

RONISE TOCHETO

**INFLUÊNCIA DO USO DO PRP ATIVADO E NÃO ATIVADO NA CICATRIZAÇÃO
DE FERIDAS EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL
TOTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal.

Orientador: Nilson Oleskovicz.

LAGES, 2024

RONISE TOCHETO

**INFLUÊNCIA DO USO DO PRP ATIVADO E NÃO ATIVADO NA CICATRIZAÇÃO
DE FERIDAS EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL
TOTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal.

Banca Examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Nilson Oleskovicz

Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC

Membro: Prof. Dr. Rafael Kretzer Carneiro

Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC

Membro: Prof. Dr. Aury Nunes de Moraes

Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC

Membro: Profa. Dra. Anna Laetícia Trindade Barbosa

Departamento de Medicina Veterinária UFJF- MG

Membro: Profa. Dra. Bruna Ditzel da Costa Regalin

Departamento de Medicina Veterinária UFJ - GO

Membro suplente interno: Prof. Dr. Ademar Luiz Dallabrida

Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC

Membro suplente externo: Profa. Dra. Andréia Vielmo

Departamento de Medicina Veterinária – UNOESC - CN

LAGES, 2024.

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Tocheto, Ronise

Influência do uso do PRP ativado e não ativado na cicatrização de feridas em cadelas submetidas à mastectomia unilateral total / Ronise Tocheto. -- 2024.

72 p.

Orientador: Nilson Oleskovicz

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2024.

1. caninos. 2. malignidade tumoral. 3. neoplasia mamária. 4. plasma rico em plaquetas. 5. regeneração tecidual. I. Oleskovicz, Nilson. II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

ATA DE BANCA DE AVALIAÇÃO DE TESE DOUTORADO

Aos vinte e três de maio de dois mil e vinte e quatro, às 14h00, reuniu-se a Banca de Avaliação da Tese de Doutorado em Ciência Animal da doutoranda RONISE TOCHETO, intitulada "INFLUÊNCIA DO USO DO PRP ATIVADO E NÃO ATIVADO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL TOTAL", sendo a banca composta por: Dr. Nilson Oleskovicz na qualidade de Presidente, Dra. Anna Laetícia da Trindade Barbosa, Dra. Bruna Ditzel da Costa Regalin, Dr. Aury Nunes de Moraes e Dr. Rafael Kretzer Carneiro na qualidade de membros. Sendo membros suplentes o Dr. Ademar Luiz Dallabrida e a Dra. Andréia Vielmo. Após defesa pública da referida Tese pela Doutoranda perante a Banca e o público presente, a Banca de Avaliação atribuiu à mesma a seguinte avaliação:

Membro da Banca	Assinatura
Dr. Nilson Oleskovicz – UDESC/Lages - SC (presidente)	
Dra. Anna Laetícia da Trindade Barbosa - Universidade Federal de Juiz de Fora - MG (membro externo)	
Dra. Bruna Ditzel da Costa Regalin - Universidade Federal de Jataí - GO (membro externo)	
Dr. Aury Nunes de Moraes - UDESC/Lages - SC (membro)	
Dr. Rafael Kretzer Carneiro - UDESC/Lages - SC (membro)	
Dr. Ademar Luiz Dallabrida - UDESC/Lages - SC (suplente)	
Dra. Andréia Vielmo - UNOESC - SC (suplente)	

Avaliação Final - Parecer da Banca:

- Aprovação
 Aprovação mediante correções
 Reprovação

Observações: _____

Lages, 23 de maio de 2024.

Visto do Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal:

Documento assinado digitalmente
 BRUNA DITZEL DA COSTA REGALIN
 Data: 24/05/2024 08:45:27-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Despacho para Secretaria em:

Documento assinado digitalmente
 ANNA LAETICIA DA TRINDADE BARBOSA
 Data: 24/05/2024 23:16:35-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>



Assinaturas do documento



Código para verificação: 64X8OWG9

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:

- 
NILSON OLESKOVICZ (CPF: 866.XXX.209-XX) em 28/05/2024 às 11:10:23
 Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:39:17 e válido até 30/03/2118 - 12:39:17.
 (Assinatura do sistema)
- 
AURY NUNES DE MORAES (CPF: 186.XXX.869-XX) em 28/05/2024 às 21:59:27
 Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:43:29 e válido até 30/03/2118 - 12:43:29.
 (Assinatura do sistema)
- 
RAFAEL KRETZER CARNEIRO (CPF: 079.XXX.669-XX) em 29/05/2024 às 19:00:17
 Emitido por: "SGP-e", emitido em 20/03/2023 - 12:37:02 e válido até 20/03/2123 - 12:37:02.
 (Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFUDNMTlwMjJMDAwMjE5MTBhMjE5NDZlMjYyNF82NFg4T1dHOQ==> ou o site <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo UDESC 00021910/2024 e o código 64X8OWG9 ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.

AGRADECIMENTOS

A elaboração desse estudo não seria possível sem a colaboração, auxílio e empenho de diversas pessoas, de uma equipe. Gostaria de expressar a minha imensa gratidão a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que esta tarefa se tornasse possível.

Agradeço à Deus e aos Seres de Luz por me guiarem, iluminarem e me darem equilíbrio e condições para enfrentar os problemas, as dificuldades e seguir em frente com os meus objetivos nessa fase de vida acadêmica.

Agradeço aos meus pais, Vitorino e Eda Tochetto, meu irmão Rodrigo, minha cunhada Eliziane e sobrinho Pedro Lorenzo por serem modelos, ética, pelo amor incondicional, apoio, incentivo e carinho dedicados ao longo de todas as etapas da minha vida. Agradeço também por entenderem a minha ausência/distância em muitos momentos de confraternização familiar.

Agradeço ao meu Orientador, Nilson Oleskovicz, pela oportunidade de me orientar mais uma vez, agora no Doutorado, pela ajuda e estímulo para ingressar a minha trajetória na vida acadêmica e na docência. Sem o seu estímulo, eu não teria acreditado que era capaz e nem descobriria a paixão pela docência, muito obrigada!

Aos grandes amigos que fiz durante esta fase, que tão bem me fizeram, não há palavras para agradecer a amizade, apoio, carinho, parceria e conselhos, na alegria e na tristeza enfim, em todos os momentos, o meu maior e mais sincero obrigada! Não citarei nomes, porque cada um foi agradecido pessoalmente no momento oportuno, e para não correr o risco de cometer a falha de deixar algum sem citar aqui. Obrigada mais uma vez, levarei todos no meu coração! Gratidão eterna!

A todos que estão e que passaram pelo Grupo Anest/Vet/Cav, agradeço pela acolhida, parceria e amizade em tantos projetos executados durante estes longos anos de UDESC, quero agradecer imensamente pela experiência e aprendizados adquiridos e compartilhados por todos. Gratidão!

Da mesma forma, agradeço aos professores da UDESC, principalmente do HCV, pela amizade, parceria e aprendizado.

À equipe do HCV, que além da amizade e carinho, me apoiaram e auxiliaram ao longo dessa etapa, minha Gratidão!

Agradeço também aos colegas do LABOPEVE – UFSC, Curitibanos, em especial ao Professor Adriano e acadêmico Jean e toda a sua equipe, que

processaram e me auxiliaram muito durante o processamento das análises histológicas e estatísticas e que sempre foram extremamente educados e solícitos comigo. Gratidão!

Preciso agradecer em especial, meus colegas que fizeram parte do estudo, tanto da equipe anestésica como da equipe cirúrgica e laboratorial (Patologia Clínica), cada um de vocês teve papel fundamental para que tudo fosse feito, cada um na sua área colaborou imensamente para a execução deste projeto. Muito obrigada! Em especial, preciso agradecer a minha amiga Luara, que ajudou imensamente nas intermináveis avaliações do pós-operatório e muitas outras mais... juntamente com a nossa querida Bolsista Aline...Minha gratidão eterna! Agradeço também a querida Julieta e à Maísa, pela ajuda na preparação dos PRPs e citologia, sempre muito disponíveis e gentis, obrigada de coração!

Agradeço à FUMDES, pelo fornecimento da Bolsa durante estes 4 anos de doutorado, à Udesc pela oportunidade da Docência e Pós-graduação e atualmente a Unoesc, pela oportunidade de continuar trabalhando com o que me faz feliz e realizada, à docência em Cirurgia Veterinária de Pequenos Animais.

Por fim, agradeço a todas as nossas pacientes e seus tutores que fizeram parte desta pesquisa, porque sem eles, nada seria possível, espero que de alguma forma eu e meus colegas conseguimos retribuir o esforço e disponibilidade de cada um, através da cura ou melhora da qualidade de vida destes animais.

Gratidão!

RESUMO

TOCHETO, R. **Influência do uso do prp ativado e não ativado na cicatrização de feridas em cadelas submetidas à mastectomia unilateral total.** 2024. 72p. Tese (Doutorado em Ciência Animal – Área: Cirurgia Veterinária) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2024.

As neoplasias mamárias são cada vez mais frequentes na rotina de pequenos animais, principalmente em cadelas não castradas e de idade avançada, com prognóstico desfavorável devido à alta incidência de malignidade. A mastectomia é considerada a principal modalidade para o tratamento das neoplasias mamárias em cadelas. Devido ao grande dano tecidual causado pelo procedimento cirúrgico este estudo objetivou avaliar a resposta cicatricial bem como as possíveis complicações após a realização de mastectomia unilateral total em cadelas com o uso de plasma rico em plaquetas ativado (PRPa) e não ativado (PRPn). Foram realizadas mastectomias unilaterais totais em 24 cadelas com neoplasias mamárias, estes animais foram alocados em três grupos: PRPa, PRPn e GC (grupo controle) com 8 animais cada. Após a ressecção cirúrgica da cadeia mamária, aplicou-se sobre a ferida, conforme seu respectivo grupo, a solução de plasma rico em plaquetas ativado, não ativado ou solução fisiológica. No pós-operatório foram realizadas avaliações macroscópicas da ferida cirúrgica nos momentos 24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias. Também foram coletadas duas biopsias incisionais no 5º e 10º dia de pós-operatório com o intuito de realizar a avaliação histológica da cicatrização através da coloração com HE e tricrômio de Masson. Neste estudo, não foram encontradas evidências que diferem grandemente entre os grupos que utilizaram o PRP, entretanto ao analisar a aplicabilidade dos produtos, o PRP não ativado demonstrou ter uma aplicação mais fácil e rápida distribuição no grande leito cirúrgico produzido pela mastectomia. Adicionalmente, com intuito de avaliar os fatores epidemiológicos relacionados aos animais participantes deste estudo, foram coletados dados como: idade, raça, ocorrência ou não de castração, uso de progestágenos, fatores clínicos-patológicos como, estadiamento através do sistema TNM, tempo de evolução, localização, tipo tumoral e recidiva tumoral pós-cirúrgica após seis meses. Os dados foram obtidos através da anamnese, exame clínico com ênfase na avaliação da cadeia mamária para presença de nodulações. A idade média das cadelas com neoplasias mamárias foi de 9,2 anos, e a incidência de neoplasia, foi de 64% das pacientes com menos de 10 anos e 36% nas cadelas com idade acima de 10 anos e a raça mais acometida foi a SRD. No momento do diagnóstico das neoplasias, 76% das pacientes não eram castradas e administração de progestágenos foi realizada em mais da metade das cadelas. O percentual de malignidade tumoral chegou a 96%, sendo mais prevalente o carcinoma em tumor misto, que representou mais da metade de todas as neoplasias diagnosticadas. Os resultados obtidos neste levantamento reforçam a importância da conscientização dos tutores de nossa região, sobre a prevenção das neoplasias

mamárias em cadelas, visto à alta taxa de malignidade observada e casos avançados da doença.

Palavras-chave: Caninos, malignidade tumoral, neoplasia mamária, Plasma rico em plaquetas, regeneração tecidual.

ABSTRACT

TOCHETO, R. **Influence of the use of activated and non-activated prp on wound healing in bitches undergoing total unilateral mastectomy.** 2024. 72p. Thesis (Doctorate in Animal Science – Area: Veterinary Surgery) – State University of Santa Catarina. Postgraduate Program in Animal Science, Lages, 2024.

Mammary neoplasms are increasingly common in the routine of small animals, especially in unneutered and older female dogs, with an unfavorable prognosis due to the high incidence of malignancy. Mastectomy is considered the main modality for the treatment of mammary neoplasms in bitches. Due to the great tissue damage caused by the surgical procedure, this study aimed to evaluate the healing response as well as possible complications after performing total unilateral mastectomy in bitches with the use of activated (PRPa) and non-activated (PRPn) platelet-rich plasma. Total unilateral mastectomies were performed on 24 bitches with mammary neoplasms, these animals were allocated into three groups: PRPa, PRPn and GC (control group) with 8 animals each. After surgical resection of the mammary chain, activated or non-activated platelet-rich plasma or saline solution was applied to the wound, depending on its respective group. Postoperatively, macroscopic evaluations of the surgical wound were carried out at 24 moments; 48; 72 hours; 5 and 10 days. Two incisional biopsies were also collected on the 5th and 10th postoperative day in order to perform a histological assessment of healing through staining with HE and Masson's trichrome. In this study, no evidence was found that differed greatly between the groups that used PRP, however, when analyzing the applicability of the products, non-activated PRP demonstrated easier application and faster distribution in the large surgical bed produced by mastectomy. Additionally, in order to evaluate the epidemiological factors related to the animals participating in this study, data were collected such as: age, breed, occurrence or not of castration, use of progestins, clinical-pathological factors such as staging using the TNM system, time of evolution, location, tumor type and post-surgical tumor recurrence after six months. Data were obtained through anamnesis and clinical examination with emphasis on evaluating the mammary chain for the presence of nodulations. The average age of bitches with mammary neoplasms was 9.2 years, and the incidence of neoplasia was 64% in patients under 10 years old and 36% in bitches over 10 years old and the most affected breed was the SRD. At the time of diagnosis of neoplasms, 76% of patients were not spayed and administration of progestins was performed in more than half of the bitches. The percentage of tumor malignancy reached 96%, with mixed tumor carcinoma being the most prevalent, which represented more than half of all diagnosed neoplasms. The results obtained in this survey reinforce the importance of raising awareness among owners in our region about the prevention of mammary neoplasms in bitches, given the high rate of malignancy observed and advanced cases of the disease.

Keywords: Canines, mammary neoplasia, Platelet-rich plasma, tissue regeneration tumor malignancy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1 – Representação da tabela utilizada no estudo, para a Estadiamento Clínico (TNM) das neoplasias mamárias em cadelas. (T: tumor / N: linfonodo sentinela / M: metástase).....25

Figura 2 - Fluxograma utilizado para a confecção do PRP que demonstra todas as fases do processamento do PRP desde a colheita de sangue venoso do paciente até aplicação do produto final ativado ou não ativado sobre o leito da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total.....27

Figura 3 - Imagens demonstrando as feridas cirúrgicas após a ressecção completa das cadeias mamárias que recebiam o tratamento. A Imagem A demonstra o momento da aplicação do PRP não ativado com auxílio de uma seringa de 1mL estéril sobre o leito da ferida cirúrgica após a ressecção completa da cadeia mamária. Da mesma forma em B, aplicação da solução fisiológica no leito da ferida (GC), em C o círculo destaca o gel de PRP formado após a sua ativação, antes da distribuição sobre a ferida cirúrgica e, em D observa-se os frascos com a solução de PRP não ativado imediatamente após o preparo, prontos para o uso.....28

Figura 4 - Esquema demonstrando os momentos e critérios utilizados para a avaliação macroscópica pós-operatória da ferida cirúrgica das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (H - horas)29

Figura 5 - Imagens fotográficas dos momentos das avaliações macroscópicas das feridas cirúrgicas de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total. Na imagem A, nota-se o aspecto da ferida cirúrgica as 24 horas, em B a ferida após 48 horas e em C após 72 horas. Nas imagens D e E, observa-se o aspecto das feridas cirúrgicas após 5 e 10 dias de pós-operatório, respectivamente.....30

Figura 6 - A Imagem A demonstra o momento da realização da biópsia incisional com auxílio de *Punch* no décimo dia de pós-operatório. Em B, observa-se o defeito criado após a remoção do fragmento de pele próximo a região da cicatriz da ferida cirúrgica de cadelas submetidas a mastectomia unilateral total.....31

Figura 7 - Esquema demonstrando os momentos e critérios utilizados para a avaliação microscópica pós-operatória da ferida cirúrgica das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total.....32

Figura 8 - Fotomicrografia ótica (10x) de amostras teciduais (biópsia incisional – 5^o e 10^o dia de pós-operatório, A e B respectivamente) de cadela submetida a mastectomia unilateral total, corada com Tricrômio de Masson para avaliação do colágeno. A

coloração azul (*) demonstra a presença de tecido conjuntivo fibroso.....33

CAPÍTULO II

Figura 1 - Sistema de Estadiamento Clínico (TNM) das neoplasias mamárias em cadelas. (T: tumor / N: linfonodo sentinela / M: metástase) utilizado no estudo.....55

Figura 2 - Imagens fotográficas do procedimento cirúrgico de mastectomia unilateral total direita realizado em uma cadela do estudo. Em A, observa-se a preparação do campo operatório após a colocação dos panos cirúrgicos. Em B, visualiza-se a ferida cirúrgica, após a remoção da cadeia mamária direita e, em C, observa-se o aspecto final da cirurgia após a síntese tecidual.....56

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO I

Gráfico 1 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo PRP não ativado.....36

Gráfico 2 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo PRP ativado.....37

Gráfico 3 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo Controle.....37

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Resultados das avaliações macroscópicas da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, divididos em tipo de avaliação macroscópica (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) nos grupos (PRPa/PRPn e Controle).....39

Tabela 2 - Resultados das avaliações microscópicas da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, divididos em tipo de avaliação microscópica (proliferação vascular; reação inflamatória; proliferação de fibroblastos; colageinização; hemorragia e reepitelização); momentos das avaliações (5 e 10 dias de pós-operatório) nos grupos (PRPa/PRPn e Controle)40

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Estadiamento Clínico TNM, das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, atendidas no Hospital de Clínicas Veterinárias CAV/UFSC, baseado no sistema descrito por Cassali et al. (2020) dividido por faixa etária (menor e maior de 10 anos)58

Tabela 2 - Distribuição dos animais submetidos à mastectomia unilateral total, avaliados no estudo, onde descreve-se individualmente a raça, idade (anos) peso (kg) e *status* reprodutivo (castrada ou inteira), uso de progestágenos (S – sim/ N – não e NSI – não sabem informar) com suas respectivas médias.....61

Tabela 3 - Diagnóstico histopatológico das neoplasias mamárias avaliadas pelo LABOPAVE/UFSC, com o número de glândulas acometidas e valores representados em percentual para cada tipo tumoral, de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, baseado na descrição histológica de Cassali et al. (2017)62

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1 - Tabela utilizada durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica, onde eram registrados os dados de cada paciente, data da cirurgia e avaliações pós-operatórias. As avaliações para cada critério foram realizadas conforme o grau de intensidade, sendo 0 para ausência; 1 discreta presença; 2 moderada presença e 3 para intensa presença.....69
- Anexo 2 - Tabela utilizada para avaliação microscópica das amostras colhidas em no 5º e 10º dias de pós-operatório onde foram anotados os dados de cada paciente, data da cirurgia e critérios histopatológicos. As avaliações para cada critério foram realizadas conforme o grau de intensidade, sendo 0 para ausência; 1 discreta presença; 2 moderada presença e 3 para intensa presença.....70
- Anexo 3 - Variáveis microscópicas descritas por Garros et al. (2006) utilizadas para avaliação da cicatrização tecidual das amostras colhidas no 5º e 10º dias de pós-operatório.....71
- Anexo 4 - Imagem demonstrando o modelo da ficha utilizada para registro de dados dos animais avaliados durante o estudo.....72

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD	Ácido cítrico/citrato de sódio e dextrose
EGF	<i>Endothelial Growth Factor</i> (Fator de crescimento endotelial)
PRF	Fibrina rica em plaquetas
GC	Grupo controle
HE	Hematoxilina e Eosina
KGF	<i>Keratinocyte Growth Fator</i> (Fator de crescimento de queratinócitos)
M1	Glândula mamária torácica cranial
M2	Glândula mamária torácica caudal
M3	Glândula mamária abdominal cranial
M4	Glândula mamária abdominal caudal
M5	Glândula mamária inguinal
MPA	Medicação Pré-Anestésica
OSH	Ovariossalpingohisterectomia
PPP	Plasma pobre em Plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
PRPa	Plasma rico em plaquetas ativado
PRPn	Plasma rico em plaquetas não ativado
SRD	Sem raça definida
TGF β	<i>Transforming Growth Factor beta</i> (Fator de crescimento transformador beta)
TNM	T – Tumor / N – Linfonodo regional / M - Metástase
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (Fator de crescimento endotelial vascular)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO APÓS O USO DE PRP ATIVADO E NÃO ATIVADO EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL TOTAL	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.	21
2.1 HIPÓTESES.....	24
2.2 OBJETIVOS.....	24
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
2.5 LIMITAÇÕES ESTUDO	42
2.6 CONCLUSÕES.....	42
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
3. CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL TOTAL	49
3.1 INTRODUÇÃO	52
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	64
3.5 CONCLUSÕES.....	64
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXOS.....	69

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a maior expectativa de vida dos cães e gatos permitiu observar um importante aumento de casos de neoplasias nestas espécies (Cunha *et al.*, 2022). Os tumores mamários caninos demonstram características bastante heterogêneas e representam 50 a 70% de todos os tumores de cadelas inteiras. A prevalência dessa patologia, varia de acordo com a região, sendo maior em países onde a castração não é realizada de forma rotineira (Sorenmo; Worlei e Zapulli, 2020).

