup>a</sup>	21,67±15,59 <sup>a</sup>	46,99±21,03 <sup>b*</sup>
Linfócitos	15,39±6,46 <sup>a</sup>	16,53±12,29 <sup>a</sup>	7,44±6,17 <sup>b*</sup>
Eosinófilos	0,58±0,75 <sup>b*</sup>	0,05±0,15 <sup>a</sup>	0,07±0,16 <sup>a</sup>
Macrófagos alveolar espumoso	12,52±8,28 <sup>b*</sup>	5,54±6,43 <sup>a</sup>	6,48±3,62 <sup>a</sup>

A avaliação descritiva da quantidade de muco e macrófagos multinucleados não diferiu estatisticamente entre grupos. Tendo como escore médio 2 para muco, o que equivale a presença moderada de muco e score médio de 1 para macrófagos multinucleados, equivalente a poucos encontrados. Já os neutrófilos hipersegmentados foram identificados em grande quantidade nos animais pertencentes ao grupo metástase ( $p > 0,05$ ).

Quanto aos critérios de malignidade, apenas uma lâmina do grupo tumor (G2) recebeu laudo positivo. Apresentava blocos de células poligonais coesos com

moderado pleomorfismo celular, relação núcleo:citoplasma 1:3, raros nucléolos evidentes, frequente número de células binucleadas, presença de morfologia celular semelhante a ácinos, sugerindo presença de metástase pulmonar em um animal do grupo 2 (Figura 3.2 e 3.3) O lavado broncoalveolar foi realizado pela segunda vez após 9 meses e a paciente recebeu laudo positivo para metástase novamente e só foi identificada como positiva no exame radiográfico 18 meses após a realização do primeiro lavado broncoalveolar. A análise histopatológica da cadeia mamária desse animal foi de adenocarcinoma complexo com áreas de tumor misto. Durante o período do estudo foi realizado eutanásia neste animal e a suspeita de metástase foi confirmada por meio do exame histopatológico do pulmão que confirmou a presença de células neoplásicas com características de células de tecido mamário neoplásico (Figura 3.4).

Em relação à metástase pulmonar, uma cadela foi positiva no lavado broncoalveolar, mas as outras 10 que foram identificadas 8 como positivas e 2 como suspeitas pela radiografia não foram identificadas no lavado, dessa forma, tendo a radiografia torácica como padrão ouro, a sensibilidade do teste é baixa (9 %). Já a especificidade do teste é alta (100%), pois uma vez que alterações de malignidade são vistas o paciente é considerado positivo para neoplasia maligna.

Na análise histopatológica das 30 cadeias mamárias ressecadas cirurgicamente, foi encontrado adenocarcinoma papilífero cístico (n=12), adenocarcinoma papilífero cístico com áreas de tumor misto (n=5), adenocarcinoma sólido (n=4), adenocarcinoma complexo (n=3), carcinosarcoma (n=2), adenocarcinoma tubular (n=2), adenocarcinoma sólido a cístico (n=2).

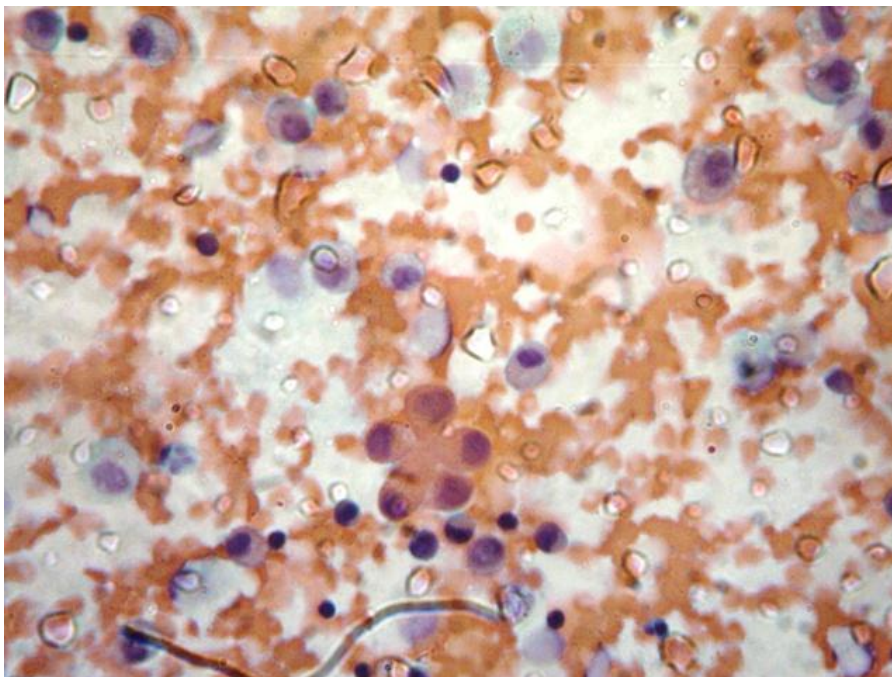


Figura 3.2 – Citologia de lavado broncoalveolar de cadela da raça Cocker de 11 anos, portadora de tumor de mama, apresentando atipia celular, sugestivo de metástase (Objetiva 40 X).

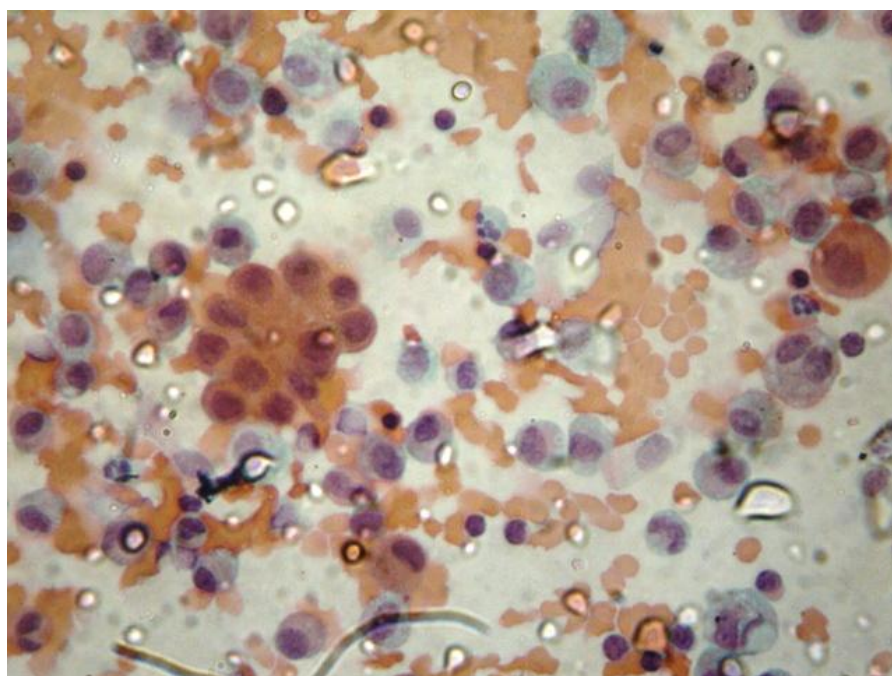


Figura 3.3 – Citologia de lavado broncoalveolar de cadela da raça Cocker de 11 anos, portadora de neoplasia mamária, apresentando atipia celular, sugestivo de metástase (Objetiva 40 X).

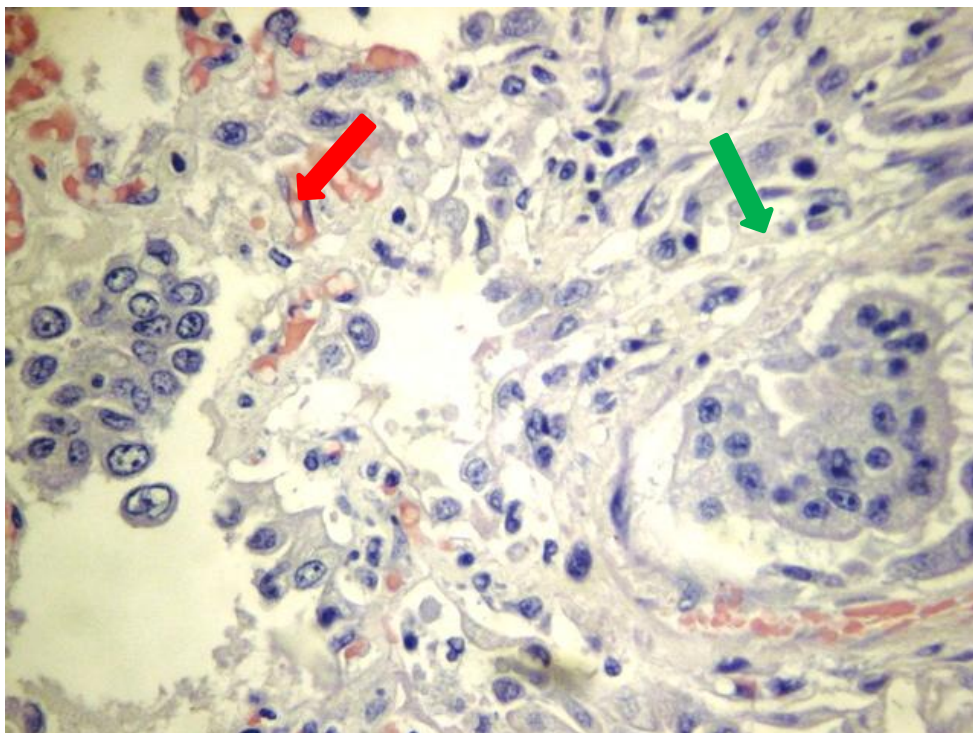


Figura 3.4 – Imagem de corte histopatológico pulmonar de cadela Cocker de 12 anos, portadora de neoplasia mamária, apresentando metástase. Seta vermelha aponta alvéolo infiltrado por células neoplásicas metastáticas. Seta verde aponta vaso sanguíneo infiltrado por células neoplásicas metastáticas.

Durante o período do estudo foi realizada eutanásia em seis cadelas. Em apenas 4 foi permitida a necropsia, as mesmas pertenciam ao grupo 3. Dos achados referentes a metástase foram encontradas: pulmonar difusa (n=4), bexiga (n=1), rim (n=1), endocárdio (n=1), adrenal (n=1) e linfonodos adjacentes (n=3).

