

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**TUMORES MAMÁRIOS EM CÃES E AVALIAÇÃO DA MARGEM CIRÚRGICA:  
REVISÃO**

Elaborado por: Ândrea Sara Dutra  
Graduanda em Medicina Veterinária

**Porto Alegre  
2018/01**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**TUMORES MAMÁRIOS EM CÃES E AVALIAÇÃO DA MARGEM CIRÚRGICA:  
REVISÃO**

**Autor:** Ândrea Sara Dutra.

Trabalho Apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária.

**Orientador:** Prof. Dr. Cristiano Gomes.

**Porto Alegre**

**2018/01**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Professor Cristiano Gomes por ter aceitado me orientar nessa importante fase final do curso.

Agradeço a todos que estiveram presentes e me apoiaram durante meu período de formação.

## RESUMO

O tumor de mama é a neoplasia mais frequente nas cadelas, representando um problema de grande impacto na medicina veterinária. Essa doença é amplamente estudada e muito bem descrita, porém ainda carece de mais estudos relacionados a padronização da abordagem do paciente oncológico veterinário. Muitos esforços estão sendo direcionados para a adoção de critérios para padronização do diagnóstico, compreensão do comportamento e evolução tumoral e avaliação de fatores prognósticos e preditivos. O conhecimento e a adoção desses parâmetros são fundamentalmente importantes para a escolha e sucesso de terapias que promovem redução da recorrência tumoral e aumento da sobrevida global. Os tumores espontâneos em cães e gatos são excelentes modelos para o estudo de tumores humanos, e muitas vezes são usados para avaliar a eficácia de terapias novas e investigativas. O exame histopatológico além de facilitar a classificação, é a melhor maneira de prever o comportamento biológico do tumor. A criação de um protocolo sobre a recomendação geral de como cada amostra de biópsia do tumor deve ser cortada é impossível porque cada amostra é única. O tamanho da amostra, a área da margem geral, o tipo de tumor e possíveis restrições financeiras devem ser considerados. A avaliação da margem ajudará o oncologista a decidir qual plano de tratamento é ideal para o animal e seu tutor. O aumento na complexidade do manejo de pacientes oncológicos e as elevadas expectativas dos clientes se combinaram para colocar mais demandas sobre profissionais veterinários do que apenas fazer um diagnóstico. O manejo ideal do paciente veterinário com câncer requer uma abordagem unificada, interdisciplinar e altamente comunicativa entre clínicos, oncologistas e patologistas.

**Palavras-chave:** tumor de mama, cadelas, exame histopatológico, margem.

## ABSTRACT

Mammary gland tumors are the most frequent neoplasia in the female dogs, representing a problem of great impact in veterinary medicine. This disease is widely studied and very well described, but it still lacks further studies related to the standardization of the veterinary oncology patient's approach. Many efforts are being directed towards the adoption of criteria for standardization of diagnosis, understanding of tumor behavior and evolution, and evaluation of prognostic and predictive factors. The knowledge and adoption of these parameters are fundamentally important for the choice and success of therapies that promote reduction of tumor recurrence and increase in overall survival. Spontaneous tumors in dogs and cats are excellent models for the study of human tumors and are often used to evaluate the efficacy of new and investigational therapies. Histopathological examination, besides facilitating classification, is the best way to predict the biological behavior of the tumor. Creating a protocol on the general recommendation of how each tumor biopsy sample should be trimmed is impossible because each sample is unique. Sample size, general margin area, tumor type and possible financial constraints should be considered. The margin assessment will help the oncologist decide which treatment plan is right for the animal and its owner. The increasing complexity of oncology patient management and high customer expectations have combined to place more demands on veterinary practitioners than just making a diagnosis. The ideal management of the veterinary cancer patient requires a unified, interdisciplinary and highly communicative approach between clinicians, oncologists and pathologists.

**Keywords:** mammary gland tumors, female dog, histopathological examination, margin.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2. NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CÃES</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1. Epidemiologia</b> .....	<b>7</b>
2.1.1. Fatores de risco: idade, exposição hormonal, raças e outros.....	7
<b>2.2. Sinais clínicos</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3. Diagnóstico</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4. Estadiamento</b> .....	<b>11</b>
<b>2.5. Prognóstico</b> .....	<b>12</b>
<b>2.6. Exame histopatológico</b> .....	<b>13</b>
2.6.1. Avaliação histopatológica.....	13
2.6.2. Critérios de malignidade.....	13
2.6.3. Classificação dos tumores de mama.....	13
2.6.4. Graduação histopatológica .....	16
<b>2.7. Tratamento cirúrgico</b> .....	<b>17</b>
<b>3. AVALIAÇÃO DE MARGEM CIRÚRGICA</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1. Submissão da amostra</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2. Dimensionamento da amostra</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3. Tingimento das amostras</b> .....	<b>21</b>
<b>3.4. Orientação de amostras clivadas</b> .....	<b>22</b>
3.4.1. Margem perpendicular ou radial.....	22
3.4.2. Margens paralelas .....	23
3.4.3. Técnica de Mohs.....	24
<b>3.5. Avaliação da margem</b> .....	<b>25</b>
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O tumor de mama é a neoplasia mais frequente nas cadelas e representa cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias nas fêmeas, sendo considerado um problema de grande impacto na medicina veterinária. Essa doença é amplamente estudada e muito bem descrita. (SORENMO *et al.*, 2013). Da mesma forma nas mulheres, o câncer de mama também é o tumor mais comum, porém a incidência nas cadelas é três vezes maior do que nas mulheres (DE NARDI *et al.*, 2016).

Os tumores espontâneos em cães e gatos são excelentes modelos para o estudo de tumores humanos, e muitas vezes são usados para avaliar a eficácia de terapias novas e investigativas. A prática da oncologia clínica na medicina humana está décadas à frente da oncologia veterinária, e muitas vezes procuramos a oncologia humana para obter orientação quanto a alguns aspectos da oncologia veterinária como métodos diagnósticos e terapias, por exemplo (SORENMO, 2003).

Muitos esforços estão sendo direcionados para a adoção de critérios para padronização do diagnóstico, compreensão do comportamento e evolução tumoral e avaliação de fatores prognósticos e preditivos, como: morfologia, alterações moleculares e genéticas. O conhecimento e a adoção desses parâmetros são fundamentalmente importantes para a escolha e sucesso de terapias que promovem redução da recorrência tumoral e aumento da sobrevida global (CASSALI *et al.*, 2014).

## 2. NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CÃES

### 2.1. Epidemiologia

Os tumores de glândula mamária são os tumores mais frequentes em cadelas, representando cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias nas fêmeas. As taxas de incidência variam significativamente de acordo com a origem dos estudos e características de cada população em questão, devido aos diferentes fatores de risco a que cada população está exposta (SORENMO *et al.*, 2013). Estima-se que no Brasil a incidência de tumores malignos em cães seja superior a 70%, sendo maior do que nos Estados Unidos (EUA), cuja incidência descrita é de 50% (DE NARDI *et al.*, 2016) devido a prática comum de esterilização em cadelas jovens, o que reduz significativamente a incidência desta doença (ALENZA *et al.*, 2000; BRØNDEN *et al.*, 2010). Já em machos, é descrito um risco bastante inferior ao risco encontrado em fêmeas (1% ou menos) de desenvolvimento de tumor de glândula mamária (DE NARDI *et al.*, 2016).