A maioria destas neoplasias são malignas e estão associadas a alta mortalidade (Nunes *et al.*, 2018) e historicamente, mais de 50% dos tumores mamários são considerados malignos (Moe *et al.*, 2001; Salas *et al.*, 2015 e Goldschmidt *et al.*, 2017). Entretanto, a frequência de tumores mamários benignos e malignos em cadelas diferem consideravelmente entre os estudos publicados (Valdivia *et al.*, 2021), com dados que variam entre 25 e 68% (Daleck *et al.*, 1998; Pinto, 2009; Henry, 2012; Tedardi *et al.*, 2016). Acredita-se que esta discrepância se deva principalmente devido à existência de diferentes métodos de classificação tumoral e à ausência de critérios uniformes para diferenciar os tipos de tumor (Cassali *et al.*, 2014 e 2018).

O câncer de mama é uma patologia comum principalmente em cadelas adultas idosas, não castradas ou que passaram pela castração após vários cios e, atualmente, este tipo de tumor tem sido utilizado como modelo de estudo, devido a sua semelhança com as neoplasias mamárias em mulheres (Gonçalves *et al.*, 2020). Entre as causas que contribuem para o desenvolvimento tumoral são citados fatores hormonais como o estrógeno, a progesterona e o hormônio do crescimento que podem influenciar na carcinogênese mamária (De Nardi *et al.*, 2009). Por possuírem baixas chances de cura, principalmente em estágios avançados, é importante que ocorra conscientização dos tutores principalmente em relação aos métodos de prevenção, tratamento e diagnóstico precoce destas patologias.

A mortalidade relacionada aos tumores mamários é considerada relativamente alta, sendo que mais de 40% dos pacientes morrem dentro de um ano após o diagnóstico (Nguyen *et al.*, 2018). Assim, devido à possibilidade de malignidade tumoral e ocorrência de metástase para outros órgãos, essas neoplasias devem ser tratadas cirurgicamente (Schrenk *et al.*, 2007; Cassali *et al.*, 2020). Com relação à ressecção cirúrgica radical das glândulas mamárias ainda existem controvérsias, alguns oncologistas defendem o uso de técnicas cirúrgicas mais agressivas, considerando o risco de desenvolvimento de novos tumores nas glândulas remanescentes. Além disso, é importante ressaltar que pequenas lesões também podem estar relacionadas a tumores agressivos (Cassali *et al.*, 2020).

As mastectomias unilaterais ou bilaterais apresentam maior chance de controle local do tumor, porém são consideradas técnicas agressivas, associadas ao aumento de complicações cirúrgicas e resposta cirúrgica ao trauma, podendo não melhorar o

tempo de sobrevida em cães (Dos Santos *et al.*, 2014; Horta *et al.*, 2015). A manutenção de amplas margens cirúrgicas com o objetivo de evitar recorrências locais ou metástases pode resultar na criação de grandes defeitos teciduais. O prognóstico dos pacientes com neoplasias mamárias, depende de diversos fatores, como estadiamento tumoral, tipo histológico, comportamento clínico do tumor e condição clínica do paciente (Alves e Grimalt, 2018). Em pacientes com idade avançada, observa-se fisiologicamente uma diminuição da velocidade de reepitelização, em adição, nos animais acometidos por neoplasias ocorre atraso na cicatrização em razão de caquexia, alterações no metabolismo e na função das células inflamatórias (De Nardi *et al.*, 2009).

Vários estudos sobre cicatrização de feridas em humanos e cães descreveram que o PRP (plasma rico em plaquetas) promove a epitelização da ferida, exibe atividade antimicrobiana e estimula a angiogênese (Chicharro-Alcântara *et al.*, 2018) sendo também indicado para o tratamento de distúrbios de condições inflamatórias, como tendinite e osteoartrite (Pelletier *et al.*, 2013). O plasma rico em plaquetas é um produto obtido pela centrifugação do sangue autógeno, que resulta em maior concentração de plaquetas em menor volume de plasma (Pagliosa e Alves, 2007). Sendo assim, o PRP é um produto biológico que contém uma fração plasmática de células autólogas, sangue com alta concentração de plaquetas e os fatores de crescimento associados e citocinas. Diversos fatores de crescimento e citocinas presentes no PRP, demonstraram agir individualmente e/ou sinergicamente para promover o recrutamento celular, migração, proliferação celular, angiogênese e osteogênese (Arnoczky e Sheibani-Rad, 2014; Alves *et al.*, 2018). A comprovação da eficácia do uso do PRP já foi demonstrada em vários estudos (Silva *et al.*, 2011; Vendrusculo *et al.*, 2012; Garcez *et al.*, 2013; e Chicharro-Alcântara *et al.*, 2018) e ainda muitos pesquisadores buscam o conhecimento da eficácia dos efeitos biológicos do PRP quando aplicado em tecidos moles, osso e tegumento (Anitua, 2007). Assim, o PRP está sendo utilizado atualmente em caninos como um potencializador biológico da cicatrização de feridas (Carr, 2022).

Atualmente são relatadas abordagens terapêuticas inovadoras baseadas no uso de plaquetas e seus derivados para o tratamento de várias doenças em cães, como condições inflamatórias (tendinite e osteoartrite) e na cicatrização de feridas ou reparação tecidual (Cortese *et al.*, 2020, Carr, 2022). Pesquisas como estas são de grande importância, pois permitem a elaboração de novos compostos terapêuticos que possam ser empregados em cirurgias que produzem grande trauma tecidual e em pacientes com algum tipo de alteração nos mecanismos normais da cicatrização, como pacientes oncológicos e geriátricos.

CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO APÓS O USO DE PRP ATIVADO E NÃO ATIVADO EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL TOTAL

RESUMO

A mastectomia é considerada a principal modalidade para o tratamento das neoplasias mamárias em cadelas. O plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto derivado de um processo de centrifugação de uma amostra sanguínea com maior concentração de plaquetas, que são consideradas adjuvantes no processo cicatricial pós-operatório, auxiliando nos processos de hemostasia e estimulação da angiogênese. Dessa forma, devido às alterações negativas esperadas na resposta cicatricial de pacientes geriátricos e oncológicos, delineou-se um estudo a fim de avaliar a resposta cicatricial após a realização de mastectomia unilateral total em cadelas com o uso de PRP ativado (PRPa) e não ativado (PRPn). Foram realizadas mastectomias unilaterais totais em 24 cadelas com neoplasias mamárias, estes animais foram alocados em 3 distintos grupos, o primeiro grupo foi denominado PRPa, PRPn e por último o GC (grupo controle) com 8 animais cada. Após a ressecção cirúrgica da cadeia mamária acometida, aplicou-se sobre a ferida, em seu respectivo grupo, solução de PRPa, PRPn ou solução fisiológica. No pós-operatório foram realizadas avaliações macroscópicas da ferida cirúrgica nos momentos 24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias. Adicionalmente, foram coletadas duas biopsias incisionais no 5º e 10º dia de pós-operatório com o intuito de realizar a avaliação histológica da cicatrização através da coloração com HE e tricrômio de Masson. Na avaliação microscópica da cicatrização, a reação inflamatória foi mais intensa, apenas no 5º dia de avaliação no grupo PRPa quando comparado ao PRPn. Com relação ao critério reepitelização, no 5º dia de avaliação pós-operatório, o grupo PRPn demonstrou melhor epitelização quando comparado ao grupo Controle. Da mesma forma, no 10º dia ambos os grupos PRPa e PRPn apresentaram diferença significativa comparada ao GC, com maior grau de reepitelização. Dentro do mesmo grupo, houve diferença estatística entre momentos, no grupo Controle a hemorragia foi maior no 5º dia quando comparado ao 10º dia de pós-operatório, de forma inversa, a reepitelização, foi mais significativa no 10º dia em comparação ao 5º dia no GC. No grupo PRPa a diferença estatística ocorreu no critério reepitelização, onde houve maior epitelização no 10º dia, quando comparado ao 5º dia de pós-operatório. Não foram encontradas evidências que diferem grandemente entre os grupos que utilizaram o PRP, entretanto ao analisar a aplicabilidade dos produtos, o PRP não ativado demonstrou ter uma aplicação mais fácil e rápida distribuição no grande leito cirúrgico produzido pela mastectomia.

Palavras chave: caninos, neoplasia mamária, regeneração tecidual, plasma rico em plaquetas

MACRO AND MICROSCOPIC EVALUATION OF HEALING AFTER THE USE OF ACTIVATED AND NON-ACTIVATED PRP IN FEMALE DOGS SUBMITTED TO TOTAL UNILATERAL MASTECTOMY.

ABSTRACT

Mastectomy is considered the main modality for the treatment of breast neoplasms in chains. Platelet-rich plasma (PRP) is a product derived from a centrifugation process of a blood sample with a higher concentration of platelets, which are considered adjuvants in the postoperative healing process, assisting in the hemostasis processes and stimulation of angiogenesis. Therefore, due to the negative changes expected in the healing response of geriatric and oncological patients, a study was designed to evaluate the healing response after performing total unilateral mastectomy in chains with the use of activated PRP (PRPa) and non-activated PRP (PRPn). Total unilateral mastectomies were performed on 24 bitches with mammary neoplasms, these animals were allocated into 3 different groups, the first group was called PRPa, PRPn and finally the GC (control group) with 8 animals each. After surgical resection of the affected mammary chain, PRPa, PRPn or saline solution is applied to the wound, in its specific group. Postoperatively, macroscopic evaluations of the surgical wound were carried out at 24 moments; 48; 72 hours; 5 and 10 days. Additionally, two incisional biopsies were collected on the 5th and 10th postoperative day in order to perform a histological assessment of healing through staining with HE and Masson's trichrome. In the microscopic evaluation of healing, the inflammatory occurrence was more intense, only on the 5th day of evaluation in the PRPa group when compared to PRPn. Regarding re-epithelialization classifications, on the 5th day of postoperative evaluation, the PRPn group declared better epithelialization when compared to the Control group. Likewise, on the 10th day both PRPa and PRPn groups showed a significant difference compared to the CG, with a greater degree of re-epithelialization. Within the same group, there was a statistical difference between moments, in the Control group hemorrhage was greater on the 5th day compared to the 10th day postoperatively, conversely, re-epithelialization was more significant on the 10th day compared to the 5th day in the GC. In the PRPa group, the statistical difference occurred in the re-epithelialization categories, where there was greater epithelialization on the 10th day, when compared to the 5th postoperative day. No evidence was found that was very common among the groups that used PRP, however, when analyzing the applicability of the products, non-activated PRP demonstrated easier application and faster distribution in the large surgical bed produced by mastectomy.

Keywords: canine, mammary neoplasia, tissue regeneration, platelet-rich plasma.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As neoplasias mamárias estão entre as principais neoplasias diagnosticadas, ocupando o segundo lugar em cadelas. Estas, ocorrem com maior frequência nas fêmeas e a malignidade varia bastante conforme os estudos, podendo variar de 25 até 68% (Daleck *et al.*, 1998; Pinto, 2009; Henry, 2012; Tedardi *et al.*, 2016) e estão associados a alta mortalidade (Nunes *et al.*, 2018).

Com relação à ressecção cirúrgica radical das glândulas mamárias ainda há muita controvérsia e alguns oncologistas defendem o uso de técnicas cirúrgicas mais agressivas, considerando o risco de desenvolvimento de novos tumores em glândulas remanescentes. Atualmente sabe-se que pequenas lesões também podem estar relacionadas a tumores invasivos (Cassali *et al.*, 2020). A cirurgia é considerada o procedimento padrão ouro na terapêutica dos tumores mamários (Macphail, 2013; Cassali *et al.*, 2020) pois permite o diagnóstico histopatológico, eventualmente curativo, melhorando a qualidade de vida e modificando a progressão da doença (Macphail, 2013; Sleenckx *et al.*, 2011). Também é considerada a terapia mais efetiva para o controle regional da doença (Sorenmo, 2003; Cassall *et al.*, 2020). Portanto, a remoção cirúrgica completa de tumores que ainda não apresentam metástases é o procedimento terapêutico que apresenta maior probabilidade de cura para esta doença (Cassali *et al.*, 2020).

Existem diferentes tipos de procedimentos cirúrgicos descritos de acordo com o estado clínico do animal, tamanho tumoral, localização, drenagem linfática e preferência do cirurgião (Euler, 2011; Macphail, 2013; Cassali *et al.*, 2014). Deve ser realizada a excisão de todos os tumores e, caso esta não possa ser completada em um único procedimento, 3 ou 4 semanas após a primeira intervenção deverá ser agendada uma nova cirurgia (Macphail, 2013). O adiamento da cirurgia não é recomendável, pois o tamanho do tumor é considerado fator prognóstico e caso o tumor apresente um elevado grau de malignidade ou as margens cirúrgicas sejam insuficientes, poderá ser necessário repetir o procedimento (Euler, 2011).

Um estudo de Horta *et al.* (2015) comparou grau de estresse cirúrgico e a ocorrência de complicações pós-operatórias entre cadelas submetidas à mastectomias parciais ou totais, estes autores verificaram que as mastectomias totais promovem maior tempo cirúrgico, estresse, estímulo nociceptivo bem como aumento da incidência de complicações pós-operatórias em cadelas.

A manutenção de margens cirúrgicas limpas com o objetivo de evitar recorrências locais ou metástases pode resultar na criação de grandes defeitos teciduais. Diante disso, a ocorrência de seroma, hematoma, infecção, tensão exagerada na borda da ferida e necrose tecidual podem culminar com a deiscência de sutura e complicações na cicatrização. É descrito na literatura, redução da

velocidade de reepitelização em pacientes com idade avançada e em animais acometidos por neoplasias, o que acarreta atraso na cicatrização em razão de fatores como caquexia, alterações no metabolismo e na função das células inflamatórias (De Nardi *et al.*, 2009).

De acordo com Albuquerque *et al.* (2008), a cicatrização de feridas é o resultado do conjunto de fenômenos celulares, moleculares, fisiológicos e bioquímicos que por meio da quimiotaxia, neovascularização, proliferação, depósito e reorganização da matriz extracelular levam a reparação da ferida. Durante a cicatrização das feridas ocorrem três processos complexos e fundamentais na consolidação da lesão: a inflamação, a proliferação (reepitelização, síntese da matriz e neo-vascularização) e a maturação (Tazima *et al.*, 2008).

A plaqueta é a célula chave no começo da cicatrização, pois libera citocinas e fatores de crescimento essenciais que estimulam todo o processo cicatricial (Hosgood, 2013). As principais funções destas citocinas estão relacionadas com a resposta inflamatória, angiogênese, reepitelização, deposição e remodelação da matriz extracelular pela promoção da síntese de colágeno e proteoglicanos, enquanto inibe a ação da atividade de proteases (Vendramin *et al.*, 2006). De acordo com Andia *et al.* (2012) o PRP controla vários processos biológicos como a angiogênese, inflamação, proliferação e migração celular, bem como processos da matriz extracelular e são os fatores de crescimento que estão envolvidos diretamente nestas funções.

A introdução de abordagens terapêuticas inovadoras baseadas no uso de plaquetas e seus derivados, como concentrados de plaquetas, plasma rico em plaquetas (PRP) e fibrina rica em plaquetas (PRF), para o tratamento de distúrbios de condições inflamatórias, como tendinite e osteoartrite, tem aumentado consideravelmente. Fatores de crescimento, citocinas e outros compostos bioativos presentes nesses produtos plaquetários são ativos na regeneração tecidual (Pelletier *et al.*, 2013) atuando em diversos processos fisiológicos e fisiopatológicos (Cortese *et al.*, 2020). O PRP é um produto obtido pela centrifugação do sangue autógeno, que resulta em maior concentração de plaquetas em menor volume de plasma e os fatores de crescimento associados à estas células (Pagliosa e Alves, 2007).

A produção do PRP inicialmente foi utilizada para reduzir a ocorrência de hemorragias durante a realização de procedimentos cirúrgicos, entretanto, o seu uso foi se tornando cada vez mais difundido nas diversas modalidades cirúrgicas humanas, e em 1998 de acordo com Albuquerque *et al.*, (2008), foi publicado um artigo relatando o sucesso na cicatrização de enxertos ósseos quando associados ao PRP. Após este episódio, o produto começou a ser utilizado com sucesso em cirurgias ortopédicas, cardíacas, plásticas, geral, vascular, neurológica, obstétrica, ginecológica e oftálmica (Vendramin *et al.*, 2010). Por ser desenvolvido a partir do sangue autólogo, o PRP é seguro por não transmitir doenças infectocontagiosas e não desencadear rejeições por parte do organismo receptor (Marx, 2004). De acordo com

Carr (2022), o PRP demonstrou ser relativamente bem tolerado e seguro para várias condições em humanos, equinos e caninos.

São vários os fatores de crescimento existentes no PRP, mas os envolvidos na reparação e regeneração tecidual incluem o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), a família do fator de crescimento transformador β (TGF- β) o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) (Barriandos *et al.*, 2008; Everts *et al.*, 2006; Chein *et al.*, 2010; Carr, 2022).

A comprovação da eficácia do uso do PRP já foi demonstrada em vários estudos (Silva *et al.*, 2011; Vendrusculo *et al.*, 2012; Garcez *et al.*, 2013) e ainda muitos pesquisadores buscam o conhecimento da eficácia dos efeitos biológicos do PRP quando aplicado em tecidos moles, osso e tegumento (Anitua, 2007; Chicharro-Alcântara *et al.*, 2018). Um estudo em cães avaliou a eficácia do PRP em feridas cutâneas confeccionadas cirurgicamente, e foi constatado que as feridas tratadas com PRP tiveram menor diâmetro, maior formação de granulação e angiogênese, epitelização mais rápida e maior deposição de colágeno quando comparadas ao grupo controle, sugerindo que o PRP possui efeitos benéficos na cicatrização de feridas (Jee *et al.*, 2016). Dessa forma, o PRP está sendo usado atualmente em caninos com um potencializador biológico da cicatrização de feridas (Carr, 2022).

De acordo com Carr, (2022), ainda há debate sobre qual é a formulação ideal do PRP, mas sabe-se que ele deve conter uma concentração plaquetária mínima para contribuir para a proliferação, migração e atividades imunomoduladoras celulares. Numerosos estudos indicaram que o PRP ideal deve conter um número de plaquetas de 2 a 6 vezes em comparação com o hemograma basal, conforme a aplicação clínica (McLellan e Plevin, 2011; Hsu *et al.*, 2013; Lansdown e Fortier, 2017).

