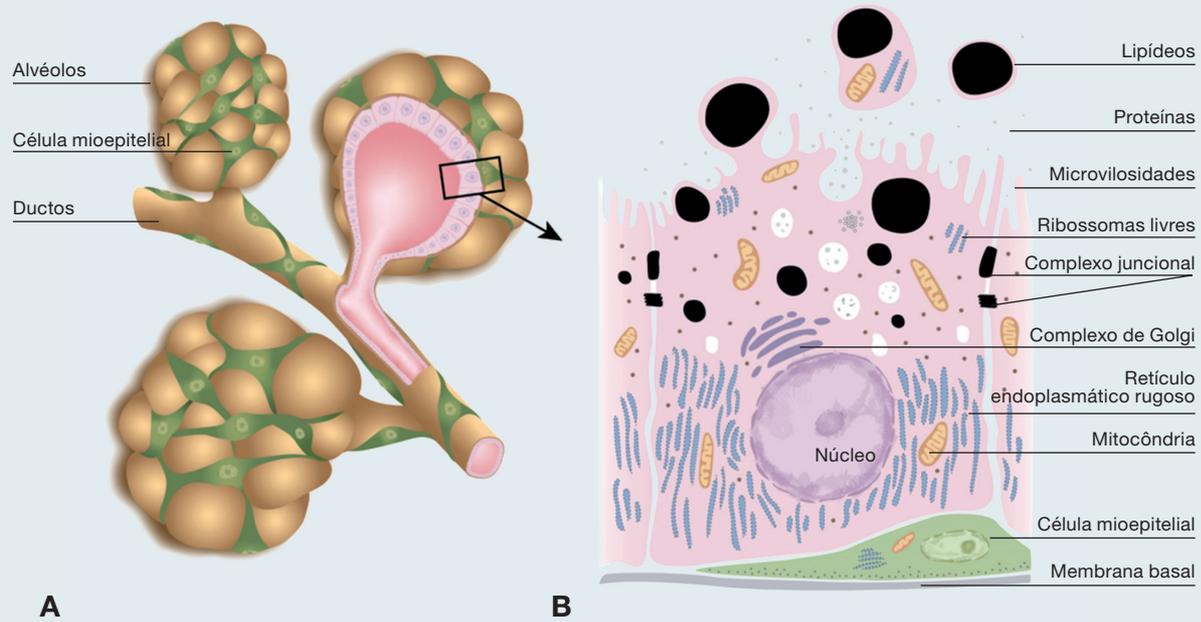


## ANEXO 4.1



**GLÂNDULA MAMÁRIA.** A. Estrutura do alvéolo mamário mostrando epitélio secretor circundado por células mioepiteliais. B. Detalhe das células epitelial, mioepitelial e membrana basal.

recomenda-se a sua utilização, sempre que possível. Superfícies ulceradas e o centro dos tumores devem ser evitados durante a coleta; pois, comumente, apresentam restos celulares necróticos, células inflamatórias e displásicas contribuindo sobremaneira para falsos resultados. Tumores císticos também podem apresentar amostras hipocelulares ou com células degeneradas, devendo ser evitadas essas áreas.

O material necessário inclui seringas de 10 mL, agulhas hipodérmicas de 30 × 0,70 mm (22 G), ou ainda, 20 × 0,55 mm (24 G) para massas muito hemorrágicas, lâminas de vidro com extremidade fosca, porta-lâminas e uma superfície plana. O procedimento envolve a tricotomia e antisepsia local com álcool a 70% ou outro antisséptico, delimitação dos quadrantes e punção.