## DISCUSSÃO

Nesse estudo a maioria das cadelas com tumor de mama não eram castradas, como citado por diversos autores (Fonseca e Daleck, 2000; Hedlund, 2005; De Nardi et al., 2008; Sonremo et al., 2013) a castração tem demonstrado prevenir o

aparecimento do tumor de mama, principalmente quando feita antes do primeiro cio. Mesmo tendo passado por ovariectomia nove cadelas (G2 e G3) apresentavam neoplasia mamária. Haja visto, que é uma enfermidade que envolve diversos fatores de risco e não apenas o envolvimento hormonal e também não é sabido com que idade essas fêmeas foram ovariectomizadas (Allenza et al., 2000; Zuccari et al., 2001; Sonremo et al., 2013).

Das trinta cadelas com tumor mamário, 80% apresentavam múltiplas nodulações e muitos tumores estavam ulcerados, dados relatados como achados de exame físico comuns em cadelas com neoplasia mamária (Hedlund, 2005; De Nardi et al., 2008), além disso, múltiplas nodulações, tumores maiores de três centímetros, ulceração e metástase para linfonodos como também visto nesse estudo são descritos na literatura como fatores que denotam mau prognóstico ao paciente (Alenza et al., 2000; Dagli, 2008; Cassali et al., 2011), dos pacientes com essas características 6 vieram a óbito durante o estudo.

Os achados citológicos tumorais apresentaram resultados semelhantes aos de Zuccari et al. (2001) e de Cassali et al. (2007), vários tumores de mama apresentaram concordância da citologia com a histopatologia.

As alterações radiográficas encontradas nas cadelas do grupo 3 (10/10), como sugestivas de neoplasia pulmonar metastática são compatíveis com os dados descritos na literatura (Lamb, 2002; Soave et al., 2008; Thrall, 2013). Das 30 cadelas com tumor de mama desse estudo, em dez foram identificados sinais sugestivos de metástase pulmonar por meio da radiografia torácica. Apesar desse resultado não se pode excluir a possibilidade de mais animais já apresentarem micro metástases. Para isso seria necessária a utilização de um método de diagnóstico por imagem mais sensível como a tomografia computadorizada como já relatado em cães por

Nenamic et al. (2006) e Otoni et al (2010). A falta do exame tomográfico é considerada uma das limitações do estudo. Além disso, apenas a histopatologia pulmonar pode ser considerada como diagnóstico definitivo para determinar a presença de neoplasia maligna (Cassali et al., 2011).

Segundo Nelson e Couto (2006), o LBA bem sucedido resulta na obtenção de um fluido grosseiramente espumoso, resultado do surfactante dos alvéolos, como encontrado nesse estudo, por outro lado, o volume recuperado foi um pouco inferior ao citado como ideal, o muco encontrado nas amostras pode ter interferido no volume recuperado (Basso et.al., 2008). A realização do LBA se guiado por endoscópio poderia aperfeiçoar a coleta pela nítida visualização das estruturas e posicionamento da sonda no momento da sucção, aumentando o conteúdo recuperado (Andreasen, 2003; Basso et.al., 2008). O tempo de conservação das amostras desde a coleta até o seu processamento seguiu as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2000) que na medicina, estabelece que uma amostra de fluido de lavado broncoalveolar deve ser analisada em no máximo 2 horas para evitar alterações celulares e garantir a confiabilidade do resultado.

Na contagem celular diferencial, os animais do grupo controle apresentaram um maior influxo de eosinófilos e uma maior ativação macrofágica, dado que pode ser relacionado com hipersensibilidade alérgica ou parasitária, apesar desses achados, o valor médio de eosinófilos (0,5%) encontrado nesse estudo está muito abaixo do valor dito como reação de hipersensibilidade (< de 5%) (English et al., 2009), não sendo dessa maneira um dado estatístico clinicamente relevante.

O aumento do número de neutrófilos no lavado broncoalveolar segundo literatura acontece em quase todos os quadros (infecciosos e não infecciosos) que

causam inflamação (Hawkins et.al., 2006), como também descrito por Pavelski et al. (2012) neutrofilia foi encontrada no LBA de cães com pneumonia. Porém nenhum dos animais com neutrofilia no LBA apresentava sinais clínicos ou alterações em hemograma sugestivas de pneumonia. Dessa forma, acredita-se que a neutrofilia apresentada pelas cadelas do grupo metástase pode estar relacionada com a própria presença da neoplasia como citado por Andreasen (2003), pode ainda estar relacionada com a presença de necrose tumoral como citado por English et al. (2009).

O lavado broncoalveolar como ferramenta diagnóstica em tumores pulmonares metastáticos da mama foi citado por Fernandez (2002) e por Ohnishi e colaboradores em mulheres (2009), embora tenha sido mais utilizado no diagnóstico dos tumores pulmonares primários (Ferian et.al., 2006; Lee et.al., 2007; Khan e Din, 2009).

O fato de que apenas um animal foi identificado como positivo para metástase pulmonar por meio do lavado broncoalveolar pode estar relacionado com a localização das neoplasias metastáticas que são geralmente intersticiais, diferente dos tumores pulmonares primários que envolvem a árvore brônquica, portanto tem mais chance de esfoliar células que possam ser coletadas pelo lavado (English et.al., 2009). Na histologia pulmonar da paciente identificada como positiva no lavado broncoalveolar, além de infiltração difusa intersticial foi observado infiltração de alvéolos, vasos e brônquios por células neoplásicas o que propiciou a presença das mesmas no lavado broncoalveolar.

Outra limitação é que a técnica do lavado broncoalveolar nesse estudo foi realizada às cegas, haja visto que se pode lavar o brônquio que não está afetado, causando um resultado falso negativo ( Hawkins e Berry, 1999).

A paciente identificada como positivo para metástase pulmonar teve oportunidade de tratamento e melhora de seu prognóstico devido diagnóstico precoce de doença metastática corroborando com o descrito por Daleck et.al.(2009), Fan et.al.(2012) e Lorusso e Ruegg (2012) sobre a importância do diagnóstico precoce.

Os locais de metástase identificados na necropsia dos quatro pacientes desse estudo corroboram com a literatura que descreve o pulmão, linfonodos, coração, rim, adrenal como os órgãos mais atingidos por metástases de tumor mamário (Oliveira Filho et al., 2010; Lorusso e Ruegg, 2012).

## **CONCLUSÃO**

O lavado broncoalveolar, de acordo com esse estudo, é um exame de fácil realização, sem complicações associadas. É útil para identificação e diferenciação celular pulmonar e aliado a outros exames pode auxiliar no diagnóstico diferencial, devido sua alta especificidade. Quanto à detecção de metástases pulmonares apresentou baixa sensibilidade.

## REFERÊNCIAS

- ALENZA M.D.P., PENA L., CASTILLO N.D., NIETO A.I. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours **Small Animal Practice**, p. 287-291, 2000.
- ALISSON R. W. e MADDUX J.M. Tecido Glandular subcutâneo: mamário, salivar, tireóide e paratireóide. In: COWELL R.L. *et.al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009.p.112-117.
- ANDREASEN,C.B. Bronchoalveolar Lavage **The Veterinary Clinics – Small Animal Practice** v.33 p.69-88, 2003.
- BASSO, P.C.; BARCELLO,H.H.A; BRUN,M.V.; RODRIGUEZ,L.B.; BORTOLINI,C.E.; MELATTI, L.; NETO, J.F.S.; BASTIANI,P.V.; VALLER,S.F.; SANTOS,L.R. Lavado traqueobrônquico auxiliado por endoscópio rígido ou por tubo endotraqueal em cães **Ciência Rural** v.38 n.3 p723-728, 2008.
- BASAN, M.; RISLER,T.; FRANÇOIS,J.; SASTRE-GARAU,X.; PROST,J. Homeostatic competition drives tumor growth and metastasis nucleation **HFSP Journal** v.3 n.4 p.265-272, 2009.
- BARÇANTE, J.P.M.; BARÇANTE,T.A.; RIBEIRO,V.M.; OLIVEIRA-JUNIOR,S.D.; DIAS,S.R.C.; CORREA, D.N.; LIMA, W.S.ET.AL. Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs **Veterinary Parasitology** v.158 p.93-102, 2008.
- CASSALI, G.D.; GOBBI, H., MALM, C., SCHMITT, F. Evaluation of accuracy of needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours **Cytopathology** v. 18, p. 191-198, 2007.
- CASSALI G.D., LAVALLE G.E., DE NARDI A.B., FERREIRA E., *et.al.* Consensus for diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumours **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, p. 153-180, 2011
- CAVALCANTI, M.F. **Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológica dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de Nottingham**. 2006, 106f. Mestrado. Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
- COWELL.R.L., TYLER R.D., MEINKOTH J.H., DENICOLA D. Os pulmões e as estruturas intratorácicas In: \_\_\_\_\_ **Diagnóstico -Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo : MedVet, 2009.p.278-287.
- DAGLI, M.L.Z. The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: A promising outlook. *The Veterinary Journal*, v.177, p.3-5, 2008.
- DE NARDI, A.B.; RODASKI,S.; ROCHA, N.S.; FERNANDES, S.C. Neoplasias Mamárias In: DALECK, C.R., DE NARDI, A.B., RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2008, p. 372-393
- DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.;
- RODIGHERI, S.M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C.H. Prevalência de neoplasias e modalidade de tratamentos em cães, atendidos no Hospital Veterinário da

Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

DUDA,D.G; DUYVERMAN, A.M.M.; KOHNO,M.; SNUDERL,M.; STELLER E.J.; FUKUMURA,D.; JAIN,R.K. Malignant cells facilitate lung metastasis by bringing their own soil **PNAS** v.107 n.50 p. 21677–21682 , 2010.

ENGLISH K., COWELL R.L.,TYLER R.D., MEINKOTH J.H Lavados Transtraqueal e Broncoalveolar In: In: COWELL R.L. *et.al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009.p.256-276.