Quando se refere a ativação ou não do PRP ainda persistem muitas dúvidas, pois são descritas diversas formas de ativação exógena, e os estudos ainda geram resultados conflitantes (Carr, 2022). O argumento para a ativação exógena é que o PRP não ativado pode liberar apenas uma fração dos fatores de crescimento contido nas plaquetas (Textor *et al.*, 2011). Os métodos utilizados incluem ativação térmica, ativação com solução de trombina e com solução gluconato de cálcio (Mariane e Pusatelli, 2020). Devido à estas dúvidas, nem todos os produtos comerciais de PRP são ativados de maneira exógena antes da administração no local desejado, pois sabe-se que as plaquetas são ativadas endogenamente quando colocadas em contato com fibras de colágeno ou outros fatores de coagulação dentro da matriz extracelular *in situ* (Fufa *et al.*, 2008). Infelizmente, permanece o debate sobre se o PRP deve ou não ser ativado e, em caso afirmativo, qual agente de ativação é o melhor (Carr, 2022)

Atualmente são relatadas abordagens terapêuticas inovadoras baseadas no uso de plaquetas e seus derivados para o tratamento de várias doenças em cães, como condições inflamatórias (tendinite e osteoartrite) e na cicatrização de feridas ou reparação tecidual (Cortese *et al.*, 2020). Pesquisas como estas são de grande

importância, pois permitem a elaboração de novos compostos terapêuticos que possam ser empregados em cirurgias que produzem grande trauma tecidual e em pacientes com algum tipo de alteração nos mecanismos normais da cicatrização, como pacientes oncológicos e geriátricos.

De acordo com Cortese *et al.* (2020) e Carr (2022), algumas questões importantes ainda permanecem sem resposta em relação às terapias com produtos plaquetários, incluindo a dosagem ideal, tempo e frequência de administração dos derivados de plaquetas utilizados para várias condições de tratamento. Assim, objetivou-se avaliar a cicatrização tecidual, de forma macro e microscópica, em cadelas que foram submetidas a mastectomias unilaterais totais, com o uso de PRP ativado e não ativado, bem como se há diferença entre a ativação ou não do PRP na resposta cicatricial.

2.1 HIPÓTESES

O uso do PRP ativado (PRPa) ou não ativado (PRPn) promoverá maior qualidade na cicatrização tecidual através da avaliação macro e microscópica, reduzindo as complicações pós-operatórias, como ocorrência de necrose tecidual, hemorragia, formação de seroma e hematomas além de infecção cirúrgica, quando comparados ao grupo controle com solução fisiológica.

O uso do PRPn será de mais fácil aplicação sobre toda a extensão da ferida cirúrgica quando comparado ao PRPa e terá resultados iguais ou superiores com relação à cicatrização tecidual.

2.2 OBJETIVOS

Avaliar macroscopicamente a cicatrização de feridas cirúrgicas em cadelas e determinar se ocorre redução, com o uso do PRPa e PRPn, das possíveis complicações associadas ao trauma cirúrgico promovido pela mastectomia, como: incidência de infecção cirúrgica; ocorrência de necrose tecidual; hemorragia; formação de seroma e hematomas.

Avaliar microscopicamente, através de biopsia incisional cinco e dez dias após o procedimento cirúrgico, a resposta da cicatrização de feridas cirúrgicas em cadelas submetidas à mastectomia unilateral total com o uso de PRPa e PRPn e determinar se há diferença na resposta cicatricial microscópica, entre os tratamentos.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-estar Animal (CEUA) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), sob o número 5039250417.

Foram utilizadas 24 cadelas, fêmeas, sem raça definida, com peso médio de 12,3kg \pm 7,9 kg, (PRPn: 9,6kg ; PRPa: 14,9kg e C: 13,4kg) sem restrição de idade (idade média: 9,3 anos), ovariectomizadas ou não, provenientes da rotina cirúrgica do Hospital de Clínica Veterinária do CAV/UDESC, que apresentassem neoplasias mamárias uni ou bilaterais, não ulceradas e sem evidências de metástase pulmonar ou em órgãos abdominais, avaliadas através de radiografia torácica e ultrassonografia abdominal, respectivamente. Foram usados como critérios de exclusão do estudo, a presença de doenças sistêmicas, obesidade e prenhez.

Os nódulos foram avaliados, no momento do posicionamento cirúrgico, de acordo com a localização anatômica, tamanho, ocorrência de aderência, ulceração ou necrose para definir qual a cadeia mamária seria removida primeiro, quando havia nódulos em ambas as cadeias. O nódulo maior da cadeia mamária acometida foi mensurado e, de acordo com o seu diâmetro, o estadiamento clínico foi realizado baseado no sistema TNM conforme descrito por Cassali *et al.* (2020) (Figura 1). Os nódulos foram mensurados com auxílio de paquímetro analógico e avaliação do linfonodo sentinela foi realizada juntamente com a avaliação histológica da cadeia mamária resseccionada. Os critérios que definiram a extensão do procedimento cirúrgico foram baseados no *Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2014 e 2017*. Todos os dados foram registrados para posterior classificação TNM individual.

Figura 1 – Representação da tabela utilizada no estudo, para a Estadiamento Clínico (TNM) das neoplasias mamárias em cadelas. (T: tumor / N: linfonodo sentinela / M: metástase).

T - Tumor primário

T1 – < 3 cm de diâmetro máximo

T2 – 3- 5 cm de diâmetro máximo

T3 – > 5 cm de diâmetro máximo

T4 – Carcinoma inflamatório

N - Linfonodos regionais

N0 – Sem metástase (histologia ou citologia)

N1 – Metástase presente (histologia ou citologia)

M - Metástase distante

M0 – Nenhuma metástase distante detectada

M1 – Metástase à distância detectada

Fonte: Cassali *et al.*, (2020) (tabela modificada pelo autor, 2024).

O procedimento cirúrgico de mastectomia unilateral total foi realizado conforme a técnica descrita por Slatter (2007), sempre pelo mesmo cirurgião, obedecendo todas as regras de antisepsia cirúrgica de rotina e os princípios básicos da cirurgia geral e oncológica. Quando definido pela avaliação clínica prévia, o linfonodo axilar era

removido juntamente com a cadeia mamária, já o linfonodo inguinal sempre foi removido por estar dentro da margem cirúrgica. No momento da realização da pesquisa, utilizou-se como base para remoção dos linfonodos sentinelas o Consenso para o diagnóstico, prognóstico e tratamento de tumores mamários caninos – 2013 (Cassali *et al.* 2014).

Os animais foram alocados aleatoriamente em 3 grupos com oito animais cada (n=8), sendo denominado GC para o grupo controle, no qual era aplicado apenas solução salina na ferida cirúrgica, o grupo PRPn, ou seja, com o uso do PRP não ativado e por fim o grupo PRPa, no qual aplicava-se a solução de PRP ativada previamente (gel). O estudo era cego e apenas a equipe cirúrgica tinha conhecimento do grupo ao qual a paciente pertencia.

As avaliações pós-operatórias eram realizadas por avaliadores cegos ao tratamento. A distribuição dos animais entre os grupos experimentais foi realizada de forma aleatória por meio de sorteio, um dos membros do estudo ficou responsável por preparar o PRP ou solução placebo para o animal; ressaltando que este membro não fez parte das avaliações pós-operatórias. A administração dos fármacos, troca de curativos e a avaliação pós-operatória macro e microscópica da cicatrização foram realizadas sempre pela mesma pessoa, não ciente quanto aos grupos experimentais aos quais o animal pertenceu.

Para a confecção do PRP (ativado ou não ativado) colheu-se sangue venoso da veia jugular de cada paciente de maneira asséptica, logo após a indução anestésica, este foi acondicionado em tubos estéreis contendo ácido cítrico, citrato de sódio e dextrose (ACD) (BD Vacutainer®), com capacidade para 8,5 mL cada. Foram obtidos aproximadamente 20 mL de sangue para os animais com peso de até 8 kg e 30 mL para os animais que pesaram acima de 8kg. Em um *ependorf* contendo EDTA foi adicionado 1mL de sangue para a realização da contagem plaquetária do paciente, para posterior comparação entre os valores basais e do PRP. Logo após a colheita do sangue, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da mesma instituição para o preparo o PRP enquanto a paciente era preparada para a mastectomia.

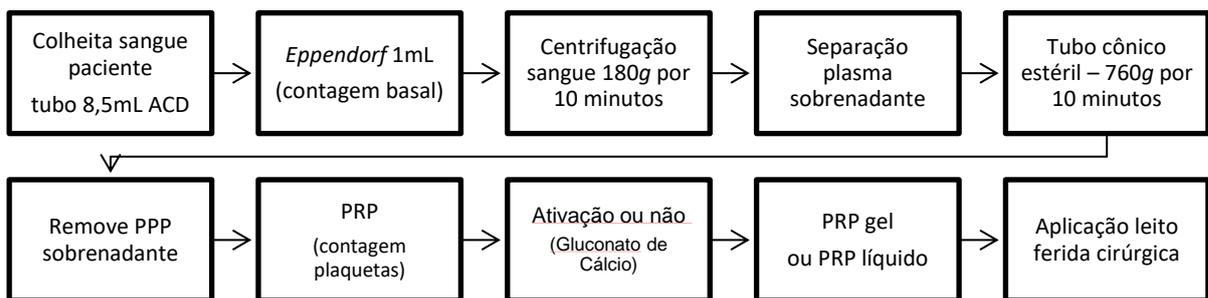
As amostras sanguíneas foram homogeneizadas e centrifugadas em baixa rotação (180g) por 10 minutos, após a centrifugação realizou-se a separação da porção do plasma sobrenadante que continha as plaquetas. O plasma sobrenadante dos tubos foi retirado e acondicionado em tubo cônico estéril com capacidade para 15 mL. Na sequência, o tubo cônico foi submetido à centrifugação à 760g por 10 minutos, e após esta, removeu-se o conteúdo sobrenadante que constituiu o plasma pobre em plaquetas (PPP), permanecendo no tubo cerca de 1,5 à 2mL do PRP.

Após a separação e formação do PRP, uma alíquota de 20µL foi removida para a contagem de plaquetas e confirmação da formação do PRP. A contagem de plaquetas foi realizada por meio de contagem manual em hemocítômetro (câmara de

Neubauer) após a diluição da amostra de 1:100 em solução de oxalato de amônio 1% e utilizando o fator de correção de 2525. Foi considerada a formação de PRP, quando a contagem obtida foi igual ou superior a cinco vezes o número de plaquetas basal do animal.

As amostras foram processadas imediatamente antes da sua utilização, os materiais utilizados na manipulação das amostras eram esterilizados em autoclave e as amostras pipetadas próximo a um bico de Bunsen. Após a obtenção do PRP, o seu destino era definido conforme o grupo ao qual o animal pertencia, sendo que para o grupo PRP não ativado a amostra foi aplicada diretamente no local da incisão cirúrgica. Para o grupo PRP ativado, na amostra de PRP obtida era acrescentado solução de gluconato de cálcio 10%, na proporção de 300µL de gluconato de cálcio para cada mL de PRP, formando uma massa de consistência gelatinosa (gel de PRP) (figura 2).

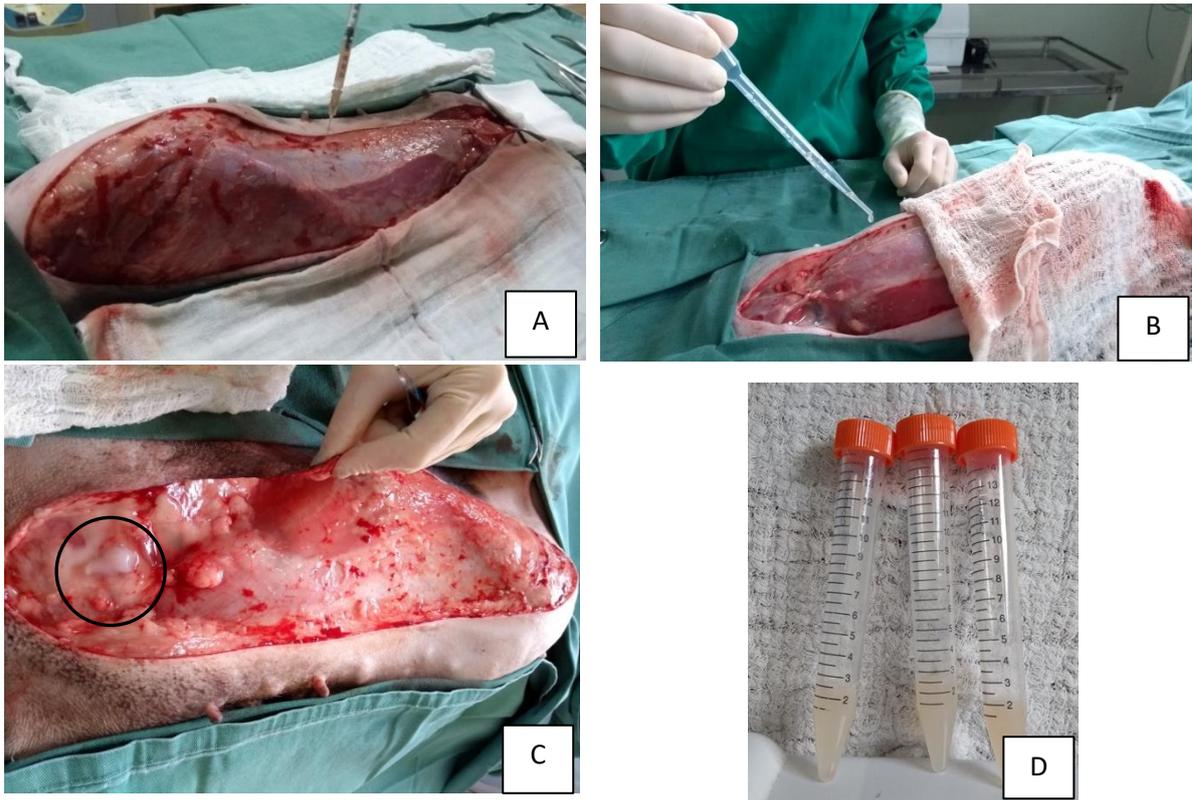
Figura 2 - Fluxograma utilizado para a confecção do PRP que demonstra todas as fases do processamento do PRP desde a colheita de sangue venoso do paciente até aplicação do produto final ativado ou não ativado sobre o leito da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total.



Fonte: elaborada pelo autor (2024)

Após a ressecção cirúrgica da cadeia mamária, a ferida cirúrgica foi lavada com solução fisiológica estéril, realizaram-se a troca dos instrumentais e luvas cirúrgicas, em ato contínuo, os animais pertencentes ao grupo PRP ativado (PRPa), receberam antes da síntese tecidual, o gel de PRP ativado, sendo distribuído manualmente pelo cirurgião, de forma uniforme ao longo de toda a ferida cirúrgica. Os animais do grupo PRP não ativado (PRPn) receberam o PRP de forma líquida que era distribuído com auxílio de uma seringa e agulha hipodérmica estéril sobre toda a extensão da ferida. Para os animais do grupo controle (GC) foi administrado um volume de solução fisiológica estéril proporcional ao volume obtido de PRP, e da mesma forma, distribuído sobre a ferida cirúrgica (Figura 3 – A, B, C e D).

Figura 3 – Imagens demonstrando as feridas cirúrgicas após a ressecção completa das cadeias mamárias que recebiam o tratamento. A Imagem A demonstra o momento da aplicação do PRP não ativado com auxílio de uma seringa de 1mL estéril sobre o leito da ferida cirúrgica após a ressecção completa da cadeia mamária. Da mesma forma em B, aplicação da solução fisiológica no leito da ferida (GC), em C o círculo destaca o gel de PRP formado após a sua ativação, antes da distribuição sobre a ferida cirúrgica e, em D observa-se os frascos com a solução de PRP não ativado imediatamente após o preparo, prontos para o uso.



Fonte: Arquivo pessoal (2024)

A síntese tecidual foi realizada em todos os grupos, com fio monofilamentar inabsorvível sintético (náilon) em padrão *walking suture* seguido de contínuo simples para a redução do espaço morto anatômico seguido da dermorráfia com o mesmo fio em padrão isolado simples. O calibre dos fios era definido conforme o peso do animal. Após o término da cirurgia todas as pacientes receberam cefalexina na dose de 30mg/kg, BID por cinco dias, como analgesia tramadol 6mg/kg e dipirona 25mg/kg ambos TID, durante cinco dias, além do anti-inflamatório meloxicam 0,2mg/kg SID no primeiro dia, seguido de 0,1mg/kg por mais três dias, todos pela via oral. Foram mantidas bandagens compressivas sobre a ferida cirúrgica, durante os 3 primeiros dias, e na sequência realizavam-se curativos uma vez ao dia até a completa cicatrização. Os animais permaneceram em repouso e internados no Hospital Veterinário até o segundo dia do pós-operatório, recebendo água e alimentação *ad libitum*. Solicitou-se aos tutores o retorno dos pacientes no 5º e 10º dia em jejum para

realizar as biopsias sob anestesia geral, além da retirada dos pontos no décimo dia de pós-operatório.

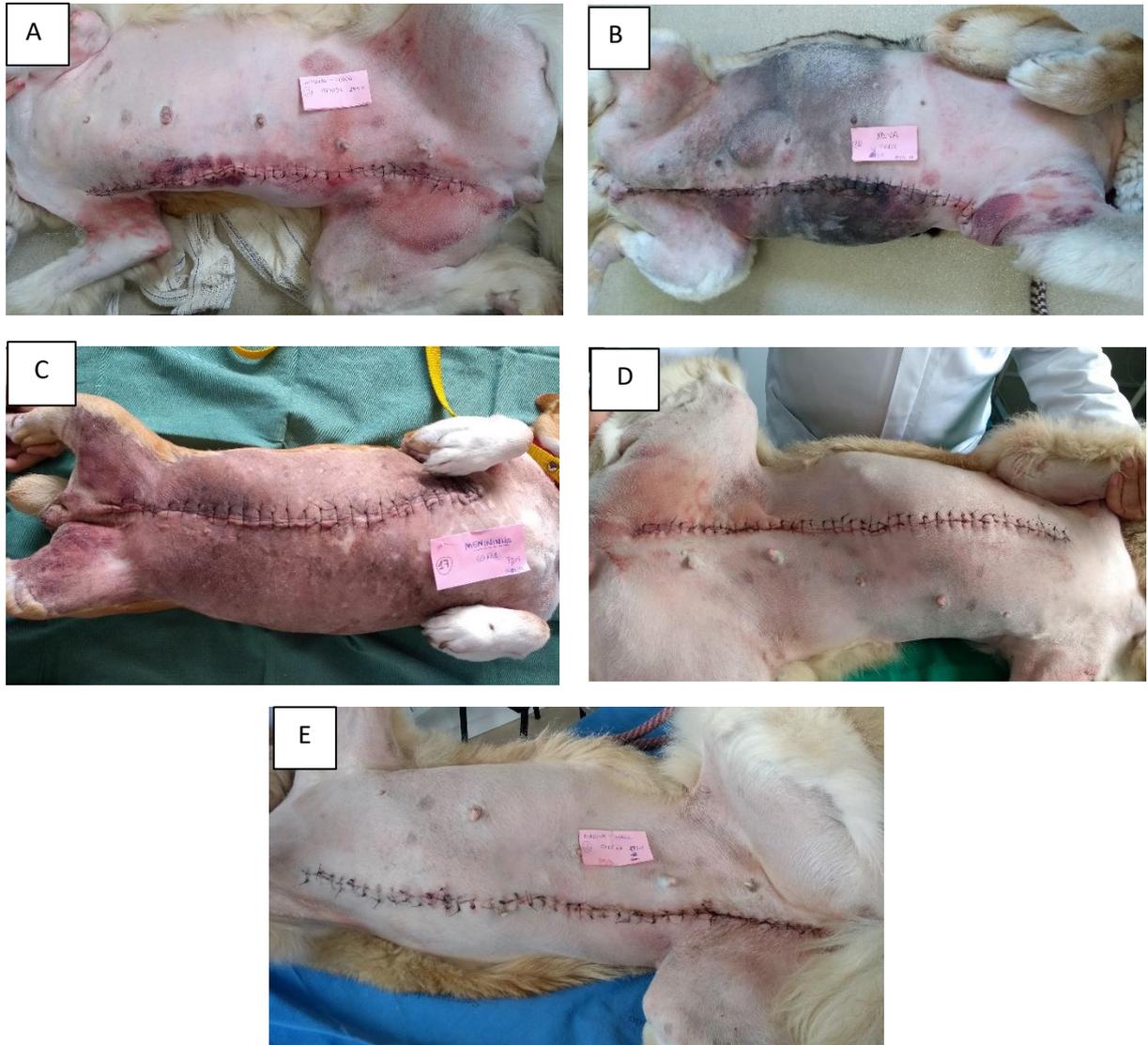
Todos os animais foram submetidos à avaliação macroscópica, por um avaliador cego ao tratamento, da cicatrização da ferida cirúrgica em 24, 48 e 72 horas, 5 e 10 dias após a mastectomia conforme os critérios: exsudato; hematoma, edema; rubor; dor; seroma, deiscência e hemorragia (Figura 4 e Anexo 1), onde eram registrados os dados de cada paciente, data da cirurgia e avaliações pós-operatórias. As avaliações para cada critério foram realizadas conforme o grau de intensidade, sendo atribuído: 0 para ausência; 1 discreta presença; 2 moderada presença e 3 para intensa presença. Na figura 5, observam-se imagens para exemplificar alguns momentos das avaliações macroscópicas das feridas cirúrgicas das cadelas do estudo.