#### 2.1.1. Fatores de risco: idade, exposição hormonal, raças e outros

Normalmente, os tumores mamários são diagnosticados em animais de idade avançada, sendo cerca de dez anos a idade média (MORRIS e DOBSON, 2007). Porém, a faixa de idade dos cães acometidos pode variar bastante devido à grande diferença de tamanho e expectativa de vida encontrada nas diversas raças. Cães de grande porte tem menor expectativa de vida e chegam à velhice mais cedo que cães pequenos, por isso, costumam desenvolver os sintomas com menos idade (SORENMO *et al.*, 2013).

O estrógeno e a progesterona são necessários para o desenvolvimento e a maturação natural da glândula mamária. Esses hormônios têm efeito mitogênico sobre o epitélio das células mamárias e induzem proliferação do epitélio ductal intralobular e desenvolvimento dos ductos e lóbulos que resultam no crescimento das glândulas mamárias, apresentando uma importante influência na carcinogênese dos tumores mamários (DE NARDI *et al.*, 2016).

Segundo Dorn *et al.* (1968) o risco de cadelas ovariectomizadas desenvolverem tumor de mama é significativamente menor do que em cadelas intactas. É comprovado que o procedimento de ovariectomia (OH) é a melhor forma de prevenção do tumor de mama em cadelas quando realizado até dois anos e meio de idade. O risco de desenvolvimento de neoplasia mamária é reduzido para 0,5% ou menos se a OH for realizada antes do primeiro estro. O momento deste procedimento cirúrgico é crucial para que ocorra o seu efeito protetor,

devido ao aumento do risco de 0,5% para 8% após o primeiro estro e para 26% a partir do segundo. Portanto a realização da OH tem sua maior eficiência quando realizada antes do primeiro estro, o que sugere que os efeitos essenciais e irreversíveis dos hormônios ovarianos sobre as glândulas mamárias, no que diz respeito ao risco de desenvolvimento de câncer, ocorre no início da vida do animal (SCHNEIDER *et al.*, 1969).

Cães com tumores mamários que apresentam receptores de estrogênio e progesterona vivem mais que aqueles com tumores que não apresentam estes receptores. Receptores para estrogênio e/ou progesterona são encontrados em 50% dos tumores mamários malignos e em 70% dos benignos (FOSSUM, 2014)

A maioria dos estudos não conseguiu comprovar se a variação hormonal fisiológica sobre as glândulas mamárias, como irregularidades no ciclo estral, cistos foliculares ovarianos, corpo lúteo persistente, hiperplasia endometrial cística, pseudociese e parto, os quais normalmente ocorrem depois dos primeiros ciclos estrais, teria influência significativa no desenvolvimento tumoral (DE NARDI *et al.*, 2016).

Em menor grau, também é comprovado que a exposição à estrógeno e/ou progesterona exógenos também podem atuar no aumento do risco de desenvolvimento. O uso de doses baixas de progesterona aumenta principalmente o risco de desenvolvimento de tumores benignos e a associação de progesterona e estrógeno pode induzir tumores malignos (SORENMO *et al.*, 2003).

Estudos têm comprovado variação significativa na incidência do tumor de mama em diferentes raças, sugerindo além de idade e exposição hormonal, o envolvimento hereditário e suscetibilidade genética como importantes fatores de risco, porém estes dados podem variar de acordo com as características da população utilizada em cada estudo (DE NARDI *et al.*, 2016). A maior parte dos trabalhos demonstra que cães de raças pequenas são mais acometidos. O Poodle, Cocker Spaniel, Pastor Alemão, Dachshund, Yorkshire Terrier, Boxer e Springer Spaniel Inglês são algumas das mais predispostas, além dos animais sem raça definida (SRD) (MOE, 2001; EGENVALL *et al.*, 2005; SALAS *et al.*, 2015; DE NARDI *et al.*, 2016).

A dieta e a obesidade também podem contribuir com o risco de desenvolvimento de tumores mamários, porém em menor grau. Estudos epidemiológicos em roedores e humanos demonstraram que dietas muito gordurosas e a obesidade aumentam o risco da ocorrência de neoplasias mamárias. A obesidade está associada a uma diminuição da concentração sérica do hormônio sexual ligado à globulina, resultando no aumento de níveis séricos de estrógeno livre. Além disso, o tecido adiposo pode ser uma fonte de aumento de produção de estrógeno via aromatase mediada pela conversão de andrógenos (DE NARDI *et al.*, 2016). Um estudo

realizado por Alenza *et al.* (1998) confirmou que a obesidade ao primeiro ano de idade era um fator de risco independente para o desenvolvimento de tumores mamários e displasia.

## **2.2. Sinais clínicos**

A maioria das cadelas apresenta cinco pares de glândulas mamárias, sendo duas mamas torácicas, cranial e caudal (M1 e M2, respectivamente), duas mamas abdominais, cranial e caudal (M3 e M4, respectivamente), e uma mama inguinal (M5) (FOSSUM, 2014). Os tumores de glândula mamária são facilmente detectados por meio da palpação das mamas, que deve ser feito minuciosamente, sobretudo em cadelas de meia-idade a idosas não castradas. Os pares de glândulas caudais abdominais e inguinais são os mais acometidos (SORENMO, 2003). As neoplasias normalmente se apresentam em forma de um ou mais nódulos circunscritos de tamanho variado, envolvendo uma ou mais glândulas mamárias, aderidos ou não à pele e musculatura. Poderá haver ulceração da pele e reação inflamatória no local do tumor (CASSALI *et al.*, 2014).

Segundo Sorenmo (2003), 10% a 50% dos cães com tumores da glândula mamária possuem linfonodos aumentados de volume. Mas, a maior parte dos animais está clinicamente saudável e não apresentam sinais doença sistêmica ou metástase no momento do diagnóstico (CASSALI *et al.*, 2014).

Cães com doença metastática avançada ou carcinomas inflamatórios, apresentam sinais sistêmicos de doença quando são diagnosticados. Animais com doença metastática podem apresentar sinais não específicos, como fadiga, letargia e perda de peso, dependendo do local da metástase. E animais com carcinoma inflamatório apresentam extensa inflamação das glândulas mamárias envolvidas, com edema e dor, além de fraqueza generalizada (SORENMO, 2003).

## **2.3. Diagnóstico**

Devem ser realizados a anamnese e exame físico completo destes pacientes com exame minucioso das mamas. O diagnóstico inicial de neoplasias mamárias é realizado baseado na idade, histórico reprodutivo e sinais clínicos como a existência de tumor na região das mamas e aumento de volume de linfonodos regionais (CASSALI *et al.*, 2009).

Em cerca de 70% dos casos, estão presentes mais de um nódulo em uma mesma glândula mamária ou envolvendo simultaneamente mais de uma glândula, podendo ainda apresentar

tipos histológicos distintos. Assim, todos os nódulos devem ser biopsiados, por poder se tratar de tumores primariamente independentes. Os tumores com piores prognósticos determinarão a evolução clínica dos pacientes (DE NARDI *et al.*, 2016).