FAN J., DENG X., GALLAGHER J.W., HUANG H., HUANG Y., WEN J., FERRARI M., SHEN H., HU H. Monitoring the progression of metastatic breast cancer on nanoporous silica chips **Philosophical transactions of the royal society**, p. 2433-2447, 2012.

FERIAN, P.E.; SILVA,E.F.; GUEDES,R.C.; TORRES, R.C.S. Diagnóstico citológico de neoplasia pulmonar por meio de lavado broncoalveolar em uma cadela: relato de caso **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58 n.5 p.776-780, 2006.

FERNANDEZ A. *et.al.* Diagnóstico e estadiamento do câncer de pulmão **Jornal de Pneumologia** v.28 n.4, 2002.

FIDLER I.J. The pathogenesis of cancer metastasis: the seed and soil hypothesis revisited **Nature Reviews Cancer**, p.453-458, 2003.

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

GREEN K.T., FRANCIOSI A., SANTOS M.B.F., GUERIOS S.D. Incidência de neoplasias mamária em fêmeas caninas atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **IV encontro Internacional de Produção Científica – Cesumar**, 2009

HAWKINS E.C., BERRY C.R. Use of a modified stomach tube for bronchoalveolar lavage in dogs **Journal American Veterinary Medical Association**, p.1635-1639, 1999.

HAWKINS E.C., BERRY C.R. Use of a modified stomach tube for bronchoalveolar lavage in dogs **Journal American Veterinary Medical Association**, p.1635-1639, 1999.

HAWKINS E.C. Bronchoalveolar Lavage In: KING.L.G. **Respiratory Disease in Dogs and Cats**. St.Louis : Saunders,2004.p.118-128.

HAWKINS E.C., ROGALA A.R., LARGE E.E., BRADLEY J.M., GRINDEM C.B. Cellular composition of bronchial brushings obtained from health, dogs, and with chronic cough and cytology composition of bronchoalveolar lavage fluid obtained from dogs with chronic cough **American Journal of Veterinary Research** v. 67, n. 1, p. 160-167, 2006.

HEDLUND C.S. Cirurgias do Sistema Reprodutivo e Genital In: FOSSUM T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2005.p.610-672.

HIRATSUKA S., NAKAMURA K., IWAI S., MURAKAMI M., ITHOH T., KIJIMA H., SHIPLEY J.M., SERNIOR R.M., SHIBUYA M. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung specific metastasis **Cancer Cell**, p. 289-300, 2002.

HIRT R.A. *et.al.* Influence of the collection and oxygenation method on quantitative bacterial composition in Bronchoalveolar lavage fluid samples from healthy dogs **The Veterinary Journal** 184, p. 77–82, 2010.

JOYCE J.A. e POLLARD J.W. Microenvironmental regulation of metastasis **Nature Reviews** 239-252, 2009.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Veterinary Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>th</sup> ed. Hardcover, 2008

KAPLAN,R.N; RIBA,R.D.; ZACHAROULIS,S.; BRAMLEY,A.H.; VINCENT,L.; COSTA,C.; MACDONALD,D.D.; JIN,D.K.; SHIDO,K.; KERNS,S.A.; HICKLIN,D VEGFR1- positive haematopoietic bone marrow progenitor initiate the pre-metastatic niche **Nature** 438:820, 2005.

KHAN R.S., DIN R.U. Malignant lung tumors: efficacy of bronchial wash cytology and its correlation with biopsy in diagnosis **Professional Med Journal**, p. 187-191, 2009.

KOPFLEISCH, R., LENZE, D.; HUMMEL,M.; GRUBER,A.D. Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles **BMC Cancer** 10:618, 2010

LAMB, C. R. The canine and feline lung. In: THRALL, D. E. **Text book of veterinary diagnostic radiology** 4.ed. Philadelphia: Saunders, 2002. p. 431-447.

LANGLEY R.R. e FIDLER I.J. The seed and soil hypothesis revisited – the role of tumor stroma interactions in metastasis to different organs **International Journal of Cancer**, p. 2527-2535, 2011.

LEE H.S., KWON S.Y., KIM D.K., YOON H.I., LEE S-M., LEE J.H., YIM J.J. Determinants of diagnostic bronchial washing in peripheral lung cancers **Int J tuberc Lung Dis**, p. 227-232, 2007.

LORUSSO G. e RUEGG C. New insights into the mechanisms of organ-specific breast cancer metastasis **Seminars in Cancer Biology**, 2012

MELCHERT A. *et.al.* Avaliação citológica e microbiológica do lavado broncoalveolar em cães hígidos **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 157-164, jan./mar. 2008.

MERLO D.F, ROSSI L. *et.al.* Cancer Incidence in Pet Dogs: findings of the animal tumor registry of Genova- Italy **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. 976-984, 2008.

NELSON R.W. e COUTO G.C. xxxx In: \_\_\_\_\_ **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006

NENAMIC S., LONDON C.A., WISNER E.R. Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. 508-515, 2006.

NGUYEN D.X., BOS P.D., MASSGUÉ J., Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization **Nature Reviews**, p. 274-285, 2009.

OHNISHI H., HARUTA Y., YOKAYANA A., NAKASHIMA T., HATTORI N., KOHNO N. Metastatic Breast Cancer Representing as Air- space consolidation on chest computed tomography **Internacional Medicine**, p. 727-731, 2009.

OLIVEIRA FILHO J.C., FIGHERA R.A., KOMMERS G.D., IRIGOYYEN L.F., MASUDA E.K., BARROS C.S.L., BRENDA M.F.P.P. Estudos retrospectivo de 1647 tumores mamários em cães **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 177-185, 2010.

OTONI *et.al.* Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors **Acta Veterinaria Scandinavica** 52:20, 2010.

PAVELIC S.K., SEDIC M., BOSNJAK H., SPANVENTI S., PAVELIC K. Metastasis: new perspectives on an old problem **Molecular Cancer**, 10:22, 2011.

PAVELSKI M.; DORNBUSCH T.P.; RIBAS R.C.; MORAES P.F.; CAPRIGLIONE L.G.;DORNBUSCH P.T.C Avaliação do lavado broncoalveolar em cães de abrigo acometidos por pneumonia **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.3, 2012.

PHILIBERT J.C. Tumors of the reproductive tract In: ROSENTHAL R.C. **Veterinary Oncology Secrets**. Philadelphia: Hanley & Belgus, 2001.p.153-158.

REINEIRO, C.R.; COHN, L.A. Interstitial lung diseases **Veterinary Clinics Small Animal Practice** v.37, p.937-947, 2007.

RIBAS *et.al.* Citologia de lavado broncoalveolar de cães: comparação entre lâminas a fresco e conservadas em formol **Archives of Veterinary Science**, v.15, n.2, p.69-76, 2010.

SAMII V.F. Diagnóstico por Imagem dos Distúrbios Respiratórios In: BICHARD S.J. e SHERDING R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2008.

SOAVE T., SOUZA D.P., MORENO K., BELONI S., GONZÁLES J.R.M., GROTTI C.C.B., REIS A.C.F A importância da radiografia torácica na abordagem de animais portadores de neoplasias **Ciências Agrárias**, p. 399-406, 2008.

SONREMO, K.U.; WORLEY, D.R.; GOLDSCHMIDT, M.H. Tumors of mammary Gland In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsever, 2013, p. 538-556.

THRALL, D.C. The canine and feline lung. In: \_\_\_\_ **Textbook of veterinary diagnostic radiology** 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2013. p. 608-631.

ZUCCARI, D.A.P.C.; SANTANA, A.E.; ROCHA, N.S., Fisiopatologia da neoplasia mamária em cadelas – revisão **Clínica Veterinária** n.32, p. 50-54, 2001.

WITHROW S.J., LANA S.E., RUTTEMAN G.R. Tumors of the Mammary Gland In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Saunders, 2007.p.619-636.

#### 4. AVALIAÇÃO TERMOGRÁFICA DAS MAMAS DE CADELAS HÍGIDAS E COM NEOPLASIA MAMÁRIA MALIGNA

(Mammary thermography of healthy bitches and with mammary cancer)

**RESUMO -** A termografia infravermelha é um exame diagnóstico por imagem, que afere a temperatura superficial de um corpo ou objeto por meio da emissão de calor pelo mesmo. Na medicina, esta técnica vem sendo utilizada principalmente como ferramenta auxiliar no diagnóstico do câncer de mama. É um exame diagnóstico não invasivo, indolor e que não expõe o paciente à radiação. Este trabalho teve como objetivo identificar a temperatura das mamas de cadelas hígidas e as alterações de temperatura das mamas com neoplasia maligna. A comparação da temperatura entre os grupos de mamas das cadelas hígidas apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) sendo as mamas abdominais caudais e as inguinais as de maior temperatura. Quando comparados os valores termográficos do grupo controle com o grupo com neoplasia maligna, todos os tumores apresentaram maior temperatura ( $p < 0,05$ ). A termografia infravermelha é um exame de fácil realização, independente do tamanho e localização a presença de neoplasia maligna aumenta significativamente a temperatura das mamas.

**palavras chave:** ferramenta diagnóstica; neoplasia mamária; termografia

**ABSTRACT-** The infrared thermography is a diagnostic imaging tool, which measures the surface temperature of an object through the heat emission by the same. In medicine, this technique has been used mainly as an auxiliary tool in the diagnosis of breast cancer. It is a non-invasive, painless examination which does not expose the subject to ionizing radiation. The aim of the present study was evaluate

the temperatures of mammary tissue from healthy bitches and neoplastic mammary tissue. The comparison between the temperatures of healthy mammary tissue presented significant statistically difference ( $p < 0,05$ ) being the caudal abdominal and the inguinal mammary glands who presented the higher temperature. When comparing the values of thermographic control group with the tumor group, all tumors presented with higher temperature ( $p < 0,05$ ). Infrared thermography is an easy exam to perform, regardless the size and the location, mammary tumor increases significantly the temperature of the mammary glands.

**key words:** diagnostic tool; mammary cancer; malignancy; thermography

## INTRODUÇÃO

A termografia infravermelha é um exame diagnóstico por imagem, que afere a temperatura superficial de um corpo ou objeto por meio da emissão de calor pelo mesmo. É um exame de rápida realização, não invasivo, indolor, sem envolvimento de radiação ou necessidade de contraste (Nunes et al., 2007; Y-K, 2009; Wang et al., 2010).