Figura 4 – Esquema demonstrando os momentos e critérios utilizados para a avaliação macroscópica pós-operatória da ferida cirúrgica das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (H - horas).



Fonte: elaborada pelo autor (2024)

Figura 5 – Imagens fotográficas dos momentos das avaliações macroscópicas das feridas cirúrgicas de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total. Na imagem A, nota-se o aspecto da ferida cirúrgica as 24 horas, em B a ferida após 48 horas e em C após 72 horas. Nas imagens D e E, observa-se o aspecto das feridas cirúrgicas após 5 e 10 dias de pós-operatório, respectivamente.



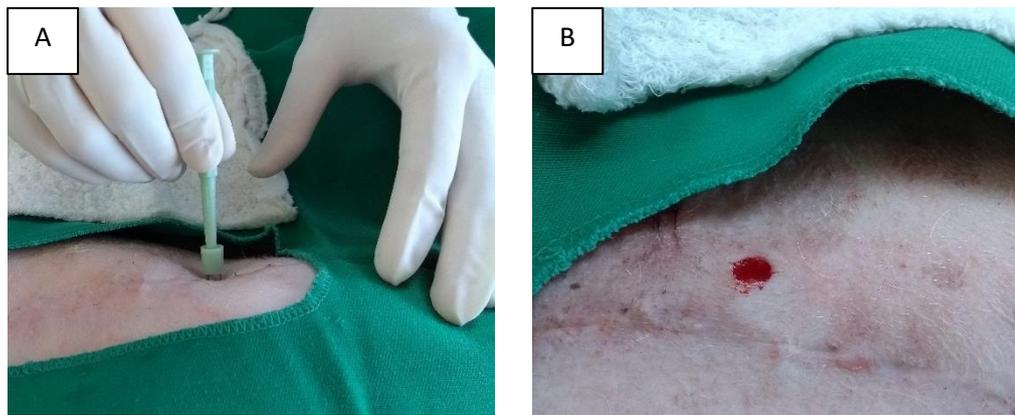
Fonte: arquivo pessoal(2024).

As avaliações histopatológicas das cadeias mamárias foram realizadas conforme a rotina do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Catarina (LABOPEVE) em Curitiba - Santa Catarina, sempre pelo mesmo técnico. As peças cirúrgicas foram acondicionadas em frasco com formol 10% tamponado para fixação e posteriormente encaminhadas ao laboratório. Múltiplas secções de aproximadamente 2mm de espessura do tumor e respectivas margens laterais (cranial, caudal, lateral e medial) e profunda, foram selecionadas para

processamento histológico, incluídos em blocos de parafina para posterior confecção de lâminas histológicas com cortes de 3 a 4µm, corados por de Hematoxilina e Eosina (HE) e avaliados em microscopia óptica. A classificação tumoral e de malignidade histológica seguiram os princípios estabelecidos por Cassali et al. (2017).

As avaliações microscópicas, feitas por avaliadores cegos aos tratamentos, foram realizadas no 5º e 10º dia após a cirurgia através da coleta de uma biópsia incisional em dois locais próximos à cicatriz cirúrgica (entre M1 e M2 e M4 e M5), com o auxílio de um *Punch* de 0,6mm de diâmetro obedecendo às normas de antisepsia cirúrgica local (figura 6). A síntese do defeito cutâneo criado pelo *Punch* foi realizada com fio inabsorvível sintético monofilamentar (náilon) 3-0, através de pontos isolados simples na pele. Para este procedimento o animal foi previamente anestesiado com propofol dose efeito, bolus de fentanil na dose de 5 mcg/kg pela via IV, imediatamente antes da incisão cutânea, para o controle da dor.

Figura 6 - A Imagem A demonstra o momento da realização da biópsia incisional com auxílio de *Punch* no décimo dia de pós-operatório. Em B, observa-se o defeito criado após a remoção do fragmento de pele próximo a região da cicatriz da ferida cirúrgica de cadelas submetidas a mastectomia unilateral total.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Para análise histológica das biópsias cutâneas o processo foi o mesmo citado anteriormente. Neste caso, realizou-se a medida do diâmetro e da espessura do fragmento e a descrição do aspecto de superfície cutânea, para posterior coloração de tricrômio de Masson conforme utilizada na rotina do LABOPAVE.

Nas avaliações histológicas das biópsias incisionais de 5 e 10 dias, foram observadas as seguintes características: intensidade de proliferação vascular; reação inflamatória (presença de células mono e polimorfonucleares); proliferação de fibroblastos, colageinização, reepitelização, hemorragia e tipo de inflamação (figura 7). Os dados obtidos foram classificados de acordo com a intensidade que foram encontrados e transformados em variáveis quantitativas mediante atribuição de índice para o achado histopatológico, conforme preconizado por Garros et al. (2006) (anexos 2 e 3). A descrição feita por Garros *et al.* (2006) serviu como guia do avaliador para

transformar e padronizar os dados encontrados nas lâminas, em variáveis quantitativas.

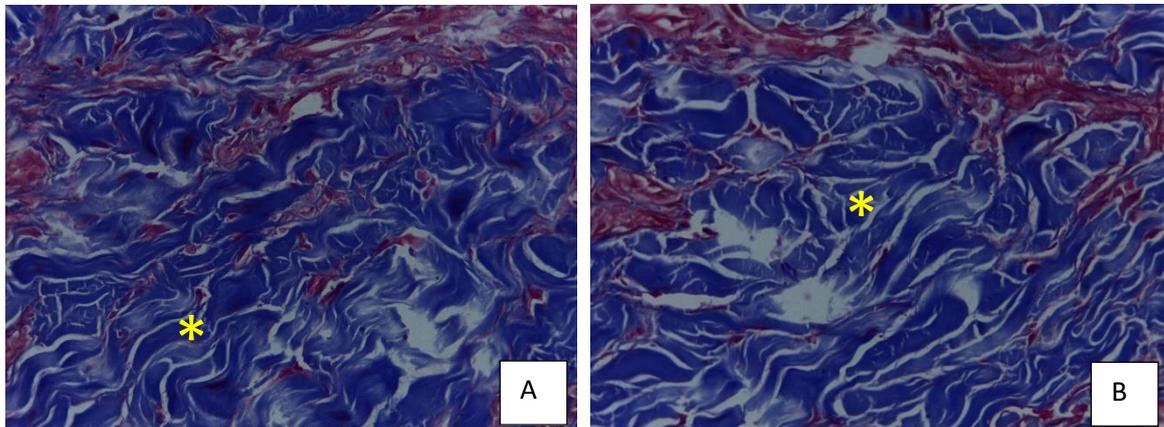
Figura 7 – Esquema demonstrando os momentos e critérios utilizados para a avaliação microscópica pós-operatória da ferida cirúrgica das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Para a realização das avaliações, foram obtidas imagens fotográficas de três campos diferentes da amostra, todas no mesmo aumento de 10x, utilizando-se um microscópio óptico (Leica, modelo DM 500®) com uma câmera fotográfica acoplada (Leica 1CC 50HD®), conectada a um computador através de um cabo USB comum. A obtenção das imagens ocorreu através de um software específico (Leica Application Suite, versão 3.0.0, 2013®). Assim como na avaliação histológica, o avaliador era cego aos tratamentos e períodos de evolução. Após a obtenção das imagens, estas foram importadas para outro software (ImageJ 1.50i®), o qual foi utilizado para calibrar os tons das cores dos quesitos a serem avaliados. Foi estabelecido como padrão o azul para o tecido conjuntivo fibroso, já que a coloração Tricrômio de Masson é responsável por evidenciar o colágeno (Figura 8).

Figura 8 – Fotomicrografia ótica (10x) de amostras teciduais (biópsia incisional – 5^o e 10^o dia de pós-operatório, A e B respectivamente) de cadela submetida a mastectomia unilateral total, corada com Tricrômio de Masson para avaliação do colágeno. A coloração azul (*) demonstra a presença de tecido conjuntivo fibroso.



Fonte: LABOPEVE/UFSC (2024).

Ao final da calibragem, o programa analisou a função chamada "Macro", a qual estabeleceu valores em pixels das áreas averiguadas, criando uma tabela. Por sua vez, o software de obtenção das imagens estabeleceu o aumento de 10x como o selecionado para as imagens desse estudo, uma vez que cada pixel equivalia a 0,64 microns e a área de cada imagem, equivale ao mesmo aumento de 2048 x 1536 microns.

Os dados da avaliação macroscópica da ferida cirúrgica foram tabulados e analisados estatisticamente com o auxílio do Software SigmaPlot® 12.0. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para analisar os dados classificados como não paramétricos e avaliou a diferença entre grupos, seguido pelo teste de Dunnet, que comparou a qualidade da resposta cicatricial entre os grupos. Para avaliação estatística entre momentos, utilizou-se o Teste *t* seguido de Mann-Whitney.

Para a análise estatística da avaliação microscópica da cicatrização, utilizou-se o programa Stata® Statistical Software 15.0, através do Teste *t* para avaliação entre grupos e entre momentos. Para ambos os testes, a diferença significativa foi considerada quando $p < 0,05$.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação macroscópica da ferida cirúrgica, realizada nos momentos 24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos nem entre os momentos (tabela 1). Foram encontradas, durante o estudo, complicações pós-operatórias em todos os grupos como: seroma, edema de membros, hemorragia leve, dor a palpação, hematomas, rubor e calor com maior ou menor intensidade, conforme Hedlund (2008) e Al-Asadi *et.al.* (2010) descreveram. Nestes casos, pode-se observar que devido a ampla margem de variação de peso (6 e 30kg) entre as cadelas participantes do estudo, a ocorrência de seroma foi visualizada apenas naquelas com porte maior (acima de 15 kg), dessa forma, acredita-se que se deva ao fato de o tutor ter maior dificuldade na manutenção da bandagem compressiva e repouso nos primeiros dias de pós-operatório, pois eram animais domiciliados em ambiente externo da residência.

Entretanto, a ocorrência de infecção do sítio cirúrgico e deiscência de sutura não foram observadas em nenhuma paciente dentre as possíveis complicações. A ausência de infecção no pós-operatório provavelmente deve-se ao fato de as pacientes receberem antibioticoterapia pós-operatória com cefalexina durante 5 dias além da manutenção dos princípios de assepsia cirúrgica durante o procedimento de mastectomia. Os gráficos 1, 2 e 3 demonstram a distribuição dos valores em percentual da ocorrência de cada parâmetro avaliado durante o estudo, divididos conforme o grupo ao qual o animal pertencia e o momento de cada avaliação.

Tabela 1 - Resultados das avaliações macroscópicas da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, divididos em tipo de avaliação macroscópica (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) nos grupos (PRPa/PRPn e Controle).

Parâmetros	PRPn	PRPa	Controle
Exsudato			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0,75]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0]
72 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 1]
5 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 1]	0 [0 - 0,75]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 1]	0 [0 - 0]
Hematoma			
24 h	1 [0,25 - 1]	1 [1 - 1]	1 [1 - 1]
48 h	0 [0 - 1]	1 [1 - 1]	1 [1 - 1,75]
72 h	0 [0 - 0,75]	1 [0,25 - 1]	0,5 [0 - 1,75]
5 dias	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
Edema			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 1]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 1]	0 [0 - 1]
72 h	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 1]
5 dias	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
Rubor			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
72 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
5 dias	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
Dor			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
72 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
5 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
Seroma			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
72 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
5 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0,75]	0 [0 - 0,75]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
Deiscência			
24 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
48 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
72 h	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
5 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]
10 dias	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]

continua

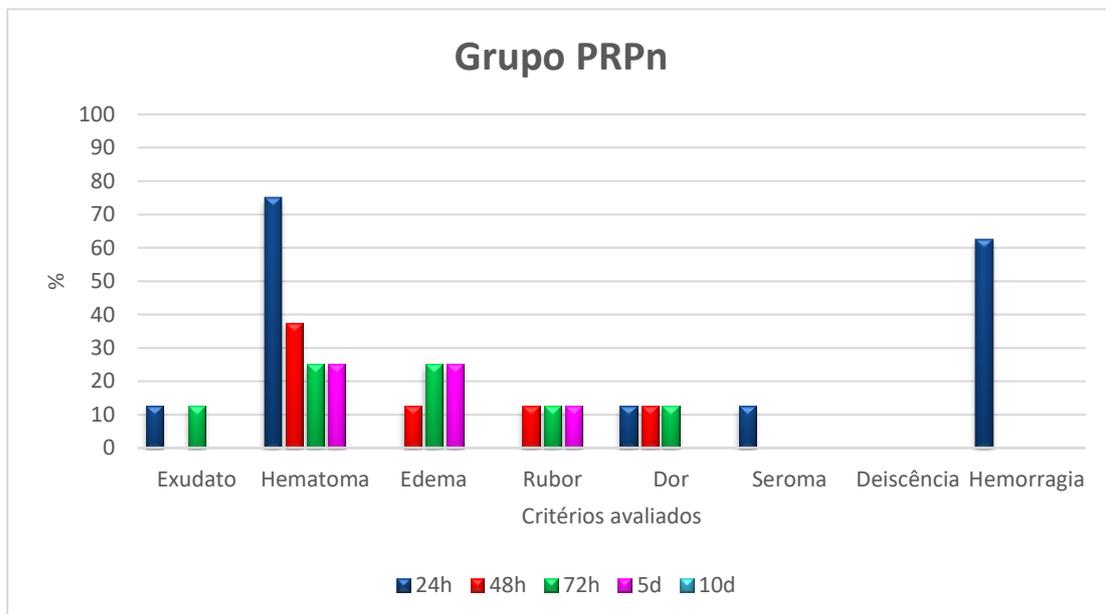
Hemorragia			
24 h	1 [0,25 – 1]	1 [0,25 – 1]	1 [0,25 – 1,75]
48 h	0 [0 -0]	0 [0 -0]	0 [0 -0]
72 h	0 [0 -0]	0 [0 -0]	0 [0 -0]
5 dias	0 [0 -0]	0 [0 -0]	0 [0 -0]
10 dias	0 [0 -0]	0 [0 -0]	0 [0 -0]

Fonte: Elaborada pelo autor.

[Valores de mediana, primeiro e terceiro quartil]

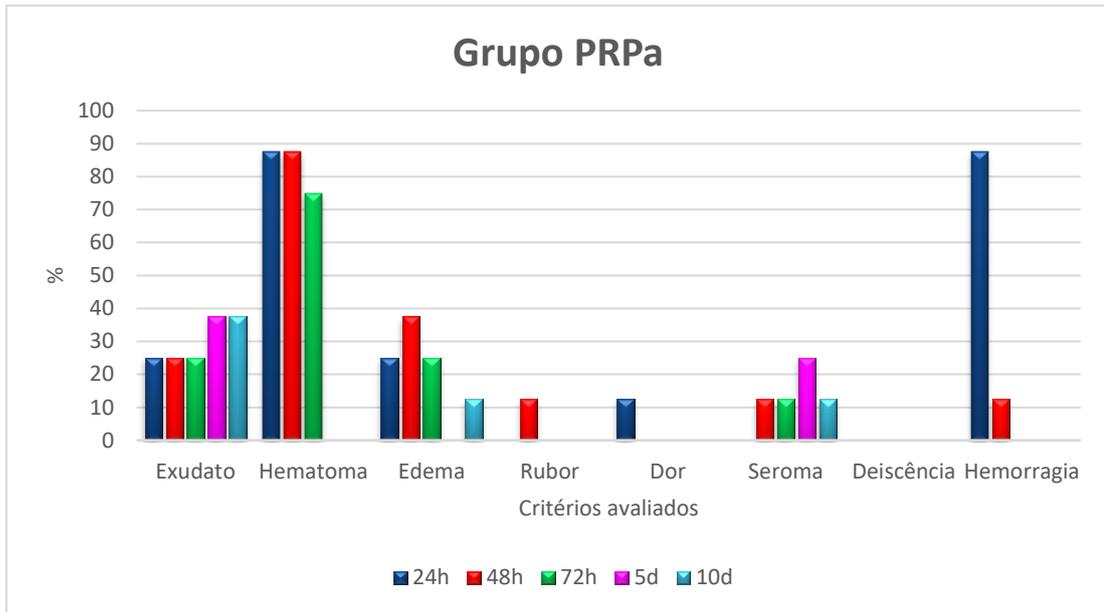
Mesmo não havendo diferença significativa nos parâmetros avaliados na macroscopia, é possível observar na comparação entre os gráficos, que a resposta cicatricial entre os grupos evoluiu de forma similar ao longo do período avaliado. Nota-se na primeira fase da cicatrização (fase inflamatória - 24h) um comportamento mais intenso principalmente dentro dos grupos Controle e PRPa nos parâmetros exsudato, hematoma, edema e hemorragia. A presença de edema também foi observada nos primeiros dias, em um estudo realizado por Pazzini *et al.* (2016), com uso de PRPa e solução fisiológica em feridas de coelhos. Cotran *et al.* (1994) descrevem que é esperada a presença mais intensa de sinais de inflamação no início do processo de reparação tecidual, reduzindo gradualmente ao final da cicatrização.

Gráfico 1 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo PRP não ativado.



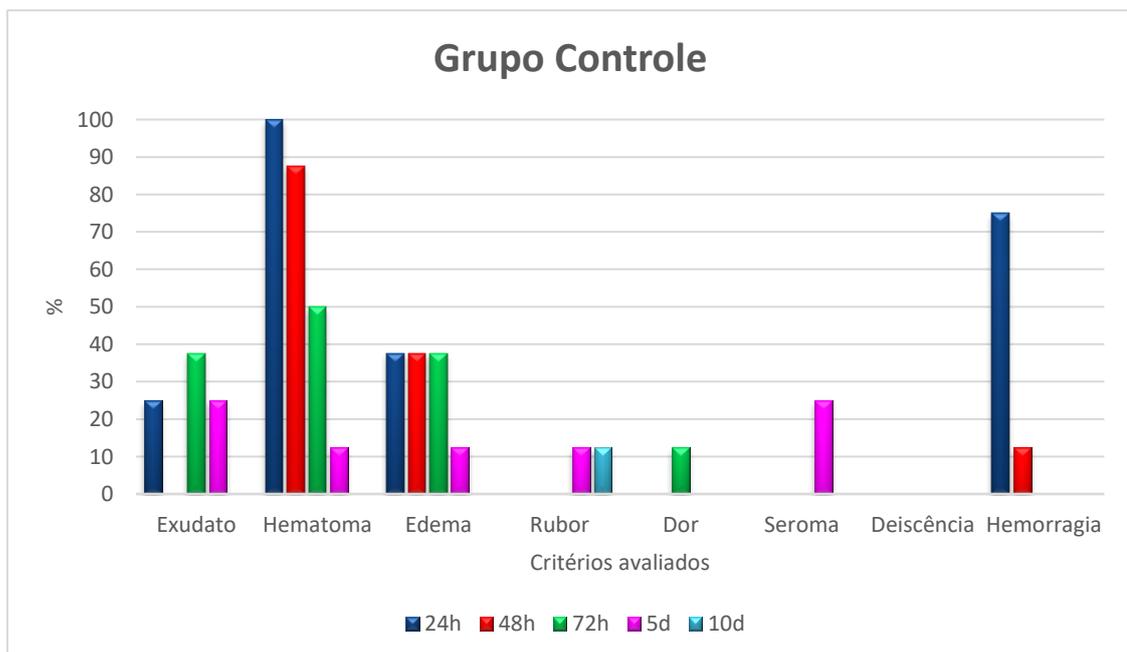
Fonte: Elaborada pelo autor (2024).