Uma biópsia cirúrgica, normalmente uma biópsia excisional, é recomendada como método diagnóstico inicial para cães com tumores de glândula mamária. Esta biópsia fornecerá tecido para o diagnóstico histopatológico e será terapêutica para cães com tumores benignos (SORENMO, 2003).

Segundo Sorenmo *et al.* (2013), exame histopatológico além de facilitar a classificação permite avaliar: infiltração da pele, tecidos moles e vasos periféricos, detalhes histopatológicos do tumor e margem cirúrgica.

Devido ao grande risco de metástase associado as neoplasias mamárias o estadiamento mínimo deve ser realizado, por meio dos exames hematológico e bioquímico sérico, radiografia de tórax em três posições (laterolateral direita e esquerda e ventrodorsal) e exame de citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) (SORENMO *et al.*, 2013).

A maioria das neoplasias mamárias é maligna e, em 25% dos casos, os animais apresentam metástases em linfonodos regionais no momento do diagnóstico e, por vezes, no parênquima pulmonar. Micrometástases podem estar presentes em muitos casos, mas não são visíveis por meio do exame radiográfico. A radiografia de tórax é essencial para verificar presença de metástases no parênquima pulmonar e em linfonodos esternais. Lesões pulmonares com 6 a 8 mm já podem ser detectadas pelo exame radiográfico convencional, entretanto, para detecção precoce de metástases, com tamanhos inferiores a 6 mm, deve ser utilizada a tomografia computadorizada (DE NARDI *et al.*, 2016).

O pulmão é o local mais frequente para a ocorrência de metástase a distância em cães com neoplasias mamárias malignas, porém exames diagnósticos complementares podem ser indicados para a pesquisa de metástase em outros sítios de acordo com os sinais clínicos específicos de cada paciente, já que metástases em vísceras abdominais e linfonodos podem ocorrer (SORENMO, 2003). Ultrassonografia abdominal pode auxiliar na detecção de metástases na cavidade abdominal. As radiografias abdominais devem ser avaliadas para aumento do linfonodo íliaco (FOSSUM, 2014).

Os linfonodos regionais devem sempre serem inspecionados para a presença de metástases, pois os mesmos têm grande impacto no estadiamento clínico, prognóstico e tratamento. A CAAF é um método seguro para a identificação de metástases, possuindo uma sensibilidade de 100% e especificidade de 96%, e deve ser sempre realizada em casos de linfonodos com alterações de volume, formato e consistência. Em casos com resultados

positivos ou com suspeita da presença de metástase é recomendada a excisão dos linfonodos comprometidos. O exame citológico permite também a exclusão de diagnósticos diferenciais, como mastite, lipoma, mastocitoma, entre outras neoplasias (DE NARDI *et al.*, 2016).

Deve ser realizado o diagnóstico diferencial para hipertrofia mamária, mastite, granuloma, ectasia de ductos, tumores de pele ou corpos estranhos. Os sinais clínicos do carcinoma inflamatório se assemelham aos da mastite, porém a mastite normalmente ocorre após o estro, parto ou gestação falsa e geralmente o edema é mais localizado do que no carcinoma inflamatório (FOSSUM, 2014).

#### 2.4. Estadiamento

O objetivo do estadiamento é avaliar a saúde geral e determinar a extensão do tumor. O estadiamento completo normalmente é composto por: hemograma completo, perfil bioquímico e urinálise; avaliação do tumor primário incluindo tamanho, tipo e diferenciação histológica; avaliação dos linfonodos regionais; e radiografias torácicas em três posições (SORENMO, 2003).

O estadiamento favorece a definição da extensão do tumor, o que permite o estabelecimento de um prognóstico mais acurado e o planejamento do tratamento. No sistema TNM os tumores mamários são estadiados de acordo com tamanho do tumor (T), acometimento de linfonodos (N) e presença ou ausência de metástase a distância (M), ilustrado na Tabela 1 abaixo. Onde os estádios 1, 2 e 3 correspondem ao tamanho tumoral, o estágio 4 ao comprometimento dos linfonodos regionais e o estágio 5 refere-se às metástases a distância, independente do tamanho tumoral e do *status* nodal (OWEN, 1980; CASSALI *et al.*, 2014).

**Tabela 1** - Estadiamento dos Tumores Mamários em cães (exceto carcinoma inflamatório).

Estádio	Tamanho tumoral	Status nodal	Metástases a distância
1	T1 <3 cm	N0	M0
2	T2 3-5 cm	N0	M0
3	T3 >5 cm	N0	M0
4	Qualquer T	N1 (positivo)	M0
5	Qualquer T	Qualquer N	M1 (presença de metástase)

Fonte: adaptada de Sorenmo (2003). M - metástase; N - nódulo; T - tumor.

Segundo Cassali *et al.* (2014), o tamanho do tumor é considerado um fator prognóstico independente para tumores mamários em cadelas. Tumores com tamanho igual ou menor que três centímetros (cm) são significativamente correlacionados com melhor prognóstico quando comparados com tumores maiores. Esse parâmetro pode ser facilmente obtido e deve ser considerado na tomada de decisões relativas à terapia complementar. Foi observado que a maioria das lesões maiores que cinco centímetros (T3) era maligna, com maior taxa de proliferação e menor positividade para receptores de progesterona quando comparada a tumores menores (T1, T2).

A avaliação dos linfonodos regionais tem grande impacto na sobrevida de cães com tumores de glândula mamária. A CAAF é um método seguro para a identificação de metástases em linfonodos. Animais com metástases em linfonodos regionais exibem uma diminuição significativa na expectativa de sobrevida em comparação com os indivíduos sem metástases em linfonodos. A presença de metástase à distância é prejudicial para o prognóstico em comparação com as fêmeas que se apresentam com disseminação apenas para os linfonodos regionais (CASSALI *et al.*, 2014).

## **2.5.Prognóstico**

A sobrevivência é influenciada por múltiplos fatores, e pode variar significativamente dependendo do tamanho do tumor, envolvimento de linfonodos, presença de metástase a distância, tipo histológico, grau de malignidade, grau de diferenciação celular, índice mitótico, grau de invasão, além de outros fatores (DE NARDI *et al.*, 2016).

Cães com tumores malignos de glândula mamária têm um tempo de sobrevida significativamente menor do que cães com tumores benignos. Entre 25% e 40% dos animais apresentam uma sobrevida de dois anos. A sobrevida média tem sido relatada como sendo entre quatro e 17 meses. Cães com tumores epiteliais malignos pequenos e bem diferenciados podem ter um excelente prognóstico realizando somente a ressecção cirúrgica, já os cães com tumores bem desenvolvidos e não diferenciados, têm um prognóstico reservado e podem necessitar de terapia adjuvante. A maior parte das metástases de glândula mamária ocorrem até um ano após a retirada cirúrgica do tumor (SORENMO, 2003).

A presença de múltiplos tumores não necessariamente implica um pior prognóstico. Segundo Sorenmo *et al.* (2009), após retirada cirúrgica do tumor, cães com neoplasias mamárias malignas apresentam maiores chances de recidivas quando comparados com cães que tiveram neoplasias benignas (DE NARDI *et al.*, 2016).