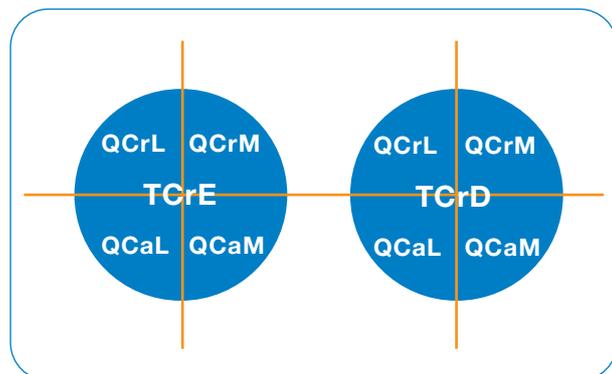
Normalmente, a *punção por capilaridade* (não aspirativa) é a mais utilizada. A punção aspirativa é reservada aos casos nos quais há produção de matriz condroide ou osteoide, perceptível à palpação como áreas de consistência mais firme a pétreia (Fig. 4.4). Normalmente, ao puncionar as referidas áreas, o operador sentirá a agulha ranger no tecido, além de resistência à punção. Independentemente da técnica escolhida, aspirativa ou não aspirativa, o operador, uma vez no cerne do tumor ou quadrante, deverá executar movimentos rítmicos em leque no intuito de aumentar a representatividade local. É importante lembrar que, durante a execução dos movimentos em leque, o êmbolo da seringa deverá ser mantido tracionado para que ocorra a aspiração. A punção não deve durar tempo superior a dez segundos, sob pena de hemodiluição e/ou coagulação da amostra no canhão da agulha e, por conseguinte, necessidade de nova coleta.



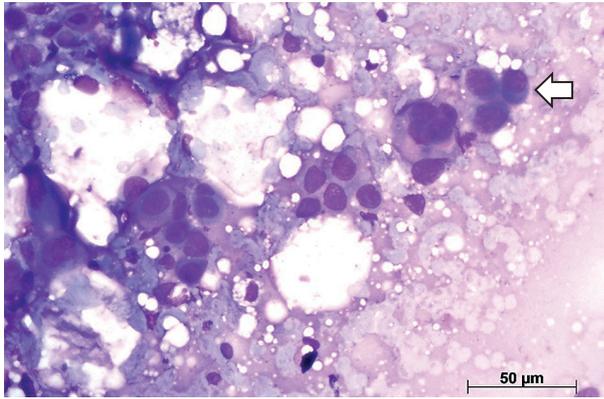
**FIGURA 4.1.** Coleta de amostra para exame citopatológico pela técnica de punção aspirativa por agulha fina (PAAF). (Fonte: Dra. Camila Neri Barra.)



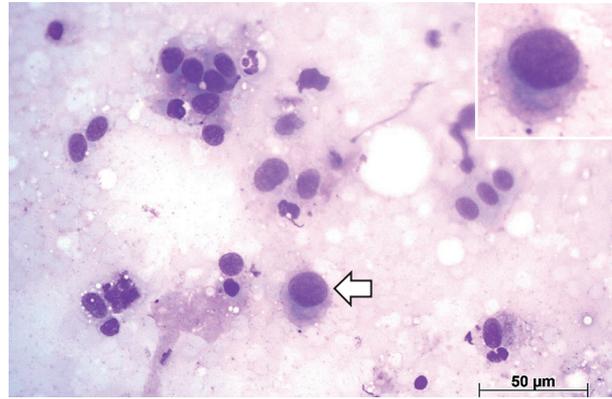
**FIGURA 4.2.** Coleta de amostra para exame citopatológico pela técnica de punção por agulha fina ou capilaridade (PAF). (Fonte: Dra. Camila Neri Barra.)



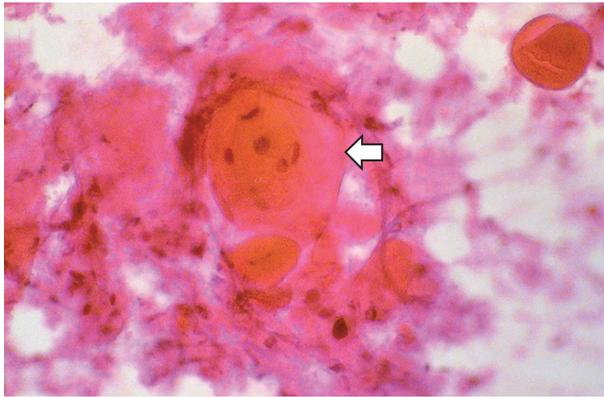
**FIGURA 4.3.** Esquema demonstrando a divisão dos tumores em quadrantes. A divisão garante maior representatividade da amostra. QCrL: quadrante cranial lateral; QCrM: quadrante cranial medial; QCaL: quadrante caudal lateral; QCaM: quadrante caudal medial; TCrE: mama torácica cranial esquerda; TCrD: mama torácica cranial direita.