Gráfico 2 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo PRP ativado.



Fonte: Elaborada pelo autor (2024).

Gráfico 3 – Distribuição percentual da ocorrência dos critérios avaliados durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total (exsudato; hematoma; edema; rubor; dor; seroma; deiscência e hemorragia); momentos das avaliações (24; 48; 72 horas; 5 e 10 dias de pós-operatório) no grupo Controle.



Fonte: Elaborada pelo autor (2024).

Na avaliação microscópica da cicatrização foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos apenas em dois critérios de avaliação, reação inflamatória e reepitelização. Houve diferença estatística na reação inflamatória apenas no 5º dia de avaliação entre o grupo PRPa e PRPn, onde o grupo PRPa apresentou reação inflamatória mais intensa. Com relação ao critério reepitelização, observou-se diferença estatística também no 5º dia de avaliação pós-operatória onde o grupo PRPn demonstrou melhor epitelização quando comparado ao grupo Controle, no 10º dia ambos os grupos PRPa e PRPn apresentaram diferença significativa em comparação ao Controle (GC) (Tabela 2).

As diferenças estatísticas entre os momentos 5º e 10º dia, dentro do mesmo grupo foram observadas apenas nos critérios de avaliação hemorragia e reepitelização para o grupo controle e somente na reepitelização no grupo PRPa. No grupo Controle, houve maior hemorragia no 5º dia quando comparado ao 10º dia de pós-operatório, com o critério de reepitelização, houve diferença significativa no 10º dia em comparação ao 5º dia. Da mesma forma, no grupo PRPa a diferença estatística encontrada foi no critério reepitelização, onde houve maior epitelização no 10º dia, quando comparado ao 5º dia de pós-operatório (Tabela 2).

Dessa forma, pôde-se evidenciar que ambos os grupos que utilizaram o PRP, apresentaram valores maiores no quesito reepitelização sugerindo que o uso do PRP (ativado ou não ativado) contribuiu de forma mais eficaz para a cicatrização tecidual quando comparado ao grupo controle. Estes dados corroboram com os encontrados por Pazzini *et al.* (2016) que descrevem o uso do PRP em cirurgia reconstrutiva em coelhos demonstrou resultados superiores favorecendo a cicatrização e a integração do flape no leito receptor.

Tabela 2 – Resultados das avaliações microscópicas da ferida cirúrgica de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, divididos em tipo de avaliação microscópica (proliferação vascular; reação inflamatória; proliferação de fibroblastos; colagenização; hemorragia e reepitelização); momentos das avaliações (5 e 10 dias de pós-operatório) nos grupos (PRPa/PRPn e Controle).

Tipo avaliação	Momentos	PRPa	PRPn	Controle
Proliferação vascular	5 dias	1 [1 – 1,75]	1 [1 – 2]	1 [1 – 1,75]
	10 dias	1 [1 – 2]	1 [1 – 2]	1 [1 – 2]
Reação inflamatória	5 dias	1a [1 – 2]	1b [0 – 1]	1 [1 – 2]
	10 dias	1 [0,25 – 1,75]	1 [0 – 1]	1 [0 – 2]
Proliferação de fibroblastos	5 dias	2 [1 – 2]	2 [1 – 2]	1,5 [1 – 2]
	10 dias	1 [1 – 2]	2 [1 – 2]	1,5 [1 – 2]
Colagenização	5 dias	1 [1 – 1,75]	1 [1 – 2]	1 [1 – 2]
	10 dias	1 [1 – 2]	2 [1 – 2]	2 [1 – 2]
Hemorragia	5 dias	1 [1 – 1,75]	0 [0 – 1,75]	1A [1 – 2]
	10 dias	1 [0,25 - 1]	1 [0,25 - 1]	1A [0 – 1]
Reepitelização	5 dias	2,5A [2 – 3]	3a [3 – 3]	2b A [1,25 – 3]
	10 dias	3Aa [3 – 3]	3a [3 – 3]	3 Ab [2,25 – 3]

Fonte: Elaborada pelo autor (2024).

[Valores de mediana, primeiro e terceiro quartil]

Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença entre grupos (Kruskal-Wallis seguido de Dunnet). Letras maiúsculas iguais na mesma coluna significam diferença entre momentos dentro do mesmo grupo (teste *t* seguido de Mann-Whitney).

No presente estudo houve uma resposta inflamatória maior no grupo PRPa no 5º dia de pós-operatório quando comparado ao PRPn. Este fato pode sugerir que ocorreu uma maior intensidade da fase inflamatória, onde os macrófagos normalmente exibem a transição de fenótipos pró-inflamatórios pró-cicatrizantes. Quando há produtos bacterianos (lipopolissacarídeo) e citocinas pró-inflamatórias (interferon) ocorre indução do fenótipo pró-inflamatório associado a altos níveis de citocinas inflamatórias e espécimes de oxigênio reativo. Ao invés disto, a ativação alternativa pode ocorrer por meio de outras citocinas e está associada à síntese de fatores de cicatrização (TGF- β ; PDGF; VEGF) (Krysko *et al.*, 2006) que promovem

diretamente a cicatrização, contribuindo para a proliferação celular, angiogênese e deposição de colágeno (Andia *et al.*, 2012). Outro fator que poderia justificar a resposta inflamatória mais intensa no PRPa, é a presença do agente ativador das plaquetas (gluconato de cálcio 10%) atuando neste caso, como agente agressor e potencializador/indutor dos fenótipos pró-inflamatórios, este fato é uma suposição do autor, já que não foi encontrado dados na literatura para comprovar tal influência.

De acordo Silva *et al.* (2010) para avaliar a formação de fibras colágenas, a coloração recomendada para uso no tecido conjuntivo é o tricrômio de Masson. A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, célula crítica na formação da matriz. O fibroblasto não é apenas produtor de colágeno, ele produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico. Dessa forma, como parte da avaliação microscópica da ferida cirúrgica, foi realizada a coloração com o Tricrômio de Masson, para avaliação morfométrica da densidade de colágeno na ferida cirúrgica no 5º e 10º de pós-operatório. Para este critério, não foram encontradas diferenças estatísticas em nenhuma das comparações, entre grupos, entre momentos ou mesmo entre os locais de coleta.

Um fato que pode ter contribuído para esse resultado é que de acordo com Andia *et al.* (2012) e Hosgood, (2013), o maior percentual de tecido conectivo na ferida ocorre entre 7 e 21 dias após a lesão, com a produção de colágeno atingindo o pico no 21º dia, como as amostras coradas com tricrômio de Masson foram coletadas no 5º e 10º dias após a cirurgia, acredita-se que não foi possível avaliar o pico de produção de colágeno pela ferida em questão.

Para que o PRP produzido, neste estudo, fosse liberado para aplicação na ferida cirúrgica, a concentração plaquetária final deveria aumentar ao menos 5 vezes os valores basais (dados não registrados). Esse controle era realizado pela equipe do Laboratório de Patologia responsável pelo preparo desde a centrifugação até a ativação quando fosse necessária. Ao longo dos anos, várias metodologias foram desenvolvidas para produzir PRP com várias características. Normalmente, uma amostra de sangue total variando de 5 a 60 mL é coletada do paciente em uma seringa preparada com o anticoagulante de escolha (Carr, 2022). Em nosso estudo, a metodologia utilizada para a confecção e ativação do PRP foi baseada no estudo de (Vendrusculo *et al.*, 2012).

Atualmente existem comercialmente vários produtos à base de PRP que já vêm sendo avaliados quanto às suas características de concentração de agentes ativos, mas ainda, de acordo com Carr (2022), não há consenso sobre a concentração ideal e indicações, sendo necessário mais estudos para elucidar não apenas as indicações para a terapia com PRP, mas também as concentrações adequadas.

Quando se refere a ativação ou não do PRP ainda persistem muitas dúvidas, pois são descritas diversas formas de ativação exógena, e os estudos ainda geram

resultados conflitantes (Carr, 2022). O argumento para a ativação exógena é que o PRN não ativado pode liberar apenas uma fração dos fatores de crescimento contido nas plaquetas (Textor *et al.*, 2011). Foi demonstrado que a concentração dos fatores de crescimento no PRP pode ser afetada tanto pela sua composição como pelo método de ativação (Lana *et al.*, 2017) e os métodos utilizados incluem ativação térmica, ativação com solução de trombina e ativação com solução de cálcio (Mariane e Pusatelli, 2020). Uma recente revisão sobre os métodos de preparo do PRP em humanos, sugeriu que a ativação com gluconato de cálcio 10% foi associada a um maior percentual de indução da proliferação de osteoblastos e fibroblastos, mas não contribuiu para aumentar as concentrações de plaquetas ou fatores de crescimento (Pachito *et al.*, 2020).

Durante a realização deste estudo, pode-se observar que o uso do PRPn (líquido), quando comparado ao PRPa (gel), apresentou maior praticidade tanto na preparação quanto na aplicação sobre o leito da ferida. A preparação do PRPn tornou-se mais prática, pois a partir do momento em que separação dos componentes sanguíneos eram feitas, o produto já estava disponível para o uso, já no caso do PRPa, ainda havia a necessidade da execução de mais uma etapa - adição do gluconato de cálcio - aguardar a geleificação para só então aplicar sobre o leito da ferida. O PRPn permitiu a distribuição de maneira mais prática e uniforme devido à grande extensão da ferida em mastectomias. Estas observações corroboram com o estudo realizado por Vendramin *et al.* (2010) onde o uso do PRP em gel e líquido (sem ativação prévia) foi comparado em enxertos cutâneos de coelhos. De acordo com estes mesmos autores, o uso do PRP líquido sobre a ferida permite uma distribuição mais uniforme e, mesmo sem a adição de trombina para a ativação prévia, o PRP é capaz de ser ativado diretamente no local onde é injetado, devido às características da própria ferida, causadas pelo trauma cirúrgico, por exemplo.

Andia *et al.* (2012) descrevem que muitas inconsistências são encontradas nos relatos clínicos descritos na literatura, inclusive nos casos em que se utiliza o mesmo composto de PRP e protocolo de aplicação. Estes autores acreditam que isso se deva às diferenças do doador na composição do PRP e/ou nas condições do tecido do hospedeiro.

Dessa forma, com os dados encontrados neste estudo, pode-se sugerir que os grupos PRP não ativado e ativado apresentaram resposta cicatricial superior no quesito reepitelização quando comparados ao grupo controle, fato que corrobora com o descrito por Carr, (2022) onde o PRP pode ser utilizado como um potencializador da cicatrização em caninos. Não foram encontradas evidências que diferem grandemente entre os grupos que utilizaram o PRP ativado ou não, mas quando se refere a aplicabilidade de ambos os grupos, o PRPn demonstrou-se de mais fácil, rápida aplicação e distribuição em grandes feridas, como é o caso de mastectomias unilaterais totais em cadelas.

2.5 LIMITAÇÕES ESTUDO

A não comprovação de diferença estatística entre grupos, na avaliação macroscópica da ferida cirúrgica, pode ser atribuída ao tamanho dos grupos amostrados.

Ainda, nas avaliações microscópicas, a coleta das amostras teciduais no 10º dia de pós-operatório não permitiu a quantificação do pico da produção de colágeno na ferida cirúrgica.

2.6 CONCLUSÕES

O uso do PRP ativado e não ativado apresentaram resposta cicatricial superior no quesito reepitelização tecidual através da avaliação microscópica da ferida cirúrgica em cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, quando comparados ao grupo controle.

A resposta cicatricial em ambos os grupos que utilizaram o PRP foi muito semelhante. Contudo, observou-se maior facilidade durante a aplicação bem como a distribuição do PRP não ativado no leito das feridas cirúrgicas quando comparado a aplicação do PRP ativado.

2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-ASADI R.N; AL-KELEDARM N.A.R; AL-KADI K.K. An Evaluation of mastectomy for removal of mammary glands tumors in bitches. **Bas J Vet Res.** v.10, p.141–52, 2010.

ALBURQUERQUE, D.P; OLIVEIRA, T.M.F; MARANHÃO FILHO, A.W.A. *et al.* Aplicação clínico cirúrgica do plasma rico em plaquetas – estudo revisional. **Odontologia Clínica e Científica.** v.7, n.2, p.119-122, 2008.

ALVES, R.; GRIMALT, R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. **Skin Appendage Disord.** v.4, n.1, p.18–24, 2018.

ALVES, R.O.D.; SILVA, V.F.; RODRIGUES, L.A. *et al.* Caracterização clínica e histopatológica de tumores mamários em cadelas atendidas em Viçosa, MG. **J. Health Biol Sci.** v.6, n.1, p.17-22, 2018.

ANDIA, I.; SÁNCHEZ, M.; MAFFULLI, N. Basic science: molecular and biological aspects of platelet-rich plasma therapies. **Operat. Tech. Orthop.** n. 22, p. 3-9, 2012.

ANITUA E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use the preparation of sites for implants. **Int. J. Oral Maxil. Impl.** v.14, n.4, p.529- 535, 2007.

ARNOCZKY, S.P.; SHEIBANI-RAD, S. The basic science of platelet-rich plasma (PRP): what clinicians need to know [published correction appears. **Sports Med Arthrosc.** v. 22, n.2, p.150, 2014.

BARRIENTOS, S.; STOJANDINOVIC, O.; GOLINKO, M.S. *et al.* Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Rep. Reg.**, v.16, n.5, p. 85-601, 2008.

CARR, B. J. Platelet-Rich Plasma as na Orthobiologic Clinically Relevant Considerationons. **Vet. Clin. Small Anim.** v. 52, p. 977–995, 2022.

CASSALI, D.G; DAMASCENO, K.A; BERTAGNOLLI, A.C. *et al.* Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of Canine Mammary Tumors: benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas. **Braz J Vet Pathol**, vol.10, n.3, p.87-99, 2017.

CASSALI, G. D.; JARK, P.C. GAMBÁ, C. *et al.* Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors - 2019. **Braz J Vet Pathol**, v.13, n.3, p. 555-574, 2020.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E. *et al.* Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013. **Braz J Vet Pathol**, vol.7, n.2, p.38-69, 2014.

CASSALI, G.D.; CAMPOS, C.B.; BERTAGNOLLI, A.C. *et al.* Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of feline mammary tumors. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 55, n. 2, p. 1-17, 2018.

CHEN, F.M.; ZHANG, M.; WU, Z.F. Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. *Biomaterials*, v.31, n.24, p.6279-6308, 2010.

CHICHARRO-ALCÁNTARA, D.; RUBIO-ZARAGOZA, M.; DAMIA-GIMENEZ, E. *et al.* Platelet Rich Plasma: New Insights for Cutaneous Wound Healing Management. **J Funct Biomater.** v.9, n.1, p.10, 2018.

CORTESE, L.; CHRISTOPHERSON, P.W. e PELAGALLI, A. Platelet Function and Therapeutic Applications in Dogs: Current Status and Future Prospects. **Animals.** v.10, n.201, p.1-26, 2020.

COTRAN R.S.; KUMAR V. e ROBBINS S.L. Information and repair In: COTRAN R.S.; KUMAR V. E ROBBINS S.L. **Pathologic Basis of Diseases.** 5^a ed. Saunders, Philadelphia, p.85-88,1994.

CUNHA, R. de O., FROTA, C. M. H., CAZELATO, M. C., MOREIRA, G. S. S., JÚNIOR, S. T. A. NEOPLASIA MAMÁRIA EM CADELAS. **Revista Agroveterinária Do Sul De Minas.** v.4, n.1, p. 173-182, 2022.

DALECK, C.R.; FRANCESCHINI, P.H.; ALESSI, A.C. *et al.* Aspectos clínicos e cirúrgicos do tumor mamário canino. **Ciência Rural**, v.28, n.1, p.95-100, 1998.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; ROCHA, N.S. *et al.* Neoplasias mamárias. In: DALECK, C.R.; De NARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos.** São Paulo: Roca, cap. 25, p. 372-378, 2009.

DOS SANTOS, R. H. LAVALLE, G.E.; DE CASTRO R.M.C *et al.* Influence of surgical technique on overall survival, disease free interval and new lesion development interval in dogs with mammary tumors. **Adv Breast Cancer Res.** v.3, p.38-46, 2014.

EULER, H. Tumours of the mammary glands. In: DOBSON, J. M. e LASCELLES, B. D. **BSAVA Manual of canine and feline oncology.** 3^a ed., 2011.

EVERTS, P.A.M.; KNAPE, J.T.A.; WEIBRICH, G. *et al.* Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. **Am. Soc. Extra-corporeal Technol.**, v.38, n.2, p.174-187, 2006.

FUFA, D.; SHEALY, B.; JACOBSON, M. *et al.* Activation of platelet-rich plasma using soluble type I collagen. **J Oral Maxillofac Surg.** v. 66, n.4, p. 684–90. 2008.

GARCEZ T.N.A., PAZ A.H.R., MAGRISSO A.B., MELLO H.F., GONÇALVES F.C., MEYER F.S., CONTESINI E.A. & LIMA E.O.C. Comparação entre três protocolos de obtenção de plasma rico em plaquetas (PRP) utilizando coelho como modelo experimental. **Acta Scient. Vet.** v.41, p.1-7, 2013.

GARROS, I.C. *et al.* Extrado de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.21, n.3, p.55-65, 2006.

GOLDSCHMIDT, M.H.; PEÑA, L.; ZAPPULLI, V. Tumors of the mammary gland. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 5ª ed. Wiley & Sons, 2017.

GONÇALVES, R. LEONOR, A., CRESPILO, A., ROIER, E., GOMES, S., FERREIRA, R. Neoplasias mamárias em cadelas: um estudo estatístico para auxiliar no tratamento. **Pubvet**, v.14, n.5, p.1-7, 2020.

HEDLUND, C.S. Cirurgia dos sistemas reprodutivo e genital. In: FOSSUM T.W, HEDLUND CS, JOHNSON AL, SHULZ KS, SEIM HB, WILLARD MD, BAHR A, CARROL, G.L. **Cirurgia de pequenos animais**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 702–74, 2008.

HENRY, C. J. The Etiology of Cancer - Section B: Chemical, Physical, and Hormonal Factors. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; R. L. PAGE. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. Saunders, p. 1-29, 2012.

HORTA, R.S, FIGUEIREDO, M.S.; LAVALLE, G.E. Surgical stress and postoperative complications related to regional and radical mastectomy in dogs. **Acta Vet Scand.** v.57, n.1, p. 34, 2015.

HOSGOOD, G. Biologia da cicatrização de feridas. In: WILLIAMS, J.; MOORES, A. **Manual de Feridas de cães e gatos**. 2ª Ed. Roca: São Paulo, cap.1, p.1-14, 2013.

HSU, W.K.; MISHRA, A.; RODEO, S.R. *et al.* Platelet- rich plasma in orthopaedic applications: evidence-based recommendations for treatment. **J Am Acad Orthop Surg.** v. 21, p.739–48, 2013.

JEE, C.H.; EOM, N.Y.; JANG, H.M. *et al.* Effect of autologous platelet-rich plasma application on cutaneous wound healing in dogs. **J Vet Sci.** v.17, n.1, p.79-87. 2016.

KRYSKO, D.V; D'HERDE, K.; VANDENABEELE. P. Depuração de células apoptóticas e necróticas e suas consequências imunológicas. **Apoptosis.** v.11, p.1709-1726, 2006.