## 2.6. Exame histopatológico

### 2.6.1. Avaliação histopatológica

O diagnóstico definitivo dos tumores mamários é obtido por meio do exame histopatológico, onde serão avaliados: tipo histológico, pleomorfismo nuclear, índice mitótico, presença de necrose, grau de malignidade e invasão linfática e vascular. Caso o paciente apresente mais de um tumor deve-se avaliar pelo menos um fragmento de cada nódulo, pois os tumores podem apresentar diferentes tipos histológicos ou ainda ocorrer tumores malignos e benignos no mesmo animal (DE NARDI *et al.*, 2016).

Embora a informação mais importante em qualquer avaliação de tumores seja o diagnóstico, no que diz respeito a biópsia cirúrgica é igualmente importante observar informações adicionais que podem impactar no manejo do caso, como o grau do tumor e a qualidade da ressecção cirúrgica. Para garantir o diagnóstico, um fragmento representativo deve ser coletado, devidamente preservado e processado (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

### 2.6.2. Critérios de malignidade

Segundo Goldschmidt *et al.* (2011), um grande problema na avaliação de neoplasias mamárias caninas é a diferenciação de neoplasias malignas e benignas. Os critérios mais significativos para o diagnóstico de tumores mamários malignos no cão com base em amostras coradas com hematoxilina e eosina são: tipo histológico, pleomorfismo nuclear e celular significativo, índice mitótico, presença de áreas aleatórias de necrose, invasão peritumoral e linfática e metástase no linfonodo regional.

### 2.6.3. Classificação dos tumores de mama

A classificação histológica é a melhor maneira de prever o comportamento biológico do tumor. Os métodos de classificação de tumores mamários caninos varia consideravelmente, havendo discordância sobre os tumores mais comuns (CASSALI *et al.*, 2014). Embora os tumores da glândula mamária canina possam ser benignos ou malignos, aproximadamente 40% a 50% destes tumores são malignos (SORENMO, 2003).

Os tumores benignos apresentam evolução lenta, são circunscritos e não aderidos aos tecidos adjacentes (DE NARDI *et al.*, 2016). Já os tumores malignos da glândula mamária normalmente possuem evolução rápida, crescimento invasivo e todos os tumores malignos possuem o potencial de recidiva e de desenvolvimento de metástases. O risco e o padrão metastático são influenciados pelo tipo de tumor, pela diferenciação histológica e por vários fatores prognósticos clínicos. Metástases são mais frequentemente observadas em linfonodos regionais (axilares e inguinais) e em localizações distantes como outros linfonodos, pulmões, coração, baço, adrenais e encéfalo. Em geral, os tumores epiteliais malignos criam metástases através da via linfática para os linfonodos regionais e para os pulmões, enquanto os tumores mesenquimais tipicamente criam metástases pela via hematogena diretamente para o pulmão (SORENMO, 2003).

A maioria dos tumores da glândula mamária é de origem epitelial. Alguns, no entanto, podem ter histologia mista, consistindo de tecido epitelial e mioepitelial, com áreas de cartilagem e osso, e alguns tumores são de origem puramente mesenquimal (SORENMO, 2003). O termo “simples” é aplicado a qualquer tipo de neoplasia ou proliferação composta de células que se assemelhem somente a células epiteliais secretoras ou a células mioepiteliais. E o termo “complexo” é aplicado a qualquer tipo de neoplasia ou proliferação composta por células que se assemelhem a células epiteliais secretoras e a células mioepiteliais (HAMPE e MISDORP, 1974).

Acredita-se que os tumores de mama em pacientes caninos se transformem durante um longo período de tumores benignos para malignos e que a forma carcinomatosa seja seu processo final, embora alguns tumores possam não sofrer tal alteração, permanecendo benignos e pequenos. De forma geral, os tumores mamários podem se originar de células epiteliais dos ductos ou dos alvéolos, de células mioepiteliais adjacentes ao epitélio dos ductos ou alvéolos ou do tecido conjuntivo intersticial. Os tumores mistos originam-se de pelo menos dois tipos celulares, geralmente células epiteliais e mioepiteliais, exibindo grande variedade histológica (DE NARDI *et al.*, 2016). A classificação dos tumores mamários em cadelas, está disposta na Tabela 2.

**Tabela 2** – Classificação dos tumores mamários em cadelas.

**Lesão epitelial não neoplásica**

**Hiperplasia epitelial**

Hiperplasia ductal

Hiperplasia lobular

Adenose

### **Lesões de células colunares**

Alteração de células colunares

Hiperplasia de células colunares

Lesões atípicas de células colunares

### **Tumores benignos**

Adenoma

Adenomioepitelioma

Adenoma basaloide

Fibroadenoma

Tumor misto benigno

Papiloma ductal

### **Tumores malignos**

#### **Carcinomas**

Carcinomas *in situ* (ductal e lobular)

Carcinoma em tumor misto

Carcinoma papilar

Carcinoma tubular

Carcinoma sólido

#### **Tipos especiais de carcinoma**

Carcinoma micropapilar

Carcinoma lobular invasivo

Carcinoma lobular pleomórfico

Carcinoma secretório

Carcinoma mucinoso

Carcinoma rico em lipídio

Carcinoma de células escamosas

Carcinoma de células fusiformes

Carcinoma anaplásico

Neoplasia mamária com diferenciação sebácea

#### **Neoplasias mioepiteliais**

Adenomioepitelioma maligno

**Sarcomas**

Fibrossarcoma

Osteossarcoma

Carcinossarcoma

Sarcoma em tumor misto

**Outros sarcomas**

Condrossarcoma

Lipossarcoma

Hemangiossarcoma

Fonte: adaptado de Cassali *et al.*, 2014.

## 2.6.4. Graduação histopatológica

Segundo Cassali *et al.* (2014), o grau histológico apresenta correlação significativa com fatores prognósticos, como tipo histológico e sobrevida. A classificação histopatológica do câncer de mama visa avaliar a arquitetura da neoplasia e as variações morfológicas do núcleo, evitando avaliações subjetivas onde o grau de diferenciação do tumor é estimado pela aparência geral do tumor. O método de Nottingham modificado por Elston e Ellis (1991), amplamente utilizado na medicina humana, permite que os fatores sejam avaliados sistematicamente usando critérios mais objetivos.

De acordo com este método, a determinação do grau histológico é baseada na avaliação: do índice de formação tubular (um ponto: mais de 75% do tumor é composto por túbulos; dois pontos: entre 10% e 75% de formações tubulares; e três pontos: os túbulos ocupam 10% ou menos do tumor), do pleomorfismo nuclear (um ponto: núcleos pequenos e regulares; dois pontos: aumento moderado no tamanho e variação dos núcleos; e três pontos: pleomorfismo acentuado, com grande variação no tamanho e na forma dos núcleos) e da contagem mitótica (um ponto: zero a oito mitoses; dois pontos: nove a 16 mitoses; e três pontos: acima de 17 mitoses no aumento de 40 vezes). A graduação do tumor é obtida pela soma dos pontos que resultam em um escore total que varia de três a nove. Onde o grau I é equivalente a uma pontuação entre três e cinco, grau II entre seis e sete e grau III entre oito e nove. Na medicina veterinária, os sistemas de graduação para tumores mamários com critérios bem definidos não são usados com frequência. Porém, essa classificação histológica dos tumores de mama, representa uma ferramenta sensível que pode ser incorporada à medicina veterinária, como é o caso da oncologia humana (CASSALI *et al.*, 2014).