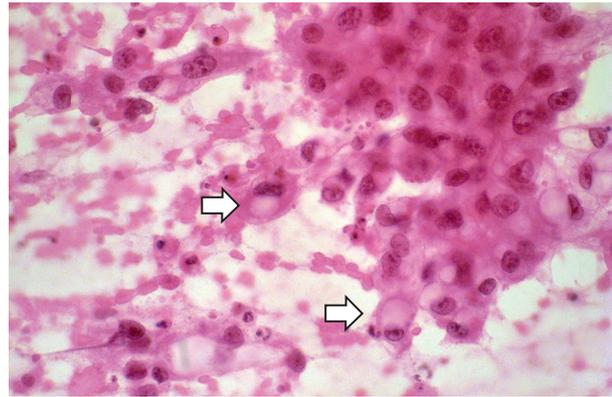
**FIGURA 4.38.** Carcinoma lobular pleomórfico invasor. Grupos coesos de células grandes e arredondadas similares a plasmócitos (*seta branca*). Giemsa. (Fonte: Breno Souza Salgado.)



**FIGURA 4.39.** Carcinoma lobular pleomórfico invasor. Células plasmocitoides similares a *flame cells* (*setas brancas* e *inserção*). Giemsa. (Fonte: Breno Souza Salgado.)

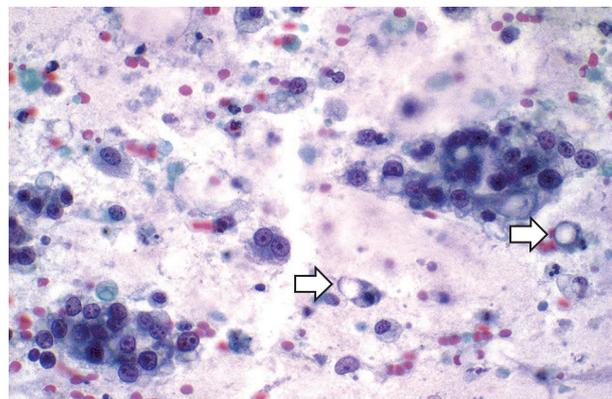


**FIGURA 4.40.** Carcinoma de células escamosas primário da mama, confirmado por análise histopatológica. Pérolas córneas são visíveis no campo (*seta branca*). Hematoxilina e eosina (H/E). (Fonte: Giovanni Dantas Cassali.)