LANA, J.F.S.D; PURITA, J.; PAULUS, C. *et al.* Contributions for classification of platelet rich plasma – proposal of a new classification: MARSPILL. **Regenerative Medicine.** v.12, n.5, p. 567-574, 2017.

LANSDOWN, D. A.; FORTIER, L.A.; Platelet-rich plasma: formulations, preparations, constituents, and their effects. **Oper Tech Sports Med.** v. 25, n.1, p.7–12, 2017.

MACPHAIL, C.M. Surgery of the Reproductive and Genital Systems – Mammary Neoplasia. In: FOSSUM T.W.; DEWEY, C.W; HORN; C.V.et al. **Small animal surgery.** 4^a Ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby, p. 809-815, 2013.

MARIANI, E.; PULSATELLI, L. Platelet Concentrates in Musculoskeletal medicine. **Int. J. Mol. Sci.** v.21, n.4, p.1328, 2020.

MARX, R. E. Platelet rich plasma: Evidence to support its use. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery.** n. 62, p. 489-496, 2004.

Mc LELLAN, J.; PLEVIN, S. Does it matter which platelet-rich plasma we use? **Equine Vet Educ.** v. 23, n.2, p.101–4, 2011.

MOE, L. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. **J Reprod Fertil Suppl.** v.57, p.439–43, 2001.

NGUYEN, F.; PENA, L.; IBISCH, C. *et al.* Canine invasive mammary carcinomas as models of human breast cancer. Part 1: natural history and prognostic factors. **Breast Cancer Res Treat.** v. 167, n.3, p. 635-648, 2018.

NUNES, F.C; CAMPOS, C.B; TEIXEIRA, S.V *et al.* Epidemiological, clinical and pathological evaluation of overall survival with mammary neoplasms. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.**v.70, n.6, p.1714-22, 2018.

PACHITO, D.V.; BAGATTINI, A. M.; DE ALMEIDA, A.M. *et al.* Technical Procedures for Preparation and Administration of Platelet-Rich Plasma and Related Products: A Scoping Review. **Front. Cell Dev. Biol.** v.8, p.1-11. 2020.

PAGLIOSA, G.M.; ALVES, G.E.S. Considerações sobre a obtenção e o uso do plasma rico em plaquetas e das células mesenquimais indiferenciadas em enxertos ósseos. **Ciência Rural.** v.37, n.4, p.1202-120, 2007.

PAZZINI, J.M; DE NARDI, A. B.; RUPPES, R. Utilização de plasma rico em plaquetas para estimulação da angiogênese em flape de padrão axial toracodorsal em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Pesq. Vet. Bras.** v.36,n.2, p.108-118, 2016.

PELLETIER, M.H.; MALHOTRA, A.; BRIGHTON, T.; WALSH, W.R.; UNDERMAN, R. Platelet function and constituents of platelet rich plasma. **Int. J. Sports Med.** v. 34, p.74–80, 2013.

PINTO, R.M.M. de O. Neoplasias Mamárias em Cadelas e Gatas. Lisboa, 2009. 90f. **Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária** – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. 2009.

SALAS, Y.; MÁRQUEZ, A.; DIAZ, D.; ROMERO, L. Epidemiological study of mammary tumors in female dogs diagnosed during the period 2002-2012: a growing animal health problem. **PLoS ONE**. v. 10, n.5, 2015.

SCHRENK, P. *et al.* Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. **Cancer**, v.88, p. 608-614, 2007.

SLEECKX, N.; DE ROOSTER, H.; VELDHUIS KROEZE, E. J. B. *et al.* Canine mammary tumours, an overview. *Reproduction in Domestic Animals*, v.46, p.1112-1131, 2011.

SILVA F.R., REZENDE C.M.F., PAES-LEME F.O. & CARMONA J.U. Evaluación del método del tubo para concentrar plaquetas caninas: estudio celular. **Archs. Med.Vet.** v. 43, p.95-98, 2011.

SILVA, M.I.; RIBAS-FILHO, J.M.; MALAFAIA, O. *et al.* A utilização da *Pfaffia glomerata* no processo de cicatrização de feridas da pele. **Arq. Bras Cir Dig.** v.23, n.4, p.228-233, 2010.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de pequenos animais**. vol.2, cap.172, p.2437-2459, 2007.

SORENMO K. Canine mammary gland tumors. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.** v.33, p. 573-596, 2003.

SORENMO. K.; WORLEY. D.; ZAPPULLI., V. Tumors of the mammary gland. In: VAIL, D.; THAMM, D.; LIPTACK, J. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6 ed. Elsevier, 2020.

TAZIMA, M.F.; VICENTE, Y.A.M.V.A; MORIAY, T. Biologia da ferida e cicatrização. In: Simpósio: **Fundamentos em clínica cirúrgica – 1ª parte**, Medicina, Ribeirão Preto, v.41, n.3, p. 259-264, 2008.

TEDARDI, M. V.; KIMURA, K. C.; MENDONÇA, P. P.; DAGLI, M. L. Z. Epidemiologia e Etiologia do Câncer. In: DE NARDI, A.B; DALECK, C. R. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, p. 1-28, 2016.

TEXTOR, J.A.; NORRIS, J.W.; TABLIN, F. Effects of preparation method, shear force, and exposure to collagen on release of growth factors from equine platelet-rich plasma. **Am. J. Vet. Res.**v.72, n.2, p.271-8, 2011.

VALDIVIA, G.; ALONSO-DIEZ, A.; PÉREZ-ALENZA, D.; PEÑA, L. From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review. **Frontiers in Veterinary Science**. v.8, p. 1-33, 2021.

VENDRAMIN, F.S; FRANCO, D.; SCHAMALL, R.F.; FRANCO, T.R. Utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) autólogo em enxertos cutâneos em coelhos. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica.** v.25, p.4-10, 2010.

VENDRAMIN, F.S; FRANCO, R.F.; FRANCO, T.R. *et al.* Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Rev. Col. Bras. Cir.** v. 33, n.1, p.24-28, 2006.

VENDRUSCULO, C.P.; CARVALHO, A.M. MAORAES, L.F *et al.* Avaliação da eficácia de diferentes protocolos de preparo de Plasma Rico em Plaquetas para uso em Medicina Equina. **Pesq. Vet. Bras.** v.32, n.2, p. 106-110, 2012.

3. CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS SUBMETIDAS À MASTECTOMIA UNILATERAL TOTAL

RESUMO

As neoplasias mamárias são cada vez mais frequentes na rotina de pequenos animais, principalmente em cadelas não castradas e de idade avançada, com prognóstico desfavorável devido à alta incidência de malignidade. Assim, torna-se importante conhecer a epidemiologia e os aspectos clínico patológicos destas neoplasias, com intuito de prevenir ocorrência e evitar complicações. Este estudo coletou dados para avaliar os fatores epidemiológicos: idade, raça, ocorrência de castração e momento que foi realizada (antes ou depois do primeiro cio), uso de progestágenos, bem como fatores clínicos-patológicos como, estadiamento através do sistema TNM, tempo de evolução, localização e tipo tumoral e recidiva tumoral pós-cirúrgica após seis meses, em 25 cadelas diagnosticadas com neoplasia mamária e encaminhadas à cirurgia de mastectomia unilateral total no Hospital de Clínicas Veterinárias do CAV/UDESC em Lages-SC, que fizeram parte de um projeto paralelo de avaliação da cicatrização tecidual. Os dados foram obtidos através da anamnese com os tutores, bem como exame clínicos e físicos de rotina com ênfase na avaliação da cadeia mamária para presença de nódulos além da avaliação dos linfonodos sentinelas. Foram realizados ainda, exames de imagem (RX torácico e US abdominal) a fim de descartar metástases à distância. A idade média das cadelas com neoplasias mamárias neste estudo foi de 9,2 anos e variou entre 4 e 13 anos. A incidência de neoplasia mamária, divididas por faixa etária, foi de 64% das pacientes com menos de 10 anos e 36% nas cadelas com idade acima de 10 anos. As raças mais observadas foram: SRD com 15/25 do total das cadelas, representando 60%, 3 poodles; 2 Pastoras Alemãs; 1 Rotweiler; 1 PittBull; 1 Pinscher; 1 Daschund e 1 Cocker Spainel. No momento do diagnóstico das neoplasias, 76% das pacientes não eram castradas e a taxa de administração de progestágenos foi de 56%, sendo que 12% dos tutores não souberam informar se houve ou não a administração de hormônios. Foram caracterizadas no estadiamento I - 4/25 (16%) das cadelas, no estadiamento II – 8/25 (32%), no estadiamento III – 6/25 (24%) e no estadiamento IV – 7/25 (28%), nenhuma cadela foi classificada no estágio V, pois os animais que apresentavam metástases à distância, não participaram do estudo base. Foram identificados um total de 88 nódulos através da avaliação histológica, destes, 80 eram tumores de origem epitelial (91%), 5 de origem mesenquimal (5,7%) e 3 foram classificados como hiperplasia mamária. A distribuição das massas entre as glândulas foi de 26% em M3, 23% em M4, 22% em M5, 21% em M2 e apenas 9% em M1. A taxa de malignidade tumoral chegou a 96% de todos os tumores diagnosticados neste estudo e o carcinoma em tumor misto representou mais da metade deles. Os resultados obtidos neste levantamento reforçam a importância da conscientização dos tutores de nossa região, sobre a prevenção das neoplasias mamárias em cadelas, visto à alta taxa de malignidade observada e casos avançados da doença.

Palavras – chave: epidemiologia, casuística, malignidade tumoral, tumores mamários, TNM.

CHARACTERIZATION OF MAMMARY NEOPLASMS IN BITCHES UNDERGOING TOTAL UNILATERAL MASTECTOMY

ABSTRACT

Mammary neoplasms are increasingly common in the routine of small animals, especially in unneutered and older female dogs, with an unfavorable prognosis due to the high incidence of malignancy. Therefore, it is important to know the epidemiology and clinical-pathological aspects of these neoplasms, in order to prevent their occurrence and avoid complications. This study collected data to evaluate epidemiological factors: age, breed, occurrence of castration and time it was performed (before or after the first heat), use of progestins, as well as clinicopathological factors such as staging using the TNM system, time evolution, location and type of tumor and post-surgical tumor recurrence after six months, in 25 dogs diagnosed with mammary neoplasia and referred to total unilateral mastectomy surgery at the Hospital de Clínicas Veterinárias do CAV/UDESC in Lages-SC, which were part of a parallel project to evaluate tissue healing. The data were obtained through anamnesis with the owners, as well as routine clinical and physical examinations with an emphasis on the evaluation of the mammary chain for the presence of nodulations in addition to the evaluation of the sentinel lymph nodes. Imaging tests (chest X-ray and abdominal US) were also performed to rule out distant metastases. The average age of dogs with mammary neoplasms in this study was 9.2 years and ranged between 4 and 13 years. The incidence of mammary neoplasia, divided by age group, was 64% of patients under 10 years old and 36% in bitches over 10 years old. The most observed breeds were: SRD with 15/25 of the total bitches, representing 60%, 3 poodles; 2 German Shepherds; 1 Rotweiler; 1 PittBull; 1 Pinscher; 1 Daschund and 1 Cocker Spainel. At the time of diagnosis of neoplasms, 76% of patients were not castrated and the rate of progestin administration was 56%, with 12% of owners unable to inform whether or not hormones were administered. They were characterized in stage I - 4/25 (16%) of the bitches, in stage II - 8/25 (32%), in stage III - 6/25 (24%) and in stage IV - 7/25 (28%), no bitch was classified as stage V, as the animals that presented distant metastases did not participate in the base study. A total of 88 nodules were identified through histological evaluation, of which 80 were tumors of epithelial origin (91%), 5 of mesenchymal origin (5.7%) and 3 were classified as breast hyperplasia. The distribution of masses between the glands was 26% in M3, 23% in M4, 22% in M5, 21% in M2 and only 9% in M1. The tumor malignancy rate reached 96% of all tumors diagnosed in this study and mixed tumor carcinoma represented more than half of them. The results obtained in this survey reinforce the importance of raising awareness among owners in our region about the prevention of mammary neoplasms in bitches, given the high rate of malignancy observed and advanced cases of the disease.

Keywords: breast tumors, case, epidemiology, TNM, tumor malignancy.

INTRODUÇÃO

As neoplasias mamárias vêm sendo cada vez mais estudadas devido à alta prevalência na medicina veterinária, principalmente em cadelas, associado a isto, a preocupação dos tutores com a saúde e bem-estar dos animais tem se demonstrado maior nos últimos anos, em consonância ao aumento do número de animais de companhia nas famílias.

Os tumores mamários são patologias comuns em cadelas (Chagas *et al.*, 2020) e representam a segunda neoplasia mais frequentemente diagnosticada, sendo apenas excedida pelas neoplasias da pele (Lemos *et al.*, 2016), apresenta grande incidência em fêmeas, geriátricas (Cunha *et al.*, 2022) com idade entre 7 e 12 anos, não castradas ou castradas após vários ciclos estrais, podendo acometer diferentes raças (Lana, 2007). Entre as causas que contribuem para o desenvolvimento tumoral são citados fatores hormonais como o estrógeno, a progesterona e o hormônio do crescimento que podem influenciar na carcinogênese mamária (De Nardi *et al.*, 2009, Apparício e Vicente, 2015) além da dieta, obesidade (Sorenmo *et al.*, 2013), pseudociese e uso de contraceptivos hormonais.

Os tumores mamários merecem atenção principalmente devido à alta ocorrência bem como o risco oferecido a saúde animal, tendo em vista que estas neoplasias em grande parte se destacam pelo seu caráter letal, resultando em um comprometimento físico, social e emocional (Cunha *et al.*, 2022).

É de fundamental importância a determinação do estadiamento clínico de cada paciente através de exames de imagem como radiografias torácicas, por exemplo, com intuito de avaliar a presença de metástases distantes (Nunes *et al.*, 2018). Sorenmo *et al.* (2013) acrescentam que para a pesquisa de metástases também deve-se levar em consideração os sinais clínicos do animal. Além disso, a avaliação dos linfonodos regionais deve ser feita de forma rigorosa e é definitiva para confirmar o diagnóstico de metástases. O tamanho tumoral e a ocorrência de metástases próximas ou à distância são fatores prognósticos e influenciam no tempo de sobrevivência de cadelas com neoplasia mamária (Nunes *et al.* 2018).

Embora a o estadiamento clínico seja considerado uma ferramenta importante para definir o prognóstico do animal, ele não deve ser avaliado individualmente. As características histológicas dos tumores são importantes principalmente para tumores em estágios iniciais de desenvolvimento. A avaliação histopatológica é sempre recomendada e crucial para todas as situações (Cassali *et al.*, 2020).

A frequência de tumores mamários benignos e malignos em cadelas varia consideravelmente (Valdivia *et al.*, 2021) principalmente devido à existência de diferentes métodos de classificação tumoral e à ausência de critérios uniformes para diferenciar os tipos de tumor, e devido à esta falta de padronização foi realizado no Brasil um consenso para o diagnóstico, tratamento e prognóstico das neoplasias

caninas e felinas (Cassali *et al.*, 2014 e 2018). O prognóstico depende de diversos fatores, como o estadiamento tumoral, tipo histológico, comportamento clínico do tumor e condição clínica do paciente (Alves *et al.*, 2018).

A excisão cirúrgica das neoplasias mamárias, ainda são descritas como o tratamento de escolha para a maioria dos cães (Cassali, *et al.*, 2020). Este procedimento é capaz de promover a cura de animais que ainda não possuem metástases em linfonodos ou em outros órgãos (Horta *et al.*, 2014) e nos casos em que já há comprometimento metastático foi evidenciado que a cirurgia não aumenta a expectativa de vida, mas pode promover maior qualidade de vida nos pacientes que apresentam dor ou ulcerações tumorais (Cassali, *et al.*, 2020).

Considerando a alta incidência e malignidade dessas neoplasias, associadas aos poucos recursos terapêuticos disponíveis para a maioria dos pacientes, justifica-se a compilação de dados a fim de contribuir com a investigação de dados clínicos e patológicos regionais e agregar informações a outros estudos epidemiológicos sobre esta patologia que é cada vez mais frequente na medicina veterinária.

Este estudo tem como objetivo descrever as características clínico-patológicas encontradas em cadelas com diagnóstico de neoplasias mamárias, que foram submetidas à mastectomia unilateral total, no Hospital de Clínicas Veterinárias do CAV/UDESC em Lages-SC.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo observacional e descritivo, teve como objetivo determinar os fatores epidemiológicos e clínico patológicos, em cadelas com diagnóstico de neoplasia mamária que foram submetidas a tratamento cirúrgico de mastectomia unilateral total, que estavam vinculadas a um projeto de pesquisa o qual utilizou PRP (plasma rico em plaquetas) no leito da ferida cirúrgica, com intuito avaliar parâmetros de cicatrização tecidual. O estudo base foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-estar Animal (CEUA) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), sob o número 5039250417.

Foram avaliadas 25 cadelas, pesando entre 6 e 40 kg ($13,7\text{kg} \pm 9,4\text{kg}$), sem restrição de idade, ovariohisterectomizadas ou não, com neoplasias mamárias uni ou bilaterais, as quais tivessem como indicação de tratamento a mastectomia uni ou bilateral total. Foram usados como critérios de exclusão para o estudo, a presença de doenças sistêmicas, sinais de metástase a distância, obesidade e prenhez. Todos os animais eram provenientes da rotina clínico cirúrgica do Hospital de Clínicas Veterinárias do CAV/UDESC de Lages em Santa Catarina.

Os fatores epidemiológicos avaliados foram: idade, raça, ocorrência de castração e momento que foi realizada (antes ou depois do primeiro cio), uso de progestágenos, bem como fatores clínicos-patológicos como, estadiamento através do sistema TNM (*Tumor, Nodes and Metastasis*), tempo de evolução (relação evolução / estadiamento), localização, tipo tumoral e recidiva tumoral pós-cirúrgica após seis meses.

Os dados foram obtidos durante a anamnese que era respondida pelo tutor e então, tabulados em fichas individuais para posterior análise (Anexo 4). Todos os animais passaram por avaliação clínica e exame físico geral e específico para avaliação da presença massas em cadeia mamária através de observação e palpação do tumor (consistência, aderência, tamanho e localização) e linfonodos sentinelas (axilares e inguinais). Na sequência, eram realizados exame de imagem, para descartar presença de metástases (radiografia de tórax e ultrassonografia abdominal).

Os nódulos foram avaliados e mensurados novamente no momento do posicionamento cirúrgico, de acordo com a localização anatômica, tamanho, ocorrência de aderência, ulceração ou necrose para definir qual cadeia mamária seria removida primeiro, nas situações em que haviam nódulos em ambas as cadeias. O nódulo maior da cadeia mamária acometida foi mensurado para determinar, de acordo com o seu tamanho, o estadiamento clínico baseado no sistema TNM conforme descrito por Cassali *et al.* (2017) (Figura 9). Para mensuração utilizou-se um paquímetro analógico e avaliação do linfonodo sentinela foi realizada juntamente com a avaliação histológica da cadeia mamária resseccionada. Os critérios que definiram a extensão do procedimento cirúrgico foram baseados no *Consensus for the*

Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013 e 2017 de Cassali *et al.* (2017). Todos os dados foram registrados para posterior classificação TNM individual.

Figura 1 – Sistema de Estadiamento Clínico (TNM) das neoplasias mamárias em cadelas. (T: tumor / N: linfonodo sentinela / M: metástase) utilizado no estudo.