## 2.7. Tratamento cirúrgico

A excisão cirúrgica é o tratamento de escolha para todos os tumores mamários, exceto para carcinomas inflamatórios. A excisão permite o diagnóstico histológico e pode ser curativa, melhorar a qualidade de vida ou alterar a progressão da doença. A escolha da técnica cirúrgica para a remoção do tumor e a quantidade de tecido mamário dependem do tamanho do tumor, localização, consistência, estado do paciente e preferência do cirurgião (FOSSUM, 2014).

O sistema linfático é considerado a principal via de metástase para tumores mamários malignos de cães. Portanto, é muito importante que o cirurgião tenha conhecimento sobre a circulação linfática na glândula mamária e suas possibilidades de comunicação para que a técnica cirúrgica adequada seja escolhida (CASSALI *et al.*, 2014). Porém, um estudo realizado por Bianchi (2018) relatou metástase em linfonodo axilar em um animal que apresentava nódulo mamário em mama abdominal caudal, sugerindo que a presença de tumor poderá provocar linfangiogênese, ou seja, neoformação na drenagem linfática perdendo o padrão de drenagem da cadeia mamária já descrito.

Os linfonodos inguinais devem ser ressecados em bloco juntamente a glândula mamária inguinal, quando esta glândula é removida ou, da mesma forma que os linfonodos axilares, quando mudanças na sua forma, volume ou consistência são observadas ou se uma avaliação mais precisa gânglios linfáticos é desejado (SORENMO *et al.*, 2013).

A lumpectomia ou mastectomia parcial consiste na excisão de uma massa e uma margem de tecido mamário maior ou igual a um centímetro, esta técnica deve ser considerada para a remoção de pequenos tumores únicos, superficiais, sólidos, não aderentes de no máximo cinco milímetros (SORENMO *et al.*, 2013; CASSALI *et al.*, 2014; FOSSUM, 2014).

Mastectomia simples é a excisão de uma glândula inteira, indicada para lesões de até três centímetros, afetando apenas uma glândula, enquanto a mastectomia regional compreende a excisão da glândula acometida e das adjacentes, e é indicada para a remoção de conexões linfáticas de glândulas afetadas por lesões maiores que três centímetros. Nesse caso, é importante garantir a remoção de todo o tecido interposto entre a glândula mamária e a drenagem linfática. A remoção da glândula abdominal cranial durante a mastectomia regional pode ser necessária para obter margens cirúrgicas adequadas ou para lesões de até três centímetros localizadas nessa glândula (SORENMO *et al.*, 2013; CASSALI *et al.*, 2014; FOSSUM, 2014).

A mastectomia unilateral consiste na retirada de uma cadeia mamária inteira, quando lesões maiores que três centímetros acometem a glândula abdominal craniana. Mastectomias unilaterais também podem ser realizadas em pacientes com múltiplos nódulos ao longo da cadeia mamária (SORENMO *et al.*, 2013; CASSALI *et al.*, 2014; FOSSUM, 2014).

As vantagens e desvantagens de técnicas cirúrgicas agressivas ou conservadoras são amplamente discutidas e segundo Cassali *et al.* (2014), os estudos sobre o tema são controversos. Procedimentos agressivos, ou cirurgia profilática, por meio da mastectomia unilateral ou bilateral, podem de fato prevenir a ocorrência neoplasias mamárias que se desenvolveriam no futuro e podem beneficiar alguns pacientes, especialmente cães jovens intactos, com múltiplas lesões. Esse é, no entanto, um procedimento extremamente invasivo, com risco significativo de complicações pós-operatórias. Abordagens conservadoras, baseadas em fatores prognósticos bem estabelecidos, podem favorecer uma melhor recuperação pós-operatória em relação à qualidade de vida desses pacientes, sem nenhum prejuízo relacionado ao controle do tumor (CASSALI *et al.*, 2014).

A cirurgia paliativa em pacientes com tumores mamários visa melhorar a qualidade de vida sem proporcionar uma cura ou mesmo influenciar no prognóstico. Esse tipo de intervenção geralmente é realizado a partir da remoção do tumor primário quando o paciente já apresenta lesões metastáticas, proporcionando alívio dos efeitos diretos do tumor, como dor e sangramento, quando é ulcerado ou até mesmo impedindo ulcerações (CASSALI *et al.*, 2014).

### 3. AVALIAÇÃO DE MARGEM CIRÚRGICA

O princípio da avaliação de margens afirma que, para analisar adequadamente a integridade da ressecção, deve-se examinar 100% da margem. No entanto, isso é impraticável e senso comum combinado com alguns princípios determinará quantas seções precisam ser clivadas e analisadas (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

A transferência ideal da informação requer comunicação entre patologista e clínico oncologista. Isso começa com a submissão da amostra, que deve estar devidamente identificada com formulário de submissão e demarcação do tecido. Essas informações afetam significativamente a clivagem da amostra, que determina as áreas a serem avaliadas microscopicamente pelo patologista. Outras informações fornecidas, incluindo: sinalização, localização anatômica, descrição da lesão e progressão da lesão, podem afetar o diagnóstico histopatológico e a informação prognóstica (KAMSTOCK *et al.*, 2011).

Uma pesquisa feita por McGill *et al.* (2002) demonstrou que a grande maioria dos patologistas consideram margem cirúrgica e diagnóstico, os componentes mais importantes do resultado histopatológico. Embora a informação mais importante em qualquer avaliação de tumores seja o diagnóstico, no diz respeito a biópsia cirúrgica é frequentemente igualmente importante observar informações adicionais que podem impactar o manejo do caso, como o grau do tumor e a qualidade da ressecção cirúrgica (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

Para garantir um diagnóstico, um tecido representativo deve ser coletado, devidamente preservado e processado. Com pequenas massas que se encaixam em um cassete de processamento padrão de 2 cm × 2,5 cm × 5 mm, isso não é um problema. No entanto, muitos espécimes de tumor excedem esse tamanho e devem ser aparados para se ajustarem a essas dimensões. Esse passo crítico garante que tanto o tecido diagnóstico quanto as margens cirúrgicas sejam incluídos na biópsia e devidamente orientados no cassete para que o patologista possa concluir a avaliação, fazer um diagnóstico e avaliar com precisão a margem cirúrgica para que possa ser formulado um prognóstico e um plano de tratamento adequado. A margem cirúrgica pode ser definida e relatada de várias maneiras. O objetivo é fornecer aos clínicos as informações necessárias para decidir, se necessário, quais tratamentos adicionais serão recomendados (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

Nos tumores mamários normalmente é realizada a ressecção total do tumor (SORENMO, 2003). Esse procedimento é preferível pois permite a avaliação das margens cirúrgicas, o que não é possível na biópsia incisional. Quando o local do tumor não permite a

total remoção cirúrgica da neoplasia, pode ser realizada a biópsia incisional com apenas o intuito estabelecer um diagnóstico antes da escolha do tratamento (KAMSTOCK *et al.*, 2011).