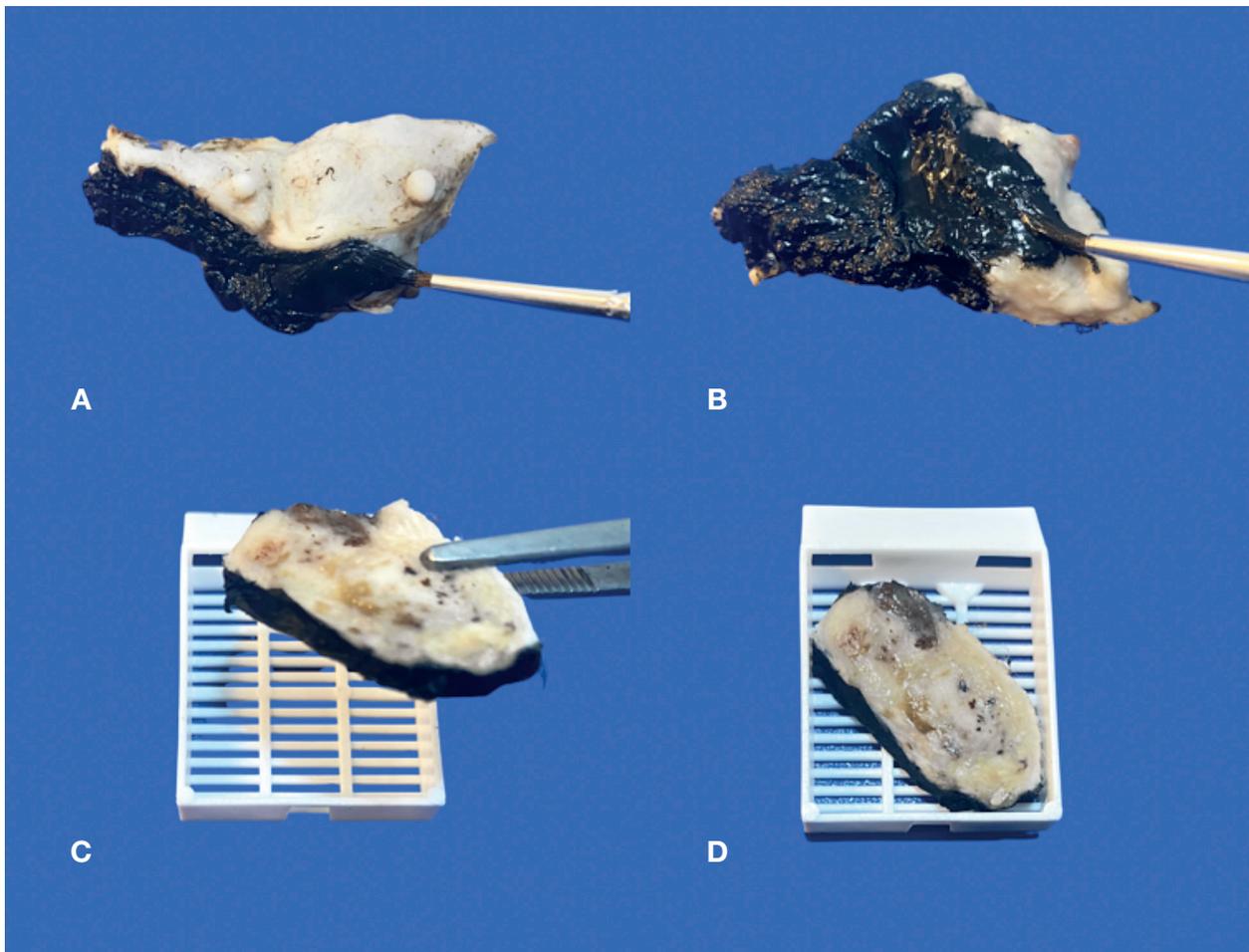


**FIGURA 4.41.** Carcinoma secretor. Células em anel de sinete são observadas (*setas brancas*). Hematoxilina e eosina (H/E). (Fonte: Giovanni Dantas Cassali.)

tos por células epiteliais dispostas em grupos trabeculares com ramificações ou individualizadas e arredondadas. Os núcleos apresentam cromatina irregular e um ou mais nucléolos. O citoplasma é abundante e claro com numerosos vacúolos grandes que deslocam o núcleo periféricamente, assumindo às vezes a forma de anel de sinete (Figs. 4.41 e 4.42). É importante distingui-los de carcinomas ricos em lipídeos, ricos em glicogênio e mucinoso. A imunomarcagem citoplasmática por alfa-lactoalbumina permite também a diferenciação.



**FIGURA 4.42.** Carcinoma secretor. Células em anel de sinete são observadas (*setas brancas*). Papanicolaou, 400x. (Fonte: Giovanni Dantas Cassali.)



**FIGURA 5.2.** A e B. Espécime cirúrgico de mama de cadela com margens sendo pintadas com tinta nanquim. C e D. Espécime cirúrgico de mama de cadela com margens pintadas com tinta nanquim, alojado em cassete histológico para processamento.

possível visualizar a distância das células neoplásicas da margem pintada, que pode ser preservada (Fig. 5.3), exígua (Fig. 5.4) ou comprometida (Fig. 5.5), neste último caso, as células neoplásicas estão em contato com a tinta.