O primeiro registro do uso de diagnóstico termo biológico pode ser encontrado nos escritos de Hipócrates por volta de 480 aC . Foram observadas quais as áreas de uma suspensão de lama espalhada sob o corpo de uma paciente que secariam primeiro, acreditou-se que ali havia uma enfermidade presente. Desde essa época, várias pesquisas e observações clínicas demonstraram que alterações de temperatura do corpo humano podiam de fato indicar processos fisiológicos normais ou anormais. Na década de 50, a pesquisa militar em sistemas de monitoramento infravermelho para os movimentos de tropas noturnas inaugurou uma nova era no

diagnóstico termográfico. A termografia médica foi utilizada pela primeira vez em Montreal em 1957 quando o cirurgião Lawson observou um aumento de temperatura na mama de pacientes com neoplasia. (Lawson, 1957; Wallace e Cade, 1975; Mikulska, 2006).

A pele recebe calor a partir da circulação sanguínea local e do metabolismo tecidual, o status circulatório e a perfusão sanguínea ditam o padrão térmico, o qual é a base da interpretação termográfica; tecidos enfermos invariavelmente possuem circulação alterada (Turner, 2001). Inúmeras enfermidades podem alterar a aferição termográfica como processos inflamatórios, traumáticos, congênitos, displásicos e neoplásicos (Hobbins, 1983; Brioschi et al., 2003; Nunes et al., 2007).

Desde a década de setenta a termografia infravermelha tem sido utilizada em muitas áreas da medicina, como na oncologia, principalmente no diagnóstico do câncer de mama, na angiologia, cirurgia plástica, reumatologia e outros setores (Gautherie et.al., 1980; Prokoski, et al., 2000; Paryski et al., 2003; Fauci et al.; 2001; Vargas et al, 2009).

A utilização da termografia na veterinária teve sua primeira descrição quando Delahanty e Georgi (1965) utilizaram este método em cavalos, associando com o exame radiográfico em quatro casos clínicos:fratura de terceiro osso carpal, osteoartrite társica, abscesso cervical profundo e no diagnóstico de carcinoma de células escamosas e observaram em todos estes casos um aumento de calor ao redor da área afetada.

Os equipamentos termográficos evoluíram muito desde essa época, apresentam maior acurácia, podendo marcar alterações de 0,05°C. As câmaras termográficas podem ser interligadas a modernos softwares e produzem imagens de

qualidade fornecendo informações confiáveis (Fauci et al., 2001; Y-K, 2009; Kirubha et al., 2012).

Na mamografia, ressonância magnética, ultrassonografia e na citologia o diagnóstico é baseado nas mudanças anatômicas da mama e podem levar anos para o tumor crescer até um tamanho suficiente para ser detectado por esses métodos. Na termografia o diagnóstico é baseado nas variações de temperatura relacionadas às modificações do fluxo sanguíneo e do metabolismo das células mamárias afetadas (Keer et al., 2004; Kennedy, 2009).

Na medicina, o método diagnóstico de escolha no rastreamento precoce do câncer de mama continua sendo a mamografia (Souza et al., 2005), porém sua capacidade em detectar o câncer de mama varia entre as pacientes e quando associada a termografia sua sensibilidade aumenta de 83% para 95% (Brioschi, et al., 2003), quando ainda aliado ao exame físico a sensibilidade alcança 98% ( Y-K Ng et al., 2004).

Segundo Keyserkingk e colaboradores (2000) o tamanho médio de detecção tumoral por meio da mamografia é de 1,66 cm enquanto da termografia é de 1, 28 cm.

Achados anormais na termografia de mama são considerados fator de risco e prognóstico, pode ser ainda um diagnóstico diferencial para identificação do tumor benigno e maligno. (Gantherie et al.,1980; Ohsumi et al, 2002; Wang et al, 2010). São considerados sinais de malignidade na termografia a assimetria térmica entre mamas contralaterais, hipertermia localizada (a partir de 2°C) ou generalizada (a partir de 1°C) e alterações do entorno da massa (Avello, 1988; Kennedy et al., 2009). Segundo Kirubha et al. (2012) temperatura menores que 0,1°C podem ser aferidas em estágios iniciais do tumor.

Em estudo realizado por Ohsumi e colaboradores (2002) com 340 mulheres portadoras de tumor mamário, a temperatura tumoral teve correlação positiva com o tamanho tumoral e grau histológico revelando a eficiência do uso da termografia na pesquisa de neoplasias malignas.

Vários modelos matemáticos e programas computacionais têm sido desenvolvidos com base no formato e estrutura da mama de mulheres para aumentar a sensibilidade da termografia na detecção de tumores, evitando os achados falsos positivos e falsos negativos (Y-K Ng, 2004; Bezerra, 2007; Silva, 2010; Brioschi, 2011).

Os tumores da glândula mamária em cadelas tornaram-se importante objeto de estudo devido sua alta incidência. Estão entre os tumores mais comuns em cadelas e mais de 50% das neoplasias mamárias são malignas (Misdorp, 2002; De Nardi, et al., 2008; Allison et. al., 2009; Sonremo, et al., 2013).

Em animais a identificação primária do tumor de mama geralmente é realizada por meio de exame manual de palpação, logo em seguida demais exames são realizados para o estadiamento tumoral. Métodos avançados de imagem e citologia, em adição a exames laboratoriais e outros testes selecionados são úteis e auxiliam quando apropriados (Rosenthal, 2001; Rodaski e Piekarz, 2008).

Até o presente momento, em pequenos animais, não existem estudos controlados que demonstrem a importância da termografia no diagnóstico auxiliar da neoplasia mamária. Esse trabalho tem como objetivo lançar mão dessa ferramenta realizando a termografia infravermelha mamária em cadelas híginas e cadelas portadoras de neoplasia mamária maligna e verificar sua sensibilidade na identificação de variações de temperatura das mamas e para possível implantação de seu uso na rotina clínica.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas trinta cadelas híginas (grupo controle) de diversas raças e diferentes tamanhos e o grupo tumor foi formado por vinte cadelas portadoras de neoplasia mamária (n = 36 tumores) de diversas raças e tamanhos. Os animais foram mantidos em grupo de no máximo cinco animais por vez em sala climatizada a 22°C (sem interferência de raios solares) e 55% de umidade relativa, durante uma hora prévia ao exame termográfico (Brioschi, 2003; Araújo, 2009). Antes da climatização foi realizada tricotomia abdominal em todos os animais, com tricotomo elétrico, com lâmina número 10 para evitar irritação local. Para a realização do exame os animais foram posicionados em decúbito ventral sob mesa de metal, apenas contenção física foi utilizada, tomando cuidado para não tocar nas áreas a serem estudadas. A contenção química para o posicionamento dos animais não foi permitida para evitar a perda de calor por interferência de drogas anestésicas (Kirubha, 2012).

A câmara termográfica foi posicionada a uma distância de 40 cm (Fauci et al., 2001) para a obtenção das imagens (Figura 4.1). Foi-se obtido imagens de todas as mamas sendo divididas em mamas torácicas craniais (m1), mamas torácicas caudais (m2), mamas abdominais craniais (m3), mamas abdominais caudais (m4) e mamas inguinais (m5). O aparelho utilizado foi o Flir E-40, resolução de imagem de 160 X 120 pixels, sensibilidade térmica de 0,07°C e para análise de cada imagem foi utilizado o software Flir Systems® v.1.2. Partindo do mamilo com ponto central foi desenhado um retângulo de 60mm de altura por 50mm de largura obtendo uma figura de 227 X 189 pixels (Figura 4.2) para as mamas híginas, nas mamas com tumor foi desenhado um retângulo ao seu redor, de acordo com o tamanho do tumor

presente. Após obtenção das imagens foi realizado exame físico sendo avaliado: frequência respiratória, frequência cardíaca, tempo de preenchimento capilar, linfonodos, coloração de mucosas, temperatura retal, estado de hidratação e medição dos tumores quando presentes. A inspeção cutânea da região torácica, abdominal e pélvica quanto à presença de cicatrizes, dermatopatias ou lesões que pudessem interferir na temperatura das mamas foi feita minuciosamente. Os critérios de inclusão para o grupo controle foi de que os animais não apresentassem anormalidades no exame físico, na inspeção cutânea e no hemograma, como também, ausência de nodulação mamária. Para inclusão no grupo tumor foram selecionadas as cadelas que subsequente passariam por mastectomia e avaliação histopatológica dos tumores, independente do número e tamanho dos tumores.



Figura 4.1 Realização do exame termográfico das mamas de cadela hígida, SRD, de 9 anos. Animal em decúbito dorsal, sob mesa de metal, com abdômen tricotomizado e câmera termográfica posicionada a uma distância média de 40 cm do paciente, em sala climatizada a 22°C.

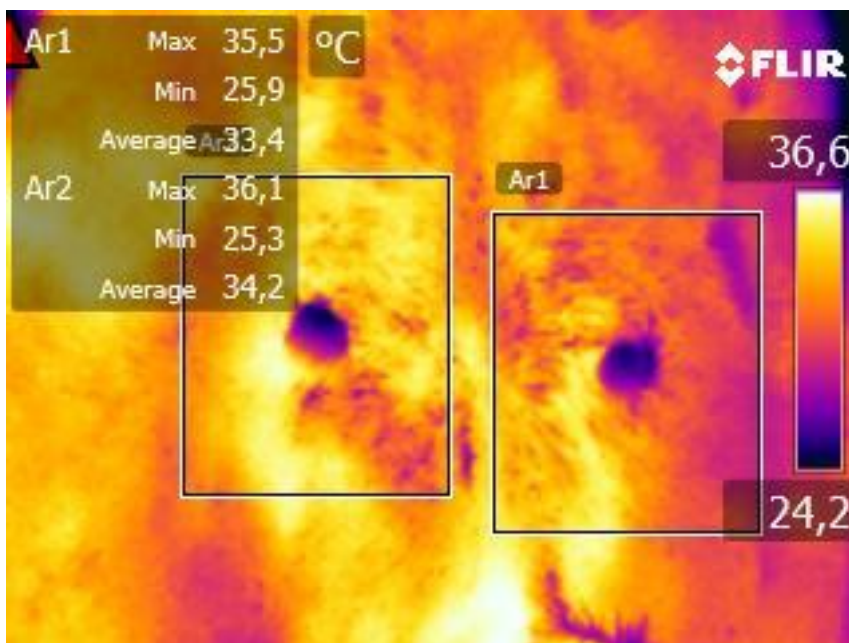


Figura 4.2 - Imagem termográfica das mamas abdominais craniais esquerda e direita de uma cadela sem raça definida de 7 anos. Temperatura média da mama esquerda de 33,4°C e da mama direita de 34, 2°C. Retângulos delimitam as mamas formando uma imagem de 227 X 189 pixels.