### **3.1. Submissão da amostra**

A qualidade do resultado histopatológico final inicia pelo profissional responsável pelo envio. O manuseio apropriado da amostra desde o momento da aquisição até a chegada ao laboratório é essencial para manter a preservação adequada do tecido e evitar artefatos ou autólise de tecidos, o que pode impedir completamente a avaliação diagnóstica (KAMSTOCK *et al.*, 2011). Os principais fatores que prejudicam a qualidade da avaliação e interpretação microscópica são a falta de informações a respeito da mostra, fornecidas no formulário de submissão e na demarcação do tecido, e fixação inadequada (CASSALI *et al.*, 2014).

Espécimes devem ser fixados em formaldeído e enviados ao laboratório dentro de 24 horas para seu processamento. Portanto, toda a cadeia mamária com linfonodos inguinais poderia ser colocada em um frasco com formol a 10% e após a fixação, o fragmento deve ser colocado em uma solução de álcool a 70% para que a análise imuno-histoquímica não seja comprometida (KAMSTOCK *et al.*, 2011; CASSALI *et al.*, 2014).

### **3.2. Dimensionamento da amostra**

As margens devem ser priorizadas e as áreas centrais de necrose excluídas. A criação de um protocolo sobre a recomendação geral de como cada amostra de biópsia do tumor deve ser clivada é impossível porque cada amostra é única. O tamanho da amostra, a área da margem geral, o tipo de tumor e possíveis restrições financeiras devem ser considerados (CASSALI *et al.*, 2014).

A coleta da amostra pelo cirurgião pode ser classificada de duas formas. Uma delas é a biópsia excisional, onde o tumor é completamente retirado. Já a biópsia incisional é a ressecção de apenas uma porção do mesmo (STROMBERG e MEUTEN, 2017). Nos tumores mamários normalmente é realizada a ressecção total do tumor (SORENMO, 2003). Esse procedimento é preferível pois permite a avaliação das margens cirúrgicas, o que não é possível na biópsia incisional.

No caso de tumores de grandes proporções, mesmo que completamente removido pelo cirurgião, muitas vezes é muito grande para avaliar toda ou mesmo uma parte substancial. submetido a avaliação e diagnóstico. O patologista deve decidir quais partes devem ser clivadas

e examinadas. Para a avaliação da margem cirúrgica, o momento da clivagem é crítico para assegurar que o tecido diagnóstico esteja disponível nas lâminas e que as margens corretas sejam identificadas, incluídas e orientadas de modo a permitir a avaliação mais completa possível da margem cirúrgica. O procedimento de seleção e orientação é subjetivo e pode variar de acordo com o patologista (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

### **3.3. Tingimento das amostras**

Embora as marcações feitas com fio de sutura para estabelecer uma margem tenham sido um método tradicional, as mesmas não são observadas no exame microscópico. Portanto, o tingimento das margens de interesse é um método superior, porque a tinta pode ser aplicada pelo cirurgião que sabe quais margens devem ser avaliadas, servindo como forma de comunicação direta entre o cirurgião e o patologista. (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

A tinta é visível para o patologista no momento da clivagem e na avaliação da lâmina finalizada. Quando adequadamente marcada, o patologista pode ter certeza de que as margens tingidas demonstram as margens de real interesse (KAMSTOCK *et al.*, 2011).

A tinta cirúrgica está comercialmente disponível em várias cores, isso permite que o espécime possa ser demarcado com diferentes cores de acordo com as regiões de maior interesse. O tingimento pode ser feito antes ou depois da fixação com formalina. Podendo ser realizado pelo cirurgião ou pelo patologista. Porém independente de quem realize o processo, o mesmo deve ser devidamente registrado, indicando claramente qual cor indica qual margem (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

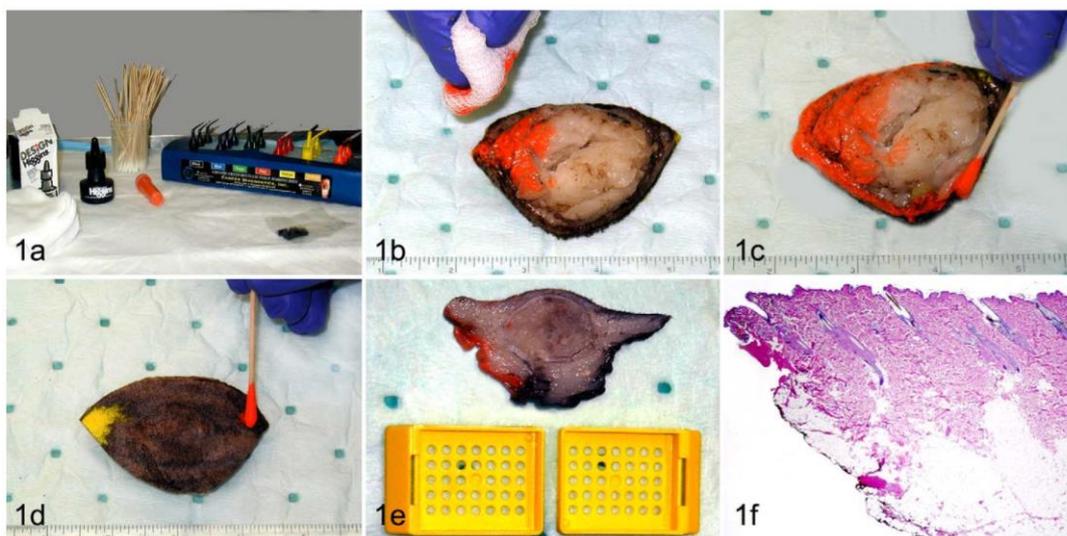


Figura 1. Tingimento de espécimes. (A) Tinta e material para aplicação. (B) Tingimento com gaze. (C) Tingimento com *swab* permite maior precisão na aplicação da tinta nas margens laterais. (D) Tingimento com cores diferentes para identificação das extremidades. (E) Margens tingidas com cores diferentes para identificação de áreas de interesse distintas. (F) Imagem histológica da amostra tingida.

### 3.4. Orientação de amostras clivadas

Uma vez que a verdadeira margem cirúrgica tenha sido estabelecida e corada, o tecido é posicionado no cassete de processamento para que as margens possam ser adequadamente avaliadas. Em geral, duas orientações que produzem duas a quatro seções são comumente usadas e seu uso é ditado pelo condições em torno de cada caso.

#### 3.4.1. Margem perpendicular ou radial

Na margem perpendicular, também chamada de radial, o tecido é cortado perpendicularmente ao plano de incisão do cirurgião (Figura 2A). Essa é a orientação convencional mais comumente empregada para massas de tamanho pequeno e médio, onde o tumor é dividido ao longo do seu eixo mais curto. Posteriormente, cada metade do tecido é cortada através de seu eixo mais longo, criando seções de um quarto que demonstram a massa em um plano diferente (KAMSTOCK *et al.*, 2011; CASSALI *et al.*, 2014; STROMBERG e MEUTEN, 2017).