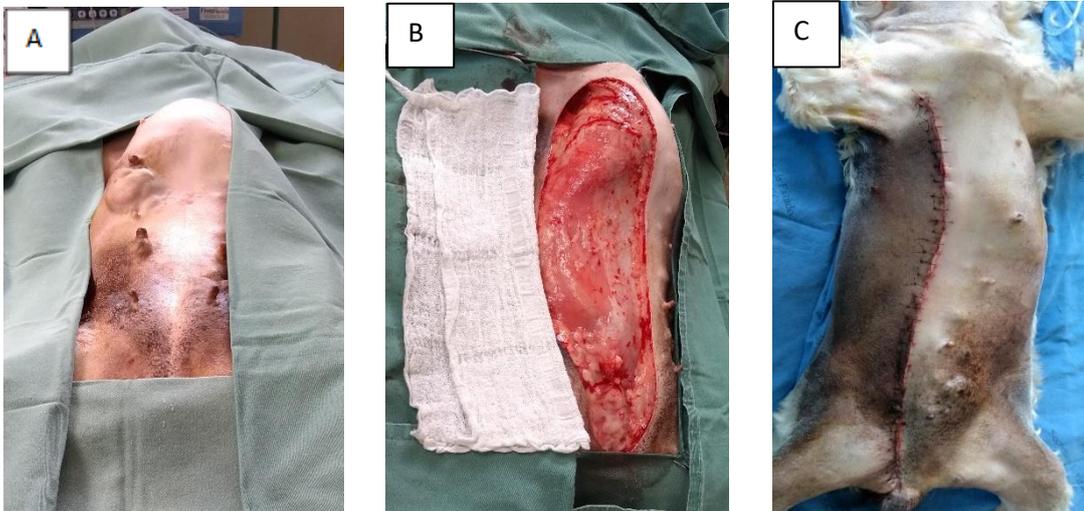
T - Primary Tumor	
T ₁	< 3 cm maximum diameter
T ₂	3-5 cm maximum diameter
T ₃	> 5 cm maximum diameter
N - Regional lymph nodes	
N ₀	No metastasis (histology or cytology)
N ₁	Metastasis present (histology or cytology)
M - Distant metastasis	
M ₀	No distant metastasis detected
M ₁	Distant metastasis detected
Stages	
I	T ₁ N ₀ M ₀
II	T ₂ N ₀ M ₀
III	T ₃ N ₀ M ₀
IV	Any T N ₁ M ₀
V	Any T Any N M ₁

Fonte: Cassali *et al.*, (2020).

O procedimento cirúrgico de mastectomia unilateral total (Figura 10) foi realizado conforme a técnica descrita por Slatter (2007), sempre pelo mesmo cirurgião, obedecendo todas as regras de antisepsia cirúrgica de rotina e os princípios básicos da cirurgia geral e oncológica. Quando definido pela avaliação clínica prévia, o linfonodo axilar era removido juntamente com a cadeia mamária, já o linfonodo inguinal sempre foi removido por estar dentro da margem cirúrgica.

A síntese tecidual foi realizada da mesma forma, em todos os grupos, com fio monofilamentar inabsorvível sintético (náilon) em padrão *walking suture* seguido de contínuo simples para a redução do espaço morto anatômico seguido da dermorrafia com o mesmo fio em padrão isolado simples. O calibre dos fios era definido conforme o peso do animal. Após o término da cirurgia todas as pacientes receberam cefalexina na dose de 30mg/kg, BID por cinco dias, analgesia com tramadol 6mg/kg e dipirona 25mg/kg ambos TID, durante cinco dias, além do anti-inflamatório meloxicam 0,2mg/kg SID no primeiro dia, seguido de 0,1mg/kg SID por mais três dias, todos pela via oral. Foram mantidas bandagens compressivas sobre a ferida cirúrgica, durante os 3 primeiros dias e, na sequência realizavam-se curativos uma vez ao dia até a completa cicatrização. Os animais permaneceram em repouso e internados no Hospital Veterinário até o segundo dia do pós-operatório, recebendo água e alimentação *ad libitum*.

Figura 2 – Imagens fotográficas do procedimento cirúrgico de mastectomia unilateral total direita realizado em uma cadela do estudo. Em A, observa-se a preparação do campo operatório após a colocação dos panos cirúrgicos. Em B, visualiza-se a ferida cirúrgica, após a remoção da cadeia mamária direita e, em C, observa-se o aspecto final da cirurgia após a síntese tecidual.



Fonte: Arquivo pessoal(2024).

As avaliações histopatológicas das cadeias mamárias foram realizadas conforme a rotina do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Catarina (LABOPEVE) em Curitiba - Santa Catarina, sempre pelo mesmo técnico. As peças cirúrgicas foram acondicionadas em frasco com formol 10% tamponado para fixação e posteriormente encaminhadas ao laboratório. Múltiplas secções de aproximadamente 2mm de espessura do tumor e respectivas margens laterais (cranial, caudal, lateral e medial) e profunda, foram selecionadas para processamento histológico, incluídos em blocos de parafina para posterior confecção de lâminas histológicas com cortes de 3 a 4µm, corados por de Hematoxilina e Eosina (HE) e avaliados em microscopia óptica. A classificação tumoral e de malignidade histológica seguiram os princípios estabelecidos por Cassali *et al.* (2017).

Após 6 meses da cirurgia os tutores foram novamente contactados e questionados quanto a ocorrência de recidivas tumorais no local da cirurgia e sobre a condição geral de saúde do paciente.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Sorenmo *et al.* (2013) e Cunha *et al.* (2022), a maior incidência dos tumores mamários ocorre em animais geriátricos. A idade média das cadelas com neoplasias mamárias neste estudo foi de 9,2 anos e variou entre 4 e 13 anos. A média

de idade observada foi muito semelhante à média descrita pela literatura, que também descreve maior susceptibilidade entre 9 e 11 anos, de acordo com (Sorenmo *et al.*, 2013) e, entre 7 e 12 anos em cadelas não castradas ou castradas após vários ciclos estrais, acometendo diferentes raças (Lana, 2007). Nunes *et al.* (2018) também relataram uma média de idade semelhante à de nosso estudo, com uma variação entre 2 e 20 anos. Ainda, em relação à idade, um dado relevante é a forte correlação entre a idade e malignidade dos tumores de mama, ou seja, quanto mais longevas as cadelas, maior a chance de apresentarem neoplasias agressivas (Sorenmo *et al.*, 2009; Chagas, 2020).

No presente estudo pode-se observar uma elevada incidência de neoplasias mamárias malignas, atingindo aproximadamente 96% de todas as alterações histológicas encontradas. Esta alta incidência, difere do descrito em algumas literaturas e pode ser atribuída devido ao fato de que todas as cadelas que participaram do estudo apresentavam indicação cirúrgica de mastectomia unilateral total, conforme sugerido por Cassali *et al.* (2014 e 2017), devido ao fato de possuírem nódulos em M3 (glândula mamária abdominal cranial), em múltiplas mamas, ou o maior nódulo medir mais de 3cm. Outro fator que pode estar associado ao alto índice de malignidade neste estudo é o estadiamento TNM, onde 84% das cadelas foram classificadas com TNM II ou mais. Os dados referentes a incidência de tumores malignos são bastante discrepantes entre os autores, variando de 26 a 73% (Pérez Alenza *et al.*, 2000), e 68 e 90% (Oliveira *et al.*, 2010; Toríbio *et al.*, 2012; Tenardi *et al.*, 2016) e, em alguns estudos, esta característica é associada frequentemente à alta mortalidade (Nunes *et al.*, 2018).

O estadiamento clínico das cadelas com neoplasias mamárias realizado neste estudo foi baseado no sistema de estadiamento TNM conforme descrito por Cassali *et al.* (2020). A classificação considera o tamanho do tumor principal (maior), o acometimento ou não de linfonodos e a ocorrência de metástases no momento da análise, fornecendo um valor para o seu estadiamento. Estadiamento I indica que o tumor principal possui até 3cm de diâmetro, sem acometimento de linfonodo e sem metástase pulmonar. Estadiamentos II e III indicam tumores entre 3 e 5cm e maior que 5cm, respectivamente, sem acometimento de linfonodo e sem metástase. O estadiamento IV ocorre quando há acometimento de linfonodo (palpação indicando aumento de volume, aderência, alteração na superfície) e por fim, o estadiamento V é dado quando há metástase à distância, independente da característica do tumor.

De acordo Sorenmo *et al.* (2011) os sistemas de estadiamento tumoral tornam os registros médicos mais precisos e consistentes permitindo uma comparação de casos mais eficiente e pode auxiliar na predição do prognóstico. Sistemas baseados no tamanho tumoral e *status* dos linfonodos podem fornecer alguma informação prognóstica e guiar os clínicos na decisão terapêutica.

Dessa forma, neste estudo, foram caracterizadas no estadiamento I - 4/25 (16%) das cadelas, no estadiamento II – 8/25 (32%), no estadiamento III – 6/25 (24%) e no

estadiamento IV – 7/25 (28%), conforme descrito na tabela 3. Quando se refere a incidência de neoplasias mamárias, divididas por faixa etária, observamos neste estudo que 64% das pacientes tinham menos de 10 anos de idade e 36% apresentavam idade acima de 10 anos no momento do diagnóstico. Dos animais com menos de 10 anos, 50% receberam classificação de estadiamento II; 25% estadiamento III e 12,5% estadiamento I e IV. Já dentre as cadelas com mais de 10 anos, 55% das cadelas apresentavam estadiamento IV; com estadiamento I e III foram 22,2% das cadelas e nenhuma foi estadiada como grau II.

Em nosso estudo, 77% das cadelas com TNM III ou IV tinham idade maior que 10 anos, em contrapartida, apenas 35% das pacientes com menos de 10 anos foram estadiadas nos graus III e IV, sendo mais prevalente, nesta faixa etária, o estadiamento II, com 50% das pacientes. Para que a paciente seja classificada com TNM III ou mais, o tamanho do tumor principal deve ter mais de 5cm de diâmetro e, conforme observado por Ferreira *et al.* (2009) existe uma associação entre lesões maiores de 5 cm com maior malignidade, altas taxas de proliferação celular e menor expressão de receptores hormonais. Embora, de acordo com Cassali *et al.* (2020) todas as cadelas, mesmo com lesões menores devem ser examinadas, submetidas à cirurgia e exame histopatológico o mais breve possível para aumentar as chances de cura.

Tabela 1 – Estadiamento Clínico TNM, das cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, atendidas no Hospital de Clínicas Veterinárias CAV/UDESC, baseado no sistema descrito por Cassali *et al.* (2020), dividido por faixa etária (menor e maior de 10 anos).

Animais avaliados/grupo	TNM I	TNM II	TNM III	TNM IV	TNM V
≤ 10 anos	2/16	8/16	4/16	2/16	-
> 10 anos	2/9	0/9	2/9	5/9	-
Total	4/25	8/25	6/25	7/25	-

Fonte: Elaborada pelo autor (2024). TNM : T – tumor / N - linfonodo regional / M - metástase

Não foram incluídas cadelas com estadiamento V neste estudo, pelo fato nesta graduação, os pacientes já apresentam metástases à distância no momento da cirurgia, o que poderia comprometer outros sistemas e interferir na avaliação da cicatrização tecidual e no procedimento anestésico do estudo base.

Feliciano (2010) ao avaliar a malignidade das neoplasias mamárias, de acordo com os achados de exame físico, verificou que o tamanho das massas é uma característica que pode ser utilizada nessa diferenciação, sendo que tumores maiores apresentam maior malignidade que os menores. Outro fator que também pode estar relacionado à alta taxa de neoplasias malignas encontrado no presente estudo, é a grande incidência de aplicação de progestágenos durante a vida reprodutiva das fêmeas. De acordo com a anamnese realizada com os tutores dos referidos animais, a taxa de administração de progestágenos foi de 56%, sendo que 12% dos tutores não souberam informar se houve ou não a administração de hormônios em algum momento da vida das cadelas. Ainda, deve-se levar em conta que 76% das cadelas não eram castradas no momento do diagnóstico e tratamento cirúrgico das neoplasias e que nenhum animal do estudo havia sido castrado antes do primeiro cio (tabela 4). Conforme descrito por Cunha *et al.* (2022) os hormônios são citados como fatores promotores importantes da carcinogênese mamária. Da mesma forma, segundo Daleck *et al.* (2009); Apparício e Vicente, (2015) o uso indiscriminado de anticoncepcionais tem provocado crescente ocorrência de enfermidades ligadas ao uso de progestágenos, sendo umas delas a neoplasia mamária.

Infelizmente, foi possível evidenciar neste estudo, que a alta taxa de administração de progestágenos como anticoncepcional em cadelas, é utilizada ainda com o objetivo de ser um método alternativo e de menor custo quando comparado à castração cirúrgica. Isso ocorre provavelmente, devido à falta de controle desses medicamentos e a pouca informação dos tutores com relação aos riscos inerentes ao seu uso. Estes dados vêm de encontro com Dalla Nora e Freitas, (2017), que descrevem que mesmo existindo técnicas cirúrgicas extremamente eficazes de esterilização, grande parte da população ainda opta pelo uso de anticoncepcionais injetáveis, como forma de controle populacional de cães.

Estes fatores podem ter corroborado para a alta incidência de neoplasias malignas em nosso estudo, pois sabe-se que os esteroides ovarianos desempenham um papel muito importante na carcinogênese da glândula mamária, conforme descrito por Chleboski *et al.* (2003). Os estrogênios e as progesteronas desempenham um papel importante no desenvolvimento fisiológico das glândulas mamárias, mas estes hormônios também estão implicados no desenvolvimento de tumores (Hulka, 1994). Os estrogênios são promotores de células jovens, além de regular a transcrição de vários proto-oncogenes nucleares (Selman, 1994). O desenvolvimento da neoplasia mamária na cadela é dependente, em grande parte, de hormônios (Oliveira *et al.*, 2010), alguns autores relatam que o uso indiscriminado de anticoncepcionais tem provocado ocorrência crescente de enfermidades ligadas ao uso de progestágenos, sendo uma delas a neoplasia mamária (Daleck *et al.*, 2009; Apparício e Vicente, 2015).

Em um estudo realizado por Moe *et al.* (2001) verificou-se que a incidência de tumores das glândulas mamárias caninas nos Estados Unidos, foi reduzida significativamente desde que foi instituída, como prática comum, a prática de ovariectomia (OSH) em idade precoce. De acordo com estes mesmos autores, os

tumores da glândula mamária são muito mais comuns em muitos países europeus em que a OSH não é rotineiramente realizada. Desde a década de 60, Schneider *et al.* (1969) comprovaram que a castração precoce em fêmeas caninas, reduz drasticamente o risco de desenvolvimento de tumores mamários. Montsserat *et al.* (2016) descreveram que mais de 90% das cadelas não eram castradas no momento da mastectomia, dessa forma, os resultados obtidos no presente estudo, onde nenhuma cadela havia sido castrada antes do primeiro cio, e 76% das cadelas com neoplasia mamária eram inteiras no momento da cirurgia, vêm de encontro com os dados descritos na literatura veterinária ao longo dos anos.

Embora algumas questões ainda precisem ser esclarecidas, Cassali *et al.* (2020) sugerem que a castração de cadelas seja realizada entre o primeiro e segundo cio, quando o intuito for a prevenção da ocorrência de neoplasias mamárias e controle populacional. Entretanto, alguns estudos demonstraram que há forte correlação entre a idade da castração e a ocorrência de problemas osteoarticulares em raças cães de grande porte e algumas raças específicas (Hart *et al.*, 2020), sendo desta forma, importante levar em consideração, características e fatores individuais na decisão do melhor momento para a castração.

Com relação aos benefícios da castração no momento do diagnóstico das neoplasias mamárias, ainda há algumas dúvidas na literatura. O estudo realizado por Kristiansen *et al.* (2016) avaliou a sobrevida ou o tempo livre de doença após a mastectomia, e verificou que a realização da castração no momento da remoção tumoral não tem influência na sobrevida de cadelas. Este mesmo estudo sugere que apenas os tumores que apresentam receptores hormonais E2 (17β estadiol) pela avaliação imuno-histoquímica, podem se beneficiar com a OSH. Nos animais do presente estudo, não foram realizadas avaliações imuno-histoquímicas das neoplasias para avaliação da presença destes receptores. Todos os tutores foram orientados a realizar a castração após a mastectomia, com intuito de reduzir os riscos de outras complicações, como uma gestação indesejada e sem a presença das mamas, conforme destaca Cunha *et al.* (2022) quando refere que a OSH ainda possibilita a prevenção de infecções uterinas, pseudociese, evita o cio e pode aumentar a expectativa de vida do animal.

Com relação a raça, tivemos uma grande variação neste estudo, as mais observadas foram os animais sem raça definida (SRD) com 15/25 do total das cadelas, representando 60%, 3 Poodles; 2 Pastoras Alemãs; 1 Rotweiler; 1 PittBull; 1 Pinscher; 1 Daschund e 1 Cocker Spainel (tabela 4). Estes resultados diferenciam dos encontrados por Chagas *et al.* (2020), que diagnosticaram tumores mamários em 21/93 (22,6%) cadelas sem raça definida (SRD), e 72/93 (77,4%) eram de alguma raça definida.

Dados com resultados discrepantes com relação a prevalência de neoplasias mamárias em animais de determinadas raças ou SRD, podem sofrer variações

importantes conforme a região onde o estudo foi realizado. Acreditamos que em nossa instituição, por ser um hospital escola, é possível observar muitos pacientes sem raça definida, principalmente quando se refere a atendimentos realizados na rotina clínico-cirúrgica, pois muitos tutores buscam atendimento com menor custo ou são de origem carente. A participação em projetos de pesquisa, onde é oferecido procedimentos com custo reduzido, também pode ser um dos fatores que contribuiu para atingir um público mais carente, justificando a alta incidência de cadelas SRD no presente estudo.

Tabela 2 - Distribuição dos animais submetidos à mastectomia unilateral total, avaliados no estudo, onde descreve-se individualmente a raça, idade (anos) peso (kg) e *status* reprodutivo (castrada ou inteira), uso de progestágenos (S – sim/ N – não e NSI – não sabem informar) com suas respectivas médias.

Raça	Idade (anos)	Peso (kg)	Status reprodutivo	Uso progestágeno
SRD	4	7	Inteira	N
SRD	13	11	Castrada	S
SRD	8	25	Inteira	S
Pastor Alemão	6	40	Castrada	N
Rottweiler	4	26,5	Castrada	N
Pit Bull	7	25	Inteira	NSI
SRD	7	6	Inteira	NSI
Cocker	9	15	Inteira	N
SRD	9	26,5	Castrada	S
Daschund	13	7,2	Inteira	S
Poodle	12	6	Inteira	N
Pastor Alemão	11	30	Inteira	S
SRD	12	10	Inteira	S
SRD	11	10	Inteira	S
Poodle	10	8	Inteira	S
SRD	4	9,5	Inteira	N
SRD	10	7	Inteira	S
SRD	10	10	Inteira	S
Poodle	9	7,3	Inteira	S
SRD	13	11	Castrada	S
SRD	10	15	Inteira	S
Pinscher	7	6	Inteira	S
SRD	12	6	Inteira	N
SRD	7	6	Inteira	NSI
SRD	12	13	Castrada	N
	Média idade	Média peso	% castradas/inteiras	%
	9,2 anos	13,7kg	76% Inteiras 24% castradas	56% Sim 32% Não 12% NSI

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Todas as cadeias mamárias resseccionadas cirurgicamente foram enviadas ao laboratório LABOPEVE/UFSC inteiras e fixadas em solução de formol 10% tamponado, para análise histopatológica de rotina (HE). No laboratório, cada glândula foi avaliada isoladamente. De todas as glândulas avaliadas, obteve-se um total de 88 mamas que apresentaram alterações histológicas. A tabela 5 descreve o diagnóstico histológico e o número de glândulas mamárias acometidas por cada tipo tumoral.

Tabela 3 – Diagnóstico histopatológico das neoplasias mamárias avaliadas pelo LABOPAVE/UFSC, com o número de glândulas acometidas e valores representados em percentual para cada tipo tumoral, de cadelas submetidas à mastectomia unilateral total, baseado na descrição histológica de Cassali *et al.* (2017).

Diagnóstico Histológico	Número de glândulas acometidas	Valor em %
Carcinoma em Tumor Misto	47	53%
Carcinoma Tubular	21	23,8%
Carcinoma Papilar	6	6,8%
Carcinossarcoma	5	5,7%
Hiperplasia Mamária	3	3,4%
Carcinoma	2	2,3%
Adenocarcinoma Tubular	1	1,1%
Carcinoma Cribiforme	1	1,1%
Carcinoma <i>in situ</i>	1	1,1%
Carcinoma Inflamatório/inflamação*	1	1,1%

Fonte: Elaborada pelo autor e LABOPEVE - UFSC Curitibaanos (2024) *sem diagnóstico conclusivo.