As temperaturas obtidas foram tabuladas separadamente de acordo como citado: m1, m2, m3, m4 e m5 ainda sendo separadas em cadeia esquerda ou direita tanto para o grupo controle como para o grupo tumor. A primeira análise estatística realizada foi o teste de Grubb's entre todos os valores obtidos no grupo controle e grupo tumor para identificar a presença de algum valor *outlier*. Na sequência foram analisados os dados do grupo controle, quanto à diferença de temperatura entre os valores da cadeia esquerda e direita dentro de um mesmo grupo de mamas, para isso foi utilizado o teste T pareado. Logo em seguida, foi realizado teste de análise de variância e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre todos os grupos de mamas (m1, m2, m3, m4 e m5) das cadelas do grupo controle, da mesma forma foi realizado para o grupo tumor. Por fim foram comparados os resultados termográficos obtidos no grupo controle com os do grupo tumor por meio do Teste T não pareado. Para análise estatística dos dados foi utilizado o software Graph Prism® v.5.

Este trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/SCA protocolo n.

## RESULTADOS

Não foram observadas alterações significativas na inspeção cutânea, exame físico ou hemograma dos animais participantes.

Nas temperaturas obtidas das mamas dos animais do grupo controle não foi identificado nenhum valor como *outlier* (teste de Grubb's). Não houve diferença estatística entre os valores termográficos das temperaturas das cadeias esquerda e direita dentro de um mesmo grupo de mamas, o pareamento apresentou-se efetivo ( $p < 0,05$ ). As médias das temperaturas mamárias termográficas do grupo controle estão demonstradas na tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Médias e desvio padrão das temperaturas termográficas mamárias de cadelas hípidas.

<b>Mamas</b> (cadeia esquerda e direita)	Torácica Cranial m1	Torácica Caudal m2	Abdominal Cranial m3	Abdominal Caudal m4	Inguinal m5
<b>Temp. (°C)</b>	35,078±1,99	35,234±1,86	35,758±1,73	36,370±1,69	36,282±1,96

A comparação da temperatura entre os grupos de mamas apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ). Sendo a temperatura das mamas abdominais caudais e inguinais maiores que a das mamas torácicas e a temperatura das mamas abdominais craniais não diferiram das demais. O resultado pode ser mais bem visualizado no gráfico apresentado na figura 4.3.

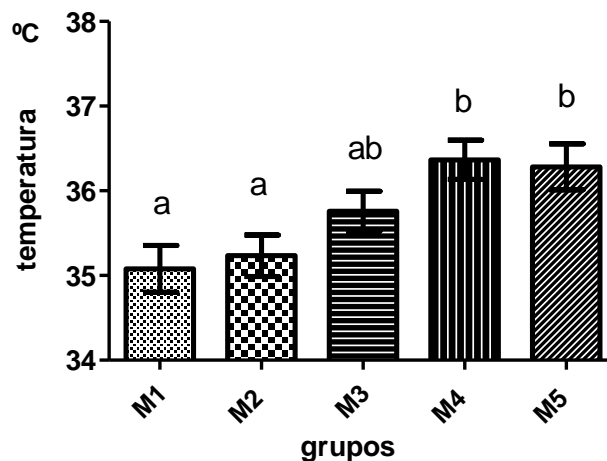


Figura 4.3 – Comparação da temperatura termográfica entre os grupos de mamas das cadelas hípidas. ( $p < 0,05$ )

No grupo tumor foi excluído um valor de 35°C que foi reconhecido como *outlier* pelo teste de Grubb's. O tumor que teve sua temperatura termográfica excluída foi identificado como tumor mamário benigno (adenoma simples) na avaliação histopatológica. Os demais tumores foram diagnosticados como neoplasia mamária maligna entre eles o de maior incidência foi o adenocarcinoma simples (papífero cístico) ( $n = 20$ ).

A maior ocorrência de tumores foi nas mamas abdominais craniais e caudais e nas mamas inguinais, apenas cinco dos tumores ( $n = 36$ ) estavam localizados nas mamas torácicas craniais e caudais. Não houve diferença estatística entre os valores termográficos do grupo tumor quando comparados entre si quanto à sua localização.

Na análise estatística entre os valores termográficos do grupo controle e grupo tumor houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Tanto quando comparados os valores termográficos das m1, m2 e m3 do grupo controle com as mesmas mamas do grupo tumor (figura 4.4), quando comparadas m4 e m5 do grupo controle com m4 e m5 do grupo tumor (figura 4.5).

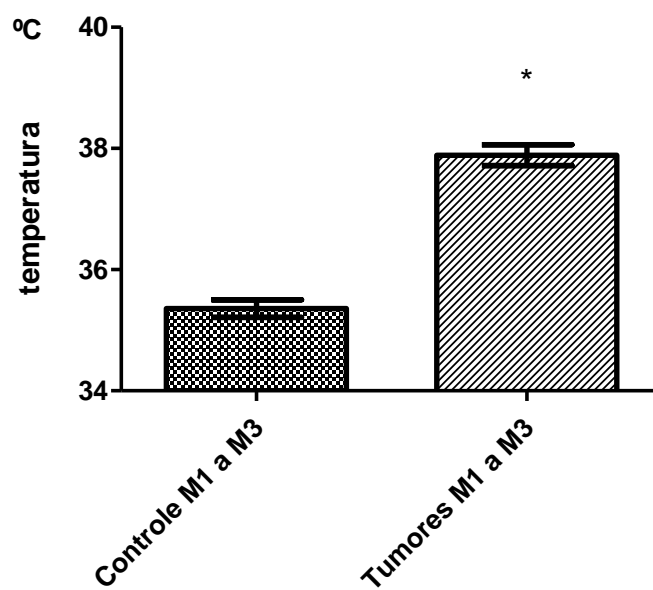


Figura 4.4 – Comparação dos valores termográficos de m1, m2 e m3 do grupo controle com as mesmas mamas do grupo tumor ( $p < 0,05^*$ ).

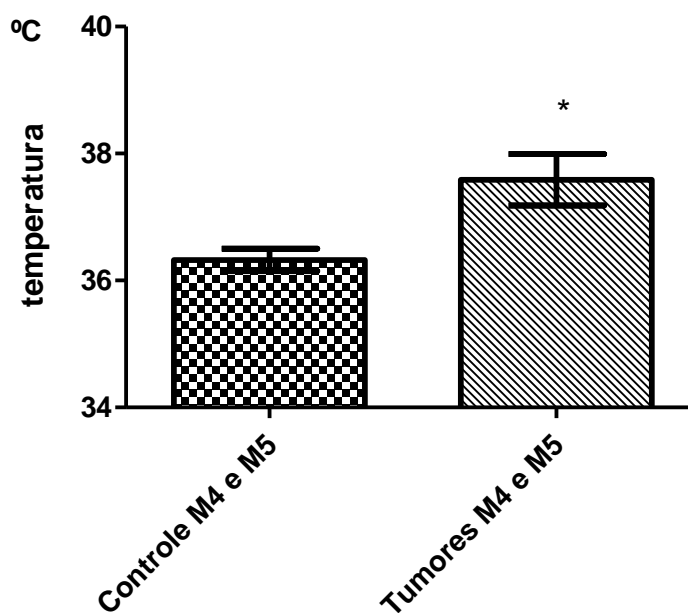


Figura 4.5 - Comparação dos valores termográficos de m4 e m5 do grupo controle com as mesmas mamas do grupo tumor ( $p < 0,05^*$ ).

O tamanho tumoral não interferiu na aferição termográfica e não houve diferença significativa entre os valores aferidos. O menor tumor em que foi realizado termografia era de em média 0,5 cm de diâmetro e 0,5 cm de profundidade apresentou temperatura de 37,8°C e o maior tumor foi de 20 cm de diâmetro e 8 cm de profundidade com temperatura de 38°C.

A temperatura média das mamas que apresentavam tumores foi de 37,861°C enquanto a temperatura média das mamas híginas foi de 35,078°C, uma variação significativa de 2,783°C pode ser observada.

A seguir, imagem termográfica de uma mama hígina (Figura 4.6), imagem termográfica de uma mama com tumor (Figura 4.7) e imagem fotográfica simples da mesma mama da figura 4.7 (Figura 4.8).

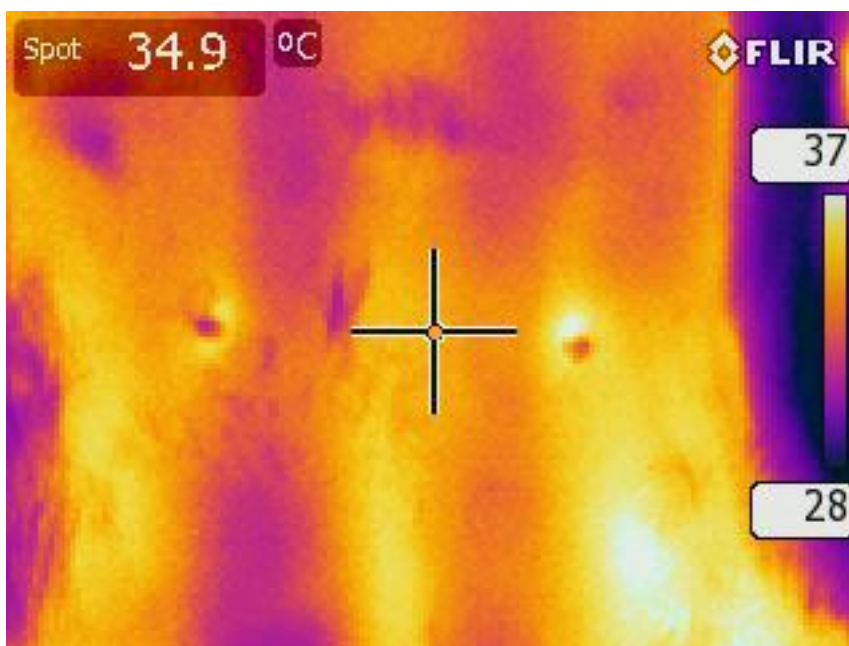


Figura 4.6 – Imagem termográfica das mamas abdominais caudais de uma cadela hígina, sem raça definida de 8 anos.