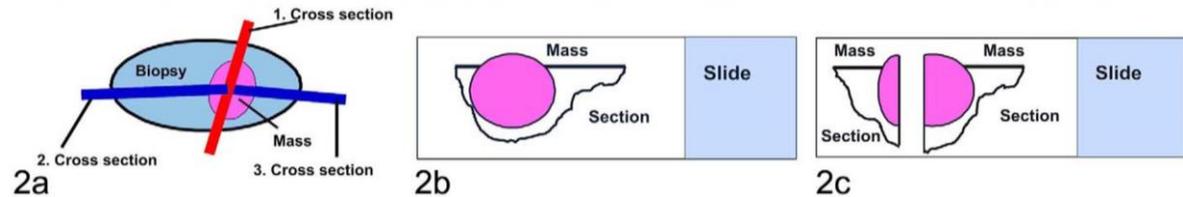


Figura 2. Margens perpendiculares. (A) Vista dorsal. Dois cortes são feitos em ângulos retos para avaliar quatro margens laterais e uma ventral. (B) Vista lateral do eixo curto. (C) Vista lateral do eixo longo. Adaptado de KAMSTOCK *et al.*, 2011.

A vantagem da secção radial é, quando na lâmina, que a relação entre o tumor e a margem cirúrgica pode ser observada e a distância histológica medida ou estimada (Figura 2B). A desvantagem dessa orientação é que muito pouco da circunferência da margem é realmente examinada, portanto o potencial de resultados falso negativos é alto. Em amostras grandes, esses cortes podem não incluir o tumor e a margem na mesma lâmina, portanto a largura da margem histológica não pode ser mensurada (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

A percentagem da área da margem pode ser aumentada pelo corte em série ou *bread loafing* do espécime, mas mesmo isso só examinará somente 1– 5% da margem (Figura 3), que poderia ser muito onerosa em grandes amostras para muitos tutores (STROMBERG e MEUTEN, 2017).



Figura 3. Margem perpendicular. Método *bread loafing*. Adaptado de STROMBERG e MEUTEN, 2017.

#### 3.4.2. Margens paralelas

Também chamado de margens tangenciais, nessa orientação o tecido é cortado paralelamente ao plano de incisão do cirurgião. A principal vantagem é que a quantidade de área de superfície avaliada pode ser centenas de vezes maior que em uma margem perpendicular

(Figura 4A). A principal desvantagem disso é que a relação entre o tumor e a margem é perdida e a largura da margem não pode ser medida (Figura 4B). Outra desvantagem é que, em amostras grandes, o custo de aparar e avaliar toda a margem pode ser proibitivo e impraticável. Deve ser tomado cuidado especial com a orientação destas lâminas e devem ser tingidas as margens voltadas para a face interna (STROMBERG e MEUTEN, 2017).

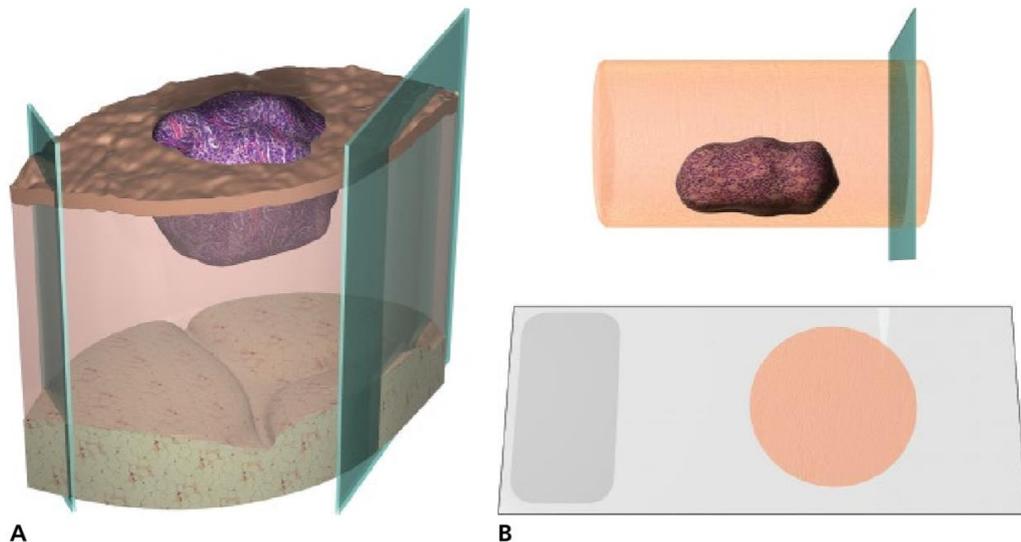


Figura 4. Margem paralela. (A) Corte realizado paralelo a incisão do cirurgião. Adaptado de STROMBERG e MEUTEN, 2017.

### 3.4.3. Técnica de Mohs

A cirurgia micrográfica de Mohs (MMS) é o padrão-ouro para a excisão cutânea localmente invasiva malignidades em cirurgia dermatológica humana. Um estudo realizado por Bernstein *et al.* (2006) explorou a viabilidade da aplicação da MMS no contexto veterinário e comprovou sua possibilidade, porém com algumas limitações. Usando uma técnica de seccionamento horizontal única, a MMS permite uma avaliação 100% da margem cirúrgica (Figura 5) (BERNSTEIN *et al.*, 2006).

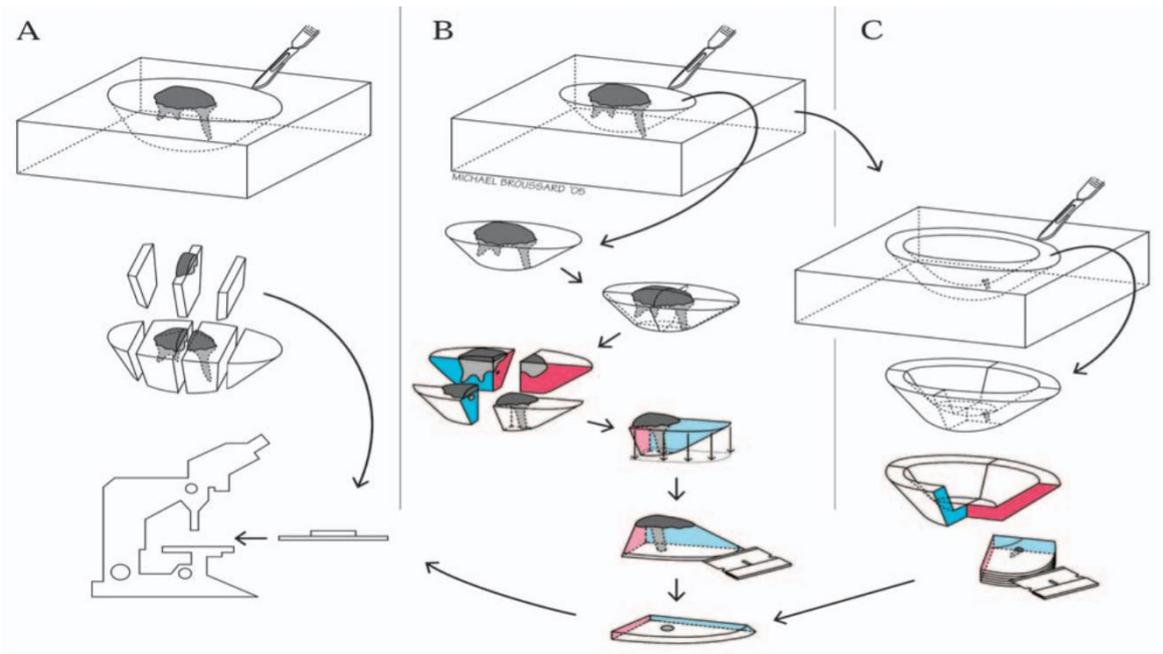


Figura 5. (A) Margem perpendicular, método *bread loafing*. Pode facilmente não incluir extensões invasivas do tumor. (B) No método MMS, o tecido é dividido, e margens clivadas são coradas. As margens periféricas são postas no mesmo plano que a margem profunda com o objetivo de obter secções horizontais, incorporando por completo a margem cirúrgica na avaliação. (C) Tecido adicional retirado da ferida cirúrgica pode ser orientado da mesma forma. Adaptado de BERNSTEIN *et al.*, 2006.