Sobre o tipo de tecido que compunha todos os 88 nódulos encontrados através da avaliação histológica, 80 foram classificados como tumores de origem epitelial (91%), 5 tiveram diagnóstico de tumores de origem mesenquimal (5,7%) e 3 foram classificados como hiperplasia mamária. Chagas *et al.* (2020) também identificaram em seu estudo, 63,5% dos tumores com origem epitelial e 36,5% com origem mesenquimal. A maior frequência de tumores de origem epitelial observada nestes estudos pode estar relacionada, segundo Collins *et al.* (1997) com a alta taxa de mitose que a porção epitelial sofre internamente ao tecido mamário e a influência do ciclo estral da cadela sobre o epitélio glandular mamário pode aumentar as chances de ocorrer neoplasias devido à grande proliferação celular, visto que 76% das cadelas de nosso estudo, não eram castradas.

O carcinoma em tumor misto representou mais da metade de todos os tumores diagnosticados no presente estudo, corroborando como resultados de Nunes *et al.* (2018) que tiveram o carcinoma em tumor misto como o tipo histológico mais frequente. Estes autores destacam ainda que o carcinoma em tumor misto possui um melhor prognóstico, diferentemente dos carcinomas sólidos, carcinomas micropapilares e carcinossarcomas que foram considerados tipos histológicos de comportamento biológico agressivo, sendo associados a pior prognóstico e menor sobrevida global. A sobrevida das cadelas do nosso estudo não foi avaliada, apenas fizemos contato com os tutores após 6 meses do procedimento cirúrgico e todos relataram que os animais não apresentavam complicações ou recidivas tumorais.

A grande variedade de neoplasias encontradas neste estudo, pode ser explicada pois, de acordo com Van Keymeulen *et al.* (2011) nas cadelas, um subconjunto de carcinomas mamários apresenta-se como carcinomas simples que podem ser derivados de células progenitoras epiteliais mutantes e são comparáveis com a forma mais comum de câncer de mama em mulheres, os carcinomas ductais. Entretanto, mais frequentemente do que em seres humanos, os cães também podem apresentar carcinomas complexos que contêm várias vias de diferenciação dentro de uma única glândula mamária afetada. Estes tumores podem ser derivados de mutações na forma mais básica e precoce das células tronco. A existência de células tronco e a presença de várias formas progenitoras podem, em parte, explicar a heterogeneidade dos carcinomas mamários

Quando se fala da estrutura celular da cadeia mamária das cadelas, diversos tipos de tecido e células estão presentes, justificando assim os variados tipos de neoplasias associadas à glândula mamária. Há também o sistema linfático responsável pela drenagem da mesma, que pode em alguns casos, ser responsável pelas metástases identificadas (Chagas *et al.*, 2020).

Em nosso estudo, quanto a distribuição dos nódulos tumorais entre as glândulas mamárias (a maioria das cadelas possuía outros nódulos, além do tumor principal) 26% estavam em M3, 23% em M4, 22% em M5, 21% em M2 e apenas 9% em M1. As mamas inguinais (M5) apresentaram uma maior predisposição ao acometimento neoplásico do tumor principal (36%), provavelmente por terem maior massa glandular, porém, a disseminação pode ocorrer em todas as glândulas, com menor prevalência apenas na glândula torácica cranial (M1). Estes resultados corroboram com Lana *et al.* (2007) os quais também observaram que as glândulas M3 e M5 foram as mais acometidas, provavelmente por possuírem maior quantidade de tecido glandular. Da mesma forma, Cavalcanti e Cassali (2006) referem maior prevalência nas glândulas M4 e M5. Com relação ao estadiamento do tumor comparado ao tempo de evolução observado pelos proprietários não houve correlação significativa, provavelmente devido à falta de confiança na informação, que era dependente da observação de cada tutor, bem como da característica histopatológica de cada tumor e sua malignidade.

Todas as cadelas do presente estudo foram submetidas à mastectomia unilateral total, aquelas que apresentavam nódulos em ambas as cadeias, foram submetidas ou encaminhadas para a outra mastectomia, seguindo as orientações de Cassali *et al.* (2017). Chagas *et al.* (2020) concluíram que os tumores de origem epitelial são mais frequentes devido ao alto grau de mitose no tecido e cadelas mais velhas devem ser submetidas à mastectomia total por apresentarem maior chance de desenvolver neoplasias malignas e metástases, fato que sustenta a indicação do tratamento cirúrgico mais agressivo nas cadelas do nosso estudo.

De acordo com Nunes *et al.* (2018) avaliações das características epidemiológica e clínico-patológicas são importantes para entender o perfil populacional e o comportamento biológico, além de estabelecer o prognóstico e auxiliar na determinação da melhor abordagem ao paciente.

3.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Alguns dados colhidos neste estudo dependeram unicamente da informação fornecida pelo tutor, dessa forma, podem existir alguns equívocos, principalmente quando se refere às informações como, tempo de evolução do tumor, momento da castração, uso de progestágenos, entre outras.

3.5 CONCLUSÕES

Foi possível observar que as pacientes com neoplasias mamárias da nossa rotina, apresentam características que sugerem desconhecimento por parte dos tutores, principalmente quando se refere às questões de prevenção desta patologia, como o uso de progestágenos, castração e diagnóstico precoce dos nódulos. Neste estudo, a maior parte das cadelas não era castrada e havia recebido progestágenos ao longo da vida. Além disso, observou-se uma elevada taxa de malignidade entre os tumores mamários diagnosticados, tendo como mais frequente o carcinoma misto maligno.

Assim, nossos resultados reforçam a importância de realizar campanhas de conscientização sobre a prevenção das neoplasias mamárias em nosso meio, devido à alta taxa de malignidade observada e casos avançados da doença.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. O. D.; SILVA, V.F.S.; RODRIGUES, L.A. *et al.* Caracterização clínica e histopatológica de tumores mamários em cadelas atendidas em Viçosa, MG. v. 6 n. 1. **J. Health Biol Sc.** p. 17-22, 2018.

APPARÍCIO, M.; VICENTE, W. R. R. Reprodução e Obstetrícia em cães e gatos. São Paulo: **Medvet**, 2015.

CASSALI, D.G; DAMASCENO, K.A; BERTAGNOLLI, A.C. *et al.* Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of Canine Mammary Tumors: benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas. **Braz J Vet Pathol**, vol.10, n.3, p.87-99, 2017.

CASSALI, G. D.; JARK, P.C. GAMBA, C. *et al.* Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors - 2019. **Braz J Vet Pathol**, v.13, n.3, p. 555-574, 2020.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E. *et al.* Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013. **Braz J Vet Pathol**, vol.7, n.2, p.38-69, 2014.

CASSALI, G.D.; CAMPOS, C.B.; BERTAGNOLLI. A.C. *et al.* Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of feline mammary tumors. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 55, n. 2, p. 1-17, 2018.

CAVALCANTI, M.F.; CASSALI, G.D.; Prognostic factors in the clinical and histopathological diagnosis of breast tumors in bitches - review. **Rev Clin Vet.** v.11, p.56-64. 2006.

CHAGAS, J.; GONÇALVES, R.; LEONOR, A. *et al.* Neoplasias mamárias em cadelas: um estudo estatístico para auxiliar no tratamento. **Pubvet.** v. 14, n. 05, p.1-7, 2020.

CHLEBOWSKI R.T; HENDRIX, S.L; LANGER, R.D; STEFANICK, M.L; GASS, M.; LANE, D. *et al.* Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative randomized trial. **J.A.M.A.** v. 289, p.3243–53, 2003.

COLLINS, K.; JACKS, T.; e PAVLETICH, N. P. The cell cycle and cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences.** v.94, n.7, p.2776–2778, 1997.

CUNHA, R. O.; FROTA, C. M. H.; CAZELATO, M. C. *et al.* Neoplasia mamária em cadelas: revisão de literatura. **Revista Agroveterinária do sul de Minas.** v. 4, n.1, p.173-182, 2022.

DALECK, C. R.; RODASKI, S. Cirurgia Oncológica. In: DALECK, C. R.; De NARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo:Roca, cap. 8, p. 152-159, 2009.

DALLA NORA, L. R.; FREITAS, E. S. Estudo retrospectivo das implicações patológicas em cadelas expostas a hormônios contraceptivos no período de 2015 a 2017 em clínica veterinária no município de Capitão Leônidas Marques/PR. Congresso Nacional de Medicina Veterinária FAG, 2017.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; ROCHA, N.S. *et al.* Neoplasias mamárias. In: DALECK, C.R.; De NARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, cap. 25, p. 372-378, 2009.

FELICIANO, M.A.R., Ultrassonografia convencional e modo Doppler em cores e Power na avaliação da neoplasia mamárias em cadelas. 50f. **Tese** (Doutorado). UNESP, Jaboticabal, 2010.

FERREIRA E.; BERTAGNOLLI, A. C.; CAVALCANTI, M.F. *et al.* The relationship between tumor size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumors. **Vet Comp Oncol**. v.193, p.1-6, 2009.

HART, B. L.; HART, L. A.; THIGPEN, A. P.; WILLITS, N. H. Assisting Decision-Making on Age of Neutering for Mixed Breed Dogs of Five Weight Categories: associated Joint Disorders and Cancers. **Frontiers in Veterinary Science**. v.7, n.472. p.1-6, 2020.

HORTA, R.S.; LAVALLE, G.E.; DE CASTRO R.M.C. *et al.* Influence of surgical technique on overall survival, disease free interval and new lesion development interval in dogs with mammary tumors. **Adv Breast Cancer Res**. v.3, p.38-46, 2014.

HULKA, B.S.; EDISON, T.L; LININGER, R.A. Steroid hormones and risk of breast cancer. **Cancer Supp**. v.74, n.3, p. 1111–24, 1994.

KRISTIANSEN, V.M.; PENA, L.; DIEZ CORDOVA, L. *et al.* Effect of ovariectomy at the time of tumor removal in dogs with mammary carcinomas: a randomized controlled trial. **J Vet Intern Med**. v.30, n1, p. 230-41, 2016.

LANA S.E., RUTTEMAN G.R. & WITHROW S.J. Tumors of the mammary gland, In: **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4^a ed. Saunders Elsevier. p.619-628, 2007.

LEMOES, M. M.; ESTEVES, F.; PAIVA, R. C. *et al.* Neoplasias mamárias em canídeos. **Millenium-Journal of Education, Technologies and Health**, n. 37, 2016.

MOE, L. Population-based incidence of mammary tumors in some dog breeds. **J. Reprod. Fertil-Suppl**. v.57, p.439–43, 2001.

MONTSERRAT, L.A.; CASSIANO-CAMUZI, D.; JANKERLE NEVES BOELONI, J. N. *et al.* Zona organizadora de nucléolo e sua relação com a Epidemiologia de cadelas com neoplasia mamária. **Archives of Veterinary Science**. v.21, n.1, p.82-90, 2016.

NUNES, F.C.; CAMPOS, C.B.; TEIXEIRA, S.V. *et al.* Epidemiological, clinical and pathological evaluation of overall survival in canines with mammary neoplasms. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v.70, n.6, p.1714-1722, 2018.

OLIVEIRA, F.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K. *et al.* Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.177-185, 2010.

PEREZ ALENZA, M.D.; PEÑA, L.; NIETO A.I.; CASTILLO, N. Factors Influencing the Incidence and Prognosis of Canine Mammary Tumours. **Journal of Small Animal Practice**. p. 287-291, 2000.

SCHNEIDER. R.; DORN.; C.R.; TAYLOR, D.O.N. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **J Natl Cancer Inst**. v.43, p.1249-1261, 1969.

SELMAN, P.J; MOL, J.A, RUTTEMAN, G.R., *et al.* Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. **Endocrinology**. v.134, p. 287–92. 1994.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de pequenos animais**. vol.2, cap.172, p.2437-2459, 2007.

SOREMMO K.U., DEANNA, R.W., GOLDSMIDT, R.H. Tumors of the mammary gland. In: Withrow e MacEwen's. **Small animal clinical oncology**. 5ª ed. Philadelphia: Saunders Company. p. 553-571, 2013.

SORENMO K. Canine mammary gland tumors. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract**. v.33, p. 573-596, 2009.

SORENMO, K.U.; KRISTIANSEN, V.M.; COFONE, M.A. *et al.* Canine mammary gland tumours: a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. **Vet. Comp. Oncol.**, v.7, p.162-172, 2009.

SORENMO, K.U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V. e GOLDSCHMIDT, M.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.

TEDARDI, M. V.; KIMURA, K. C.; MENDONÇA, P. P.; DAGLI, M. L. Z. Epidemiologia e Etiologia do Câncer. In: DE NARDI, A.B; DALECK, C. R. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, p. 1-28, 2016.

TORÍBIO, J.M.; ESTRELA-LIMA, A.; MARTINS FILHO, E.F. *et al.* Caracterização clínica, diagnóstico histopatológico e distribuição geográfica das neoplasias mamárias em cadelas de Salvador, BA. **Rev. Ceres**, v.59, p.427-432, 2012.

VALDIVIA, G.; ALONSO-DIEZ, A.; PÉREZ-ALENZA, D.; PEÑA, L. From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review. **Frontiers in Veterinary Science**. v.8, p. 1-33, 2021.

VAN KEYMEULEN, A.; ROCHA, A.S.; OUSSET, M., BECK, B.; BOUVENCOURT, G.; ROCK, J. *et al.* Distinct stem cells contribute to mammary gland development and maintenance. **Nature**. v.479, p.189–93, 2011.

ANEXOS

Anexo 1 – Tabela utilizada durante a avaliação macroscópica da ferida cirúrgica, onde eram registrados os dados de cada paciente, data da cirurgia e avaliações pós-operatórias. As avaliações para cada critério foram realizadas conforme o grau de intensidade, sendo 0 para ausência; 1 discreta presença; 2 moderada presença e 3 para intensa presença.

AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DA FERIDA CIRÚRGICA					
Dados do Paciente:					
Nome: _____ n° ficha: -					
_____ Proprietário: _____					
Animal n°: _____ Idade: _____ Dia da cirurgia: _____					
Datas					
Parâmetros/Dias	24h	48h	72h	5° dia	10° dia
Exsudato (tipo)					
Hematoma					
Edema (local –L / Membros M)					
Rubor					
Dor (palpação)					
Seroma					
Deiscência					
Hemorragia					

Fonte: Elaborada pelo autor.

Anexo 2 – Tabela utilizada para avaliação microscópica das amostras colhidas em no 5º e 10º dias de pós-operatório onde foram anotados os dados de cada paciente, data da cirurgia e critérios histopatológicos. As avaliações para cada critério foram realizadas conforme o grau de intensidade, sendo 0 para ausência; 1 discreta presença; 2 moderada presença e 3 para intensa presença.

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA CICATRIZAÇÃO			
Dados do Paciente			
Nome: _____ n° ficha: _____ Proprietário: _____			
Animal n°: _____ Idade: _____ Dia da cirurgia: _____			
Parâmetros /Dias	5°	10°	Observações
Intensidade de proliferação vascular			
Reação inflamatória (mono e polimorfonucleares)			
Proliferação de fibroblastos			
Colageinização			
Reepitelização			
Hemorragia			
Tipo de inflamação			

Fonte: Produção do próprio autor, baseada em Garros et al. (2006).

Anexo 3 - Variáveis microscópicas descritas por Garros et al. (2006) utilizadas para avaliação da cicatrização tecidual das amostras colhidas no 5º e 10º dias de pós-operatório.

Variáveis microscópicas descritas por Garros et al., 2006

Proliferação tecidual/vacular: Ausente: quando não se evidencia vasos no corte histológico. Discreta: quando forem evidenciadas poucos vasos esparsamente situados, de forma isolada no contexto. Moderada: quando os vasos aparecerem com maior frequência e dispersos no campo óptico. Acentuada: quando for possível evidenciar com grande frequência a presença de vãos, dispostos em todo o contexto.

Células mono e polimonucleares: Ausente: quando estas células não forem visibilizadas no campo óptico. Discreta: quando forem evidenciadas de forma isolada, possibilitando distinguir áreas livres de infiltrado. Moderada: quando aparecerem com maior frequência constituindo agregados densos, mas possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado. Acentuada: quando as células forem evidenciadas em grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

Proliferação fibroblástica/tipo de inflamação: Ausentes: quando não se evidenciar proliferação de fibroblastos. Discreta: quando houver esparsos fibroblastos proliferados em meio ao tecido conjuntivo frouxo. Moderada: quando houver moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo feixes celulares multi-direcionalmente. Acentuada: quando houver grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multi-direcionalmente.

Colageinização: Ausente: quando não for possível a visibilização do depósito de fibras colágenas. Discreta: quando a deposição de fibras colágenas forem em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados. Moderada: quando a deposição de colágeno formou feixes de fibras eosinofílicas, espessas, intercaladas com áreas de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados. Acentuada: quando houver grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjadas em meio a fibroblastos proliferados em sem áreas de tecido conjuntivo frouxo.

Reepitelização: Ausente: quando não houver epitélio visibilizado no campo óptico. Discreta: quando o epitélio começar a recobrir a área da ferida. Moderada: quando aparecer de forma parcial sobre a área acometida. Acentuada: quando for visibilizado de forma total ou completa sobre o tecido conjuntivo.

Hemorragia: Ausente: quando não se evidenciar hemácias fora dos vasos sanguíneos. Discreta: quando forem visibilizadas poucas hemácias ao redor de até dois vasos sanguíneos. Moderada: quando forem observadas hemácias em maior quantidade ao redor de pelo menos dois vasos sanguíneos. Acentuada: quando for observada grande quantidade de hemácias ao redor de diversos vasos sanguíneos.

Fonte: Produção do próprio autor e LABOPEVE, baseada em Garros et al. (2006).

Anexo 4 – Imagem demonstrando o modelo da ficha utilizada para registro de dados dos animais avaliados durante o estudo.

LEVANTAMENTO DE DADOS EM CADELAS COM NEOPLASIA MAMÁRIA Nº ____

FICHA: _____ NOME: _____ RAÇA: _____ IDADE: _____ PESO: _____ Kg
 PROPRIETÁRIO: _____ TELEFONE: _____

FICHA CLÍNICA

TEMPO DE EVOLUÇÃO DO TUMOR: _____ CASTRADA: () SIM () NÃO

IDADE DA CASTRAÇÃO: (número deaios): _____

UTILIZAÇÃO PROGESTÁGENO: () SIM () NÃO TEMPO UTILIZAÇÃO: _____

PSEUDOCIESE: () SIM () NÃO PIOMETRA: () SIM () NÃO

ESTADIAMENTO

LINFONODOS ACOMETIDOS: _____

PESQUISA DE METÁSTASE: () SIM () NÃO EXAME: () RX () US

ACHADOS: _____

ESTADIAMENTO TNM: _____

	TAMANHO DO TUMOR	ACOMETIMENTO LINFONODOS	METASTASE A DISTÂNCIA
ESTADIO 1	T1 < 3cm	N0	M0
ESTADIO 2	T2 3-5 cm	N0	M0
ESTADIO 3	T3 > 5 cm	N0	M0
ESTADIO 4	Qualquer	N1 (positivo)	M0
ESTADIO 5	Qualquer	Qualquer	M1 (metástase)

ADERÊNCIA: () SIM () NÃO

TUMOR ULCERADO: () SIM () NÃO

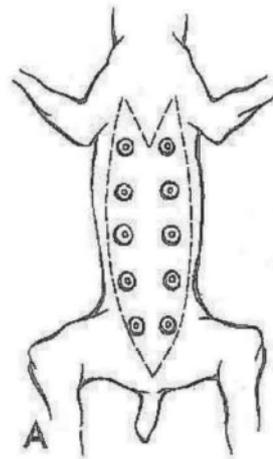
MASTECTOMIA: () PARCIAL () TOTAL

MAMAS ACOMETIDAS: _____

HISTOPATOLÓGICO: () SIM () NÃO

LAUDO

HISTO: _____



MAPEAMENTO NÓDULOS MAMARIOS – DESCRIÇÃO