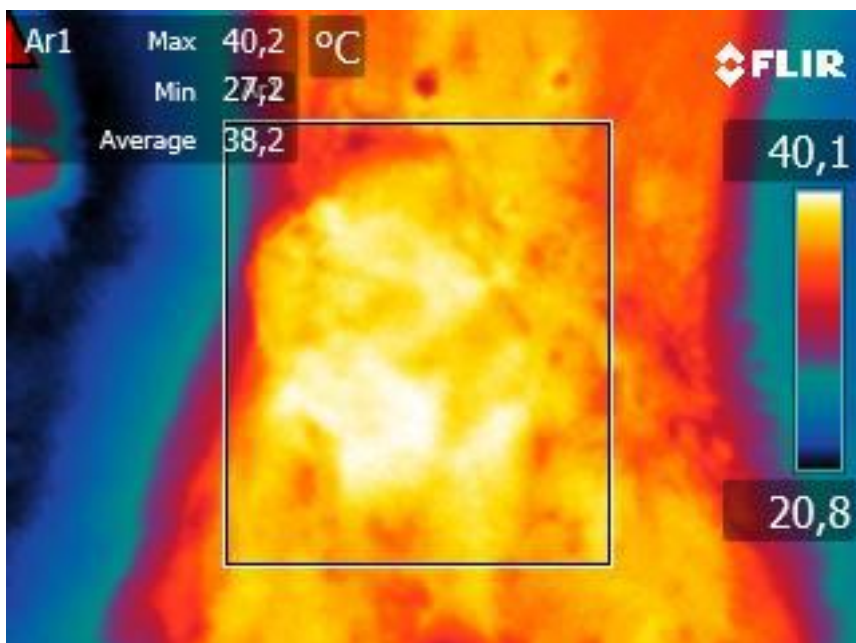


Figura 4.7 – Imagem termográfica de tumor mamário localizado nas mamas abdominal caudal e inguinal da cadeia direita de uma cadela da raça poodle de 10 anos de idade.



Figura 4.8 - Imagem de tumor mamário localizado nas mamas abdominal caudal e inguinal da cadeia direita de uma cadela da raça poodle de 10 anos de idade. Imagem referente à termografia anterior (figura 7).

## DISCUSSÃO

A climatização da sala foi realizada segundo as recomendações de Brioschi e colaboradores (2003), os mesmos autores ainda descrevem um tempo mínimo de 15 minutos de permanência do paciente para climatização, neste trabalho foi optado por 1 hora como tempo de permanência para garantir um equilíbrio térmico das mamas com a temperatura ambiente. Não há referências na literatura veterinária sobre a temperatura e tempo ideal de permanência do paciente.

Acredita-se que a variação de temperatura encontrada entre as mamas das cadelas hígdas se deve à vascularização. Sendo as mamas abdominais caudais e inguinais as que apresentaram maior temperatura e são as que apresentam maior irrigação sanguínea e de vasos de maior calibre, principalmente das artérias epigástrica superficial caudal, epigástrica profunda cranial, abdominal segmentada, labial, e ilíaca circunflexa profunda (Slatter, 1998; Hedlund, 2005).

A análise comparativa das temperaturas entre o grupo controle e grupo tumor foi realizada pelo método clássico de diferença de temperatura o que corrobora com a literatura de Brioschi (2011).

De acordo como citado na literatura de Gautherie (1980), e outras mais recentes como a de Kerr et al. (2004) e Kirubha et al. (2012) estudos realizados em mulheres, todas as mamas com neoplasia maligna apresentaram-se mais quentes que as mamas hígdas independente do tamanho e localização do tumor. De forma semelhante ao que observamos em cadelas nesse estudo.

A atividade micro circulatória nos tecidos mamários pré - neoplásicos e neoplásicos é descrita como mais elevada do que o normal devido à necessidade de um abundante suprimento de nutrientes para manter o crescimento das células

anormais e o desenvolvimento da neovascularização. Diversos estudos (Anbar, 1998; Wink et al., 1998; Costa et al., 2003) citam a liberação de óxido nítrico pelas células tumorais como causa da vasodilatação e o aumento de temperatura nas mamas afetadas. Os vasos sanguíneos dilatados permitem um melhor fornecimento de oxigênio aos tecidos neoplásicos e ainda permitem uma invasão mais fácil das células tumorais na corrente sanguínea (Anbar et al., 2000). Outros autores (Kennedy, 2009; Wang et al., 2010) também atribuem as alterações de temperatura à angiogênese tumoral que é estimulada pela liberação de diversos fatores como o de crescimento vascular endotelial (VEGF), liberação de integrinas, células dendríticas imaturas e outros para favorecer o aporte de oxigênio e o crescimento tumoral (Fainaru et al., 2010; Weis e Cheresh, 2011; Modiano, 2013). Não é possível determinar quais desses fatores influenciaram o aumento da temperatura nas mamas com neoplasia avaliadas nesse estudo, acredita-se que os fatores agem em associação.

Segundo Hobbins (1983) mesmo as neoplasias benignas irão demonstrar uma pequena elevação de temperatura, o que não condiz com o achado do estudo, pois a neoplasia benigna apresentava 35°C, valor abaixo da temperatura média das mamas torácicas caudais (35,23°C) na qual estava localizada. Bezerra (2007), diz que o aumento de temperatura entre as áreas colaterais menor que 1°C pode sugerir benignidade da massa. Um estudo com maior número de tumores benignos seria necessário para observar essa correlação.

Observou-se que há uma variação de temperatura entre os tumores, a maior temperatura identificada foi de 39,6°C e a menor foi de 36,5°C. Neste trabalho não foi correlacionado as variações de temperatura ao grau histológico tumoral. No entanto, o tumor de maior temperatura foi identificado como carcinoma inflamatório,

o que pode ser um indício de uma correlação positiva como foi observado no trabalho de Ohsumi e colaboradores (2002).

Assim como citado por Withrow et.al. (2007) e Cassali e colaboradores (2011) a maioria dos tumores nesse estudo estavam localizados nas mamas abdominais caudais e inguinais, provavelmente por terem mais tecido glandular que as demais.

Na histopatologia das mamas o tipo tumoral mais prevalente foi o adenocarcinoma simples (papilífero cístico), dado descrito também em outros estudos (Oliveira filho et.al., 2010; Cassali et.al., 2011).

Para a análise das imagens termográficas por meio do software, houve dificuldade na escolha da delimitação de bordas das mamas saudáveis, optando-se pela aferição por meio de um retângulo de 3000 mm<sup>2</sup> (50mm X 60mm) o qual demonstrou enquadrar visualmente toda a mama na imagem termográfica. O desenvolvimento de cálculos matemáticos e programas computacionais para o uso na veterinária como os citados por Y-K Ng (2004) Bezerra (2007) e Silva (2010) aumentariam acurácia do exame termográfico em cadelas.

Importante frisar que nem todos os pontos onde há aumento de temperatura podem ser associados ao câncer, a inflamação, como visto na mastite por exemplo, é uma resposta fisiológica que faz aumento do fluxo sanguíneo e elevação de temperatura (Biology Pages, 2010). Torna-se imprescindível a realização de exames complementares e a correlação da imagem termográfica com o histórico e os sinais clínicos do paciente.

## **CONCLUSÃO**

A termografia infravermelha é um exame de fácil realização, demonstrou alta sensibilidade na identificação de variações de temperatura na mama em cadelas.

Independente do tamanho e localização, a presença tumoral aumenta significativamente a temperatura das mamas. Mais estudos são necessários para avaliar se há correlação positiva entre a temperatura termográfica e o grau histológico tumoral, como também para verificar a diferença de temperatura entre as neoplasias benignas e malignas da mama em cadelas.

## REFERÊNCIAS

- ALISSON R. W. e MADDUX J.M. Tecido Glandular subcutâneo: mamário, salivar, tireóide e paratireoide. In: COWELL R.L. *et.al.* **Diagnóstico Citológico e Hematológico de Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2009.p.112-117.
- ANBAR, M. Clinical thermal imaging today **Engineering in Medicine and Biology Magazine** v.17, p. 25-33, 1998.
- ANBAR, M.; BROWN, C.; MILESCU, L.; BABALOLA, J.; GENTNER, L. The potencial of dynamic area telethermometry in assessing breast cancer **Engineering in Medicine and Biology Magazine** v.19, p. 58-62, 2000.
- ARAÚJO, M. **Utilização de Câmera por Infravermelho para Avaliação de diferentes Patologias em Clima Tropical e Uso Conjunto de Sistemas de Banco de Dados para Detecção de Câncer de Mama**. Recife: UFPE, 2009, 56p. dissertação ( Mestrado em Engenharia Mecânica) Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2009.
- AVELLO, E. Diagnóstico Termográfico **Universidad de Oviedo** v.2, p.93-98, 1988.
- BEZERRA, L. A. **Uso de imagens termográficas em tumores mamários para avaliação de simulação computacional**. Recife: UFPE, 2007. 59 P. Dissertação (Mestrado em Engenharia mecânica) Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Pernambuco, 2007.
- BIOLOGY PAGES **Inflammation**, 2010. Disponível em: <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages//Inflammation.html> Acesso em 02/01/2013.
- BRIOSCHI, M.; MACEDO, J. F.; MACEDO, R. *Termometria cutânea: novos conceitos*. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.2, n.2, p. 151-60, 2003.
- BRIOSCHI, M.L. **Metodologia de Normalização de Análise do Campo de Temperaturas em Imagem Infravermelha Humana**, 2011. Tese de doutorado apresentada como requisito para obter o título de Doutor em Engenharia Mecânica do Curso de engenharia Mecânica da Universidade Federal do Paraná.
- CASSALI G.D., LAVALLE G.E., DE NARDI A.B., FERREIRA E., et.al. Consensus for diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumours **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, p. 153-180, 2011
- COSTA, M.T.; FABENI,R.C.; APTEKMANN, K.P.; MACHADO,R.R. Diferentes papéis do óxido nítrico com ênfase nas neoplasias **Ciência Rural** v.33, n.5, p. 967-974, 2003.
- DELAHANTY, D.D.; GEORGI, J.R. Thermography in equine medicine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.147, p.235-238, 1965.
- DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.; RODIGHERI, S.M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C.H. Prevalência de neoplasias e modalidade de tratamentos em cães, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

DE NARDI, A.B.; RODASKI,S.; ROCHA, N.S.; FERNANDES, S.C. Neoplasias Mamárias In: DALECK, C.R., DE NARDI, A.B., RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2008, p. 372-393

FAINARU, O.; ALMOG,N.; YUNG, C.W.; NAKAI, K.; MONTAYA-ZAVALA, M.; ABDOLLAHI, A.; D`MATO, R.; INGBER, D.E. Tumor growth and angiogenesis are dependent on the presence of immature dendritic cells **The FASEB Journal – Research Communication**, v.24, n.5, p. 1411-1418, 2010.