### 3.5. Avaliação da margem

Sempre que houverem células neoplásicas na área corada, uma ressecção incompleta foi realizada. Margens laterais, profundas e superficiais devem ser avaliadas quanto à presença de células neoplásicas. Se as margens estiverem livres, recomenda-se atribuir uma distância em milímetros do tumor à menor margem. Se houver margens comprometidas, estas devem ser identificadas e o tipo de imperfeição deve ser atribuído (presença de células isoladas ou continuidade da lesão) (CASSALI *et al.*, 2014).

#### 4. CONCLUSÃO

O manejo ideal do paciente veterinário com câncer requer uma abordagem unificada, interdisciplinar e altamente comunicativa entre clínicos, oncologistas e patologistas. A escolha do tratamento do paciente é direcionada pelo diagnóstico e informações fornecidas no resultado do exame histopatológico. Resultados precisos, completos e confiáveis dependem da recepção de espécimes excelentes, informações completas e clivagem apropriada.

O exame histopatológico além de facilitar a classificação permite avaliar: infiltração da pele, tecidos moles e vasos periféricos, detalhes histopatológicos do tumor e margem cirúrgica.

A criação de um protocolo sobre como cada amostra de biópsia do tumor deve ser manejada para avaliação das margens é impossível porque cada amostra é única. O tamanho da amostra, a área da margem geral, o tipo de tumor e possíveis restrições financeiras do tutor devem ser considerados. A avaliação da margem ajudará o oncologista a decidir qual plano de tratamento é ideal para o animal e seu tutor. O princípio da avaliação de margens afirma que, para avaliar adequadamente a integridade da ressecção, deve-se examinar 100% da margem. No entanto, isso é impraticável e senso comum combinado com alguns princípios determinará quantas seções precisam ser clivadas e analisadas.

A margem cirúrgica pode ser definida e relatada de várias maneiras. O objetivo é fornecer aos clínicos as informações necessárias para decidir, se necessário, quais tratamentos adicionais serão recomendados.

## 5. REFERÊNCIAS

Alenza MDP, Peña L, Del Castillo N, Nieto AI. **Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumors.** *Journal of Small Animal Practice*, v. 41, p. 287-291, 2000.

Alenza MDP, Rutteman GR, Peña L, Beynen AC, Cuesta P. **Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study.** *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 12, p. 132-139, 1998.

Bernstein JA, Hodgins EC, Holloway HW, Hedlund CS, Storey ES, Hubert JD. **Mohs micrographic surgery: a technique for total margin assessment in veterinary cutaneous oncologic surgery.** *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 4, p. 151–160, 2006.

Bianchi SP, Gomes C, Pavarini SP, Mombach VS, Santos FR, Vieira LC, Oliveira LO, Contesini EA. **Linfonodo axilar como sentinela de neoplasia mamária em cadelas.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, p. 692-695, 2018.

Brønden LD, Nielsen SS, Toft N, Kristensen AT. **Data from the Danish Veterinary Cancer Registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark.** *Veterinary Record*, v. 166, p. 586-590, 2010.

Cassali GD *et al.* **Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors - 2013.** *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v. 7(2), p. 38-69, 2014.

Cassali GD, Bertagnolli AC, Lavallo GE, Tavares WLF, Ferreira E, Silva AE, Campos CB. **Perspectives for diagnosis, prognosis and treatment of mammary neoplasias in dogs.** *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*. São Paulo, 2009.

De Nardi AB, Ferreira TMMR, Assunção KA. **Neoplasias Mamárias.** In: Daleck CR, De Nardi AB. *Oncologia Em Cães e Gatos*. Segunda Edição. Rio de Janeiro: Roca, p. 499-516, 2016.

Dorn CR, Taylor DON, Schneider R, Hibbard HH, and Klauber MR. **Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in**

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

Egenvall A, Bonnett BN, Ohagen P. **Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002.** Preventive Veterinary Medicine, v. 69, p. 109-127, 2005.

Elston CW, Ellis IO. **Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.** Histopathology, v. 19, p. 403-410, 1991.

Fossum TW. **Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital.** In: Fossum TW. Cirurgia de Pequenos Animais. Quarta Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 780-855, 2014.

Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. **Classification and Grading of Canine Mammary Tumors.** Veterinary Pathology, v. 48, p. 117-131, 2011.

Hampe JF, Misdorp W. **Tumours and dysplasias of the mammary gland.** Bulletin of the World Health Organization, v. 50, p. 111-133, 1974.

Kamstock DA *et al.* **Recommended Guidelines for Submission, Trimming, Margin Evaluation, and Reporting of Tumor Biopsy Specimens in Veterinary Surgical Pathology.** Veterinary Pathology, v. 48, p. 19-31, 2011.

McGill LD, Blue J, Powers B. **Commentary: Report of the ad hoc Committee on Oncology to the ACVP Membership and Interested Pathology Community.** Veterinary Pathology, v. 39, p. 525-528, 2002.

Moe L. **Population-based incidence of mammary tumors in some dog breeds.** Journal of Reproduction and Fertility, v. 57, p. 439-443, 2001.

Morris J, Dobson J. **Glândula Mamária.** In: Morris J, Dobson J. Oncologia em Pequenos Animais. Primeira Edição. São Paulo: Roca, p. 185-192, 2007.

Owen LN. **TNM Classification of tumors in domestic animals.** Ed. Geneva: World Health Organization, 1980.

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, 2015.

Schneider R., Dorn CR., Taylor DON. **Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival.** Journal of the National Cancer Institute, v. 43, p. 1249-1261, 1969.

Sorenmo KU. **Canine mammary gland tumors.** Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v. 33, p. 573-596, 2003.

Sorenmo KU, Kristiansen VM, Cofone MA, Shofer FS, Breen AM, Langeland M, Mongil CM, Grondahl AM, Teige J, Goldschmidt MH. **Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence.** Veterinary and Comparative Oncology, v. 7, p. 162-172, 2009.

Sorenmo KU, Worley DR, Goldschmidt MH. **Tumors of the Mammary Gland.** In: Withrow SJ, Macewen EG. Small Animal Clinical Oncology. Quinta Edição. Saint Louis: Saunders Elsevier, p. 538-547, 2013.

Stromberg PC, Meuten DJ. **Trimming Tumors for Diagnosis and Prognosis.** In: Meuten DJ. Tumors in Domestic Animals. Quinta Edição. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc., p. 27-43, 2017.