FAUCI, M.A.; BREITER, R.; CABANSKI, W.; FICK, W.; KOCH, R.; ZIEGLER, J.; GUNAPALA, S.D. Medical infrared imaging – differentiating facts from fiction, and the impact of high precision quantum well infrared photodetector camera systems, and other factors, in its reemergence **Infrared Physics & Technology** v.42, p. 337-344, 2001.

GAUTHERIE, M.; Thermopathology of breast cancer: measurement and analysis of in vivo temperature and blood flow **Annals of the New York Academy of Sciences** p. 383-415, 1980.

GAUTHERIE, M.; GROS, C.M. Breast thermography and cancer risk prediction **Cancer** v. 45, p. 51-56, 1980.

HEDLUND C.S. Cirurgias do Sistema Reprodutivo e Genital In: FOSSUM T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2005.p.610-672.

HOBBS, W.B.; Thermography of the breast- a skin organ **Thermal assessment of breast health** Lancaster, UK: MTP Press LtdGautherie M, Albert E, Keith L., p.40-48, 1983.

KEER, J. Review of the effectiveness of infrared thermal imaging ( thermography) for population screening and diagnostic testing of breast cancer **NZHTA Tech Brief Series** v.3, n.3, 2004.

KENNEDY, D.; LEE, T.; SEELY,D. A comparative review of thermography as a breast screening technique **Integrative Cancer Therapies** v.8, n.1, p 9-16, 2009.

KEYSERLINGK, J.R.; AHLGREN, P.D; YU, E.; BELLIVEAU, N.; YASSA, M. Functional infrared imaging of the breast. **Engineering in Medicine and Biology Magazine** v.19. p. 30-41, 2000.

KIRUBHA, S.P.A.; ANBURAJAN, M.; VENKATARAMAN, B.; AKILA, R.; SHARATH, D.; RAJ, B. Evaluation of mammary cancer in 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-Induced Wister Rats by Asymmetrical Temperature Distributionanalysis Using Thermography: A comparison with serum CEA Levels and Histopathology **Journal of Biomedicine and Biotechnology** , v. 2012, 11 pages, 2012.

LAWSON, R.N. Thermography: a new tool in the investigation of breast lesions **Canadian Services Medical Journal** v.13, p 517-524, 1957.

MODIANO, J.F. The Etiology of Cancer In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsever, 2013, p. 1- 29.

MIKULSKA, D. Contemporary applications of infrared imaging in medical diagnostics, **Annales academiae medicae stetinensis** v.52, 2006.

- MISDORP W. Tumors of the mammary gland In: MEUTEN D.J. **Tumors in Domestic Animals**. Ames: Blackwell publishing, 2002, p.575-606.
- NUNES, L.A.O.; CAMARGO, A.C.; FILHO, A.; SARTORI, J.L. Câmera Termográfica Nacional **Prática Hospitalar** Ano IX, n. 49, jan/fev, 2007.
- OHSUMI, S.; TAKASHIMA,S. ; AOGI. K. ; USUKI, H. Prognostic value of thermographical findings in patients with primary breast câncer **Breast Cancer Research and Treatment** v.74, p. 213–220, 2002.
- OLIVEIRA FILHO J.C., FIGHERA R.A., KOMMERS G.D., IRIGOYYEN L.F., MASUDA E.K., BARROS C.S.L., BRENDA M.F.P.P. Estudos retrospectivo de 1647 tumores mamários em cães **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 177-185, 2010.
- PARYSKI, Y.R.; SARDI, A.; HAMM,R.; HUGHES, K.; ESSERMAN,L.; RUST,S., CALLAHAN,K., Efficacy of Computerized Infrared Imaging Analysis to Evaluate Mammographically Suspicious Lesions **American Journal of Roentgenology** v.180, January, p. 263-269, 2003.
- PROKOSKI, F. History, Current Status, and Future of Infrared Identification **Intitute of elitrical and eletronic engenieers**, 2000.
- REIS, F. R1.; BARREIRA, A.P.B2 .; CASTRO, V3.; CASTRO, J.L.C 4.; SUZANO, S. M.C ; ROCHA, A. Indícios sobre a correlação entre diferentes métodos diagnósticos em casos de tumor de mama em cadelas **Revista Eletrônica Novo Enfoque** v. 09, n. 09, p. 14 – 31, 2010.
- RODASKI, S. e PIERKARZ, C.H. Diagnóstico e Estadiamento Clínico In: DALECK, C.R., DE NARDI, A.B., RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2008, p. 372-393.
- ROSENTHAL R.C. History, Physical Examination and Diagnosting Test In: \_\_\_\_ **Veterinary Oncology Secrets**. Philadelphia: Hanley & Belgus, 2001.p.19-20.
- SILVA, S.V. **Reconstrução da geometria da mama a partir de imagens termográfica**. Niterói: UFF, 2010. ( Doutorado em Computação) Pós Graduação em Computação, Universidade Federal Fluminense, 2010.
- SLATTER, D. et al. **Manuak de cirugia de pequenos animais** 2. Ed. São Paulo: Editora Manole, 1998.
- SOUZA, L. R.; MARQUEZ, F.; NICOLA, H.; DE NICOLA, A.; LOGULLO, Â.; SZEJNFELD, J. *Nódulos mamários: correlação entre características ultrassonográficas e achados histológicos em 433 nódulos biopsiados*. **Revista imagem**, v.27, nº 4, p.225-30, 2005.
- SONREMO, K.U.; WORLEY, D.R.; GOLDSCHIMIDT, M.H. Tumors of mammary Gland In: WITHROW S.J. e MCEWEN E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Elsever, 2013, p. 538-556.
- TURNER, T.A. Diagnostic thermography. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.17, p.95-113, 2001.
- VARGAS, J.V.C.; BRIOSCHI, M.L.; DIAS, F.G.; PAROLIN, M.B.; MULINAR-BRENNER, F.A.; ORDONEZ, C.J.; COLMAN, D. Normalized methodology for medical infrared imaging **Physics & technology** v.52, p. 42-47, 2009.
- WALLACE, J.D.; CADE, C.M. Clinical Thermography **Cleveland research company**, 1975

WANG ET AL.; CHANG K. J.; CHEN C-Y; CHEN K-L; TSAI Y-S; WU Y-M; TENG Y-C; SHIH T. T-F; Evaluation of the diagnostic performance of infrared imaging of the breast: a preliminary study. **BioMedical Engineering** , vol.9, n.3, 2010.

WEISS, S.M.; CHERESH, D.A.  $\alpha$ V Integrins in Angiogenesis and Cancer **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2011.

WINK, D.A.; VODOVOTZ, Y.; LAVAL, J; LAVAL, F.; DEWHIRST, M.W.; MITCHELL, J.B. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer **Carcinogenesis** v.19, n.5, p. 711-721, 1998.

Y-K NG E.; SUDHARSAN, N.M. Computer simulation in conjunction with medical thermography as an adjunct tool for early detection of breast cancer **BioMed Central Cancer** v.4, n.17, 2004.

Y-K, NG E. A review of thermography as promising non-invasive detection modality for breast tumor **International Journal of thermal Sciences** v. 48, p. 849-859, 2009

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A neoplasia mamária em cadelas é uma importante enfermidade, de alta incidência que deve ser continuamente estudada. A progressão do tumor primário à metástases à distância podem levar o paciente a óbito. O acompanhamento periódico do animal pelo médico veterinário pode colaborar para o achado de tumores de mama em estágio inicial. O uso de um maior número de ferramentas diagnósticas em associação aumenta a acurácia do diagnóstico, possibilitando a instituição de um tratamento e melhora do prognóstico do paciente.

## 6. ANEXO

### Diretrizes para Autores

#### INSTRUÇÃO AOS AUTORES

O periódico **ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE (AVS)** é publicado trimestralmente, sob orientação do seu Corpo Editorial, com a finalidade de divulgar artigos completos e de revisão relacionados à ciência animal sobre os temas: clínica, cirurgia e patologia veterinária; sanidade animal e medicina veterinária preventiva; nutrição e alimentação animal; sistemas de produção animal e meio ambiente; reprodução e melhoramento genético animal; tecnologia de alimentos; economia e sociologia rural e métodos de investigação científica. A publicação dos artigos científicos dependerá da observância das normas editoriais e dos pareceres dos consultores “ad hoc”. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e os conceitos e/ou patentes emitidos nos artigos, são de inteira responsabilidade dos autores, eximindo-se o periódico de quaisquer danos autorais. A submissão de artigos deve ser feita diretamente na página da revista ([www.ser.ufpr.br/veterinary](http://www.ser.ufpr.br/veterinary)). Mais informações são fornecidas na seção “Informações sobre a revista”.

#### APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

**1. Digitação:** O artigo com no máximo vinte e cinco páginas deverá ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297 mm, com margens laterais direita, esquerda, superior e inferior de 2,5 cm. As páginas deverão ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito. Deverá ser utilizado fonte arial 12 em espaço duplo; em uma coluna. Tabelas e Figuras com legendas serão inseridas diretamente no texto e não em folhas separadas.

**2. Identificação dos autores e instituições (máximo 6 autores por artigo):** Todos os dados referentes a autores devem ser inseridos exclusivamente nos metadados no momento da submissão online. Não deve haver nenhuma identificação dos autores no corpo do artigo enviado para a revista. Os autores devem inclusive remover a identificação de autoria do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista.

**3. Tabelas:** Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte superior da tabela em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título. (Ex.: Tabela 1 – Título.). As abreviações devem ser descritas em notas no rodapé da tabela. Estas serão referenciadas por números sobrescritos (1,2,3). Quando couber, os cabeçalhos das colunas deverão possuir as unidades de medida. Tanto o título quanto as notas de rodapé devem fazer parte da tabela, inseridos em "linhas de tabela".

**4. Figuras:** Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte inferior da figura em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título (Ex.: Figura 1 – Título). As designações das variáveis X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses. São admitidas apenas figuras em preto-e-branco. **Figuras coloridas terão as despesas de clichê e impressão a cores pagas pelo autor.** Nesse caso deverá ser solicitada ao Editor (via ofício) a impressão a cores.

## **NORMAS EDITORIAIS**

**Artigo completo** - Deverá ser inédito, escrito em idioma português (nomenclatura oficial) ou em inglês. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Nota informando aprovação por Comitê de Ética (quando houver); Referências.

**Artigo de Revisão** - Os artigos de revisão deverão ser digitados seguindo a mesma norma do artigo científico e conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Agradecimento(s) (quando houver); Referências. **A publicação de artigos de revisão fica condicionada à relevância do tema, mérito científico dos autores e disponibilidade da Revista para publicação de artigos de Revisão.**

### **ESTRUTURA DO ARTIGO**

**TÍTULO** - em português, centralizado na página, e com letras maiúsculas. Logo abaixo, título em inglês, entre parêntesis e centralizado na página, com letras minúsculas e itálicas. Não deve ser precedido do termo título.

**RESUMO** - no máximo 1800 caracteres incluindo os espaços, em língua portuguesa. As informações devem ser precisas e sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço duplo. Deve ser precedido do termo “Resumo” em caixa alta e negrito.

**PALAVRAS-CHAVE** – inseridas abaixo do resumo. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título, e alinhado a esquerda. Não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Palavras-chave” em caixa baixa e negrito.

**ABSTRACT** - deve ser redigido em inglês, refletindo fielmente o resumo e com no máximo 1800 caracteres. O texto deve ser justificado e digitado em espaço **duplo**, em parágrafo único. Deve ser precedido do termo “Abstract” em caixa alta e negrito.

**KEY WORDS** - inseridas abaixo do abstract. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título em inglês, e alinhado a esquerda. Não precisam ser traduções exatas das palavras-chave e não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo “Key words” em caixa baixa e negrito.

**INTRODUÇÃO** – abrange também uma breve revisão de literatura e, ao final, os objetivos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Introdução” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**MATERIAL E MÉTODOS** - o autor deverá ser preciso na descrição de novas metodologias e adaptações realizadas nas metodologias já consagradas na experimentação animal. Fornecer referência específica original para todos os procedimentos utilizados. Não usar nomes comerciais de produtos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra do termo “Material e Métodos” (escrito em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**RESULTADOS (O item Resultados e o item Discussão podem ser apresentados juntos, na forma RESULTADOS e DISCUSSÃO, ou em itens separados)**

o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Resultados” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Símbolos e unidades devem ser listados conforme os exemplos: Usar **36%**, e não 36 % (não usar espaço entre o n e %); Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o n e kg, que deve vir em minúsculo); Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em L **maiúsculo**, conforme padronização internacional); Usar **25oC**, e não 25 oC (sem espaço entre o n e oC ); Usar (**P<0,05**) e não ( $p < 0,05$ ); Usar  $r^2 = 0,89$  e não  $r^2=0,89$ ; Nas tabelas inserir o valor da probabilidade como “valor de P”; Nas tabelas e texto utilizar média  $\pm$  desvio padrão (15,0  $\pm$  0,5). Devem ser evitadas abreviações não-consagradas, como por exemplo: “o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6”. Este tipo de redação é muito cômodo para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Escreva os resultados e apresente suporte com dados. Não seja redundante incluindo os mesmos dados ou resultados em tabelas ou figuras.

**DISCUSSÃO** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Discussão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Apresente a sua interpretação dos seus dados. Mostre a relação entre fatos ou generalizações reveladas pelos seus resultados. Aponte exceções ou aspectos ainda não resolvidos. Mostre como os seus resultados ou interpretações concordam com trabalhos previamente publicados ou discordam deles, mas apresente apenas trabalhos originais, evitando citações de terceiros. Discuta os aspectos teóricos e/ou práticos do seu trabalho. Pequenas especulações podem ser interessantes, porém devem manter relação factual com os seus resultados. Afirmações tais como: "Atualmente nós estamos tentando resolver este problema..." não são aceitas. Referências a "dados não publicados" não são aceitas. Conclua sua discussão com uma curta afirmação sobre a significância dos seus resultados.

**CONCLUSÕES** - preferencialmente redigir a conclusão em parágrafo único, baseada nos objetivos. Devem se apresentar de forma clara e sem abreviações. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Conclusão” (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**AGRADECIMENTOS** - os agradecimentos pelo apoio à pesquisa serão incluídos nesta seção. Seja breve nos seus agradecimentos. Não deve haver agradecimento a autores do trabalho. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Agradecimento” (escrita em caixa baixa).

**NOTAS INFORMATIVAS** - quando for o caso, antes das referências, deverá ser incluído parágrafo com informações e número de protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética e ou Biossegurança. (quando a Comissão de Ética pertencer à própria instituição onde a pesquisa foi realizada, deverá constar apenas o número do protocolo).

**REFERÊNCIAS** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra “Referências” (escrita em caixa alta e negrito). Omitir a palavra bibliográficas. Alinhada somente à esquerda. Usar como base as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 10520 (NB 896) - 08/2002). Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es). Os destaques deverão ser em **NEGRITO** e os nomes científicos, em **ITÁLICO**. **NÃO ABREVIAR O TÍTULO DOS PERIÓDICOS**. Indica-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes. Mencionam-se os autores separados por ponto e vírgula. Digitá-las em espaço simples e formatá-las segundo as seguintes instruções: no menu

FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... ESPAÇAMENTO...ANTES...6 pts.**Exemplo de como referenciar:**

#### **ARTIGOS DE PERIÓDICOS:**

JOCHLE, W.; LAMOND, D.R.; ANDERSEN, A.C. Mestranol as an abortifacient in the bitch. **Theriogenology**, v.4, n.1, p.1-9, 1975.

**Livros e capítulos de livro.** Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sine nomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.l.: s.n.].

#### **REFERÊNCIA DE LIVROS (*in totum*):**

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Small animal practice**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1997. 1467 p.

#### **REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS:** (Capítulo com autoria)

SMITH, M. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986, Cap.x, p.585-586.

#### **REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS:** (Capítulo sem autoria)

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4., p.72-90.

**OBRAS DE RESPONSABILIDADE DE UMA ENTIDADE COLETIVA:** A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

#### **REFERÊNCIA DE TESE/DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA:**

BACILA, M. **Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos**. 1989. Curitiba, 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

#### **REFERÊNCIA DE PUBLICAÇÕES EM CONGRESSOS:**

KOZICKI, L.E.; SHIBATA, F.K. Perfil de progesterona em vacas leiteiras no período do puerpério, determinado pelo radioimunoensaio (RIA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, XXIV., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996, p. 106-107.

RESTLE, J.; SOUZA, E.V.T.; NUCCI, E.P.D. et al. Performance of cattle and buffalo fed with different sources of roughage. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.301-303.

**REFERÊNCIA DE ARTIGOS DE PERIÓDICOS ELETRÔNICOS:** Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão "Disponível em: xx/xx/xxxx" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Acesso em: xx/xx/xxxx."

PRADA, F.; MENDONÇA Jr., C. X.; CARCIOFI, A. C. [1998]. Concentração de cobre e molibdênio em algumas plantas forrageiras do Estado do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.6, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/> Acesso em: 05/09/2000.

MÜELLER, Suzana Pinheiro Machado. A comunicação científica e o movimento de acesso livre ao conhecimento. *Ciência da Informação*, Brasília, v. 35, n. 2, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 13/05/2007.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral em ruminantes**. Disponível em: [http://www.ussoymeal.org/ruminant\\_s.pdf](http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf). Acesso em: 12/10/2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônico...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/1997.

**CITAÇÃO DE TRABALHOS PUBLICADOS EM CD ROM:** Na citação de material bibliográfico publicado em CD ROM, o autor deve proceder como o exemplo abaixo:

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1999, 17par. CD-ROM. Forragicultura. Avaliação com animais. FOR-020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Bases de dados em Ciência e Tecnologia**. Brasília, n. 1, 1996. CD-ROM.

**E.mail** Autor, < e-mail do autor. "Assunto", Data de postagem, e-mail pessoal, (data da leitura)

**Web Site** Autor [se conhecido], "Título"(título principal, se aplicável), última data da revisão [se conhecida], < URL (data que foi acessado)

**FTP**Autor [se conhecido] "Título do documento"(Data da publicação) [se disponível], Endereço FTP (data que foi acessado)

**CITAÇÕES NO TEXTO:** As citações no texto deverão ser feitas em caixa baixa. Quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados, seguido apenas do ano da publicação; três ou mais autores, citar o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. obedecendo aos exemplos abaixo:

Silva e Oliveira (1999)

Schmidt et al. (1999)

(Silva et al., 2000)

## 7. VITA

Médica Veterinária formada pela Universidade Estadual do Centro Oeste, em 2007. Concluiu o curso de Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais pela Universidade Castelo Branco, em 2009. Têm experiência prática nas áreas de Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos animais com ênfase em Oncologia e Pneumologia.

Aprovada no Processo Seletivo 2013, nível Doutorado, do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná - UFPR