### Número de cortes representativos

Para determinar o número de cortes/fragmentos representativos, deve ser considerado o diâmetro do tumor:

- **Tumores medindo menos de 3 cm.** Retirar no mínimo *um* fragmento representativo da

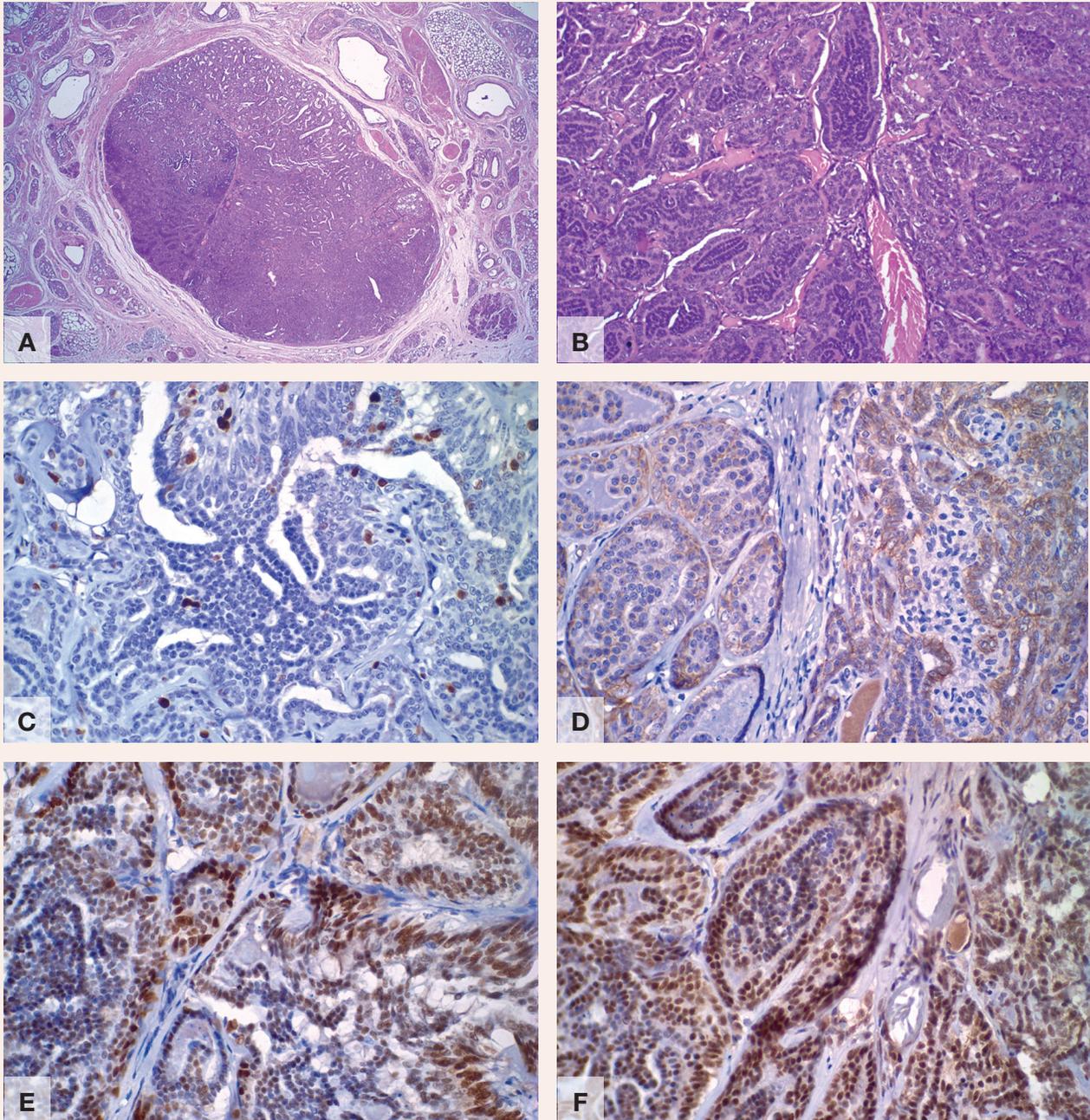
massa tumoral/nódulo, se nele abranger margens laterais e profunda.

- **Tumores medindo entre 3 e 5 cm.** Retirar no mínimo três fragmentos representativos da massa tumoral/nódulo.

- **Tumores com mais de 5 cm.** Retirar no mínimo cinco fragmentos representativos da massa tumoral/nódulo.

Os fragmentos retirados devem medir aproximadamente 1,5 × 1,5 cm sendo excluídas as áreas de necrose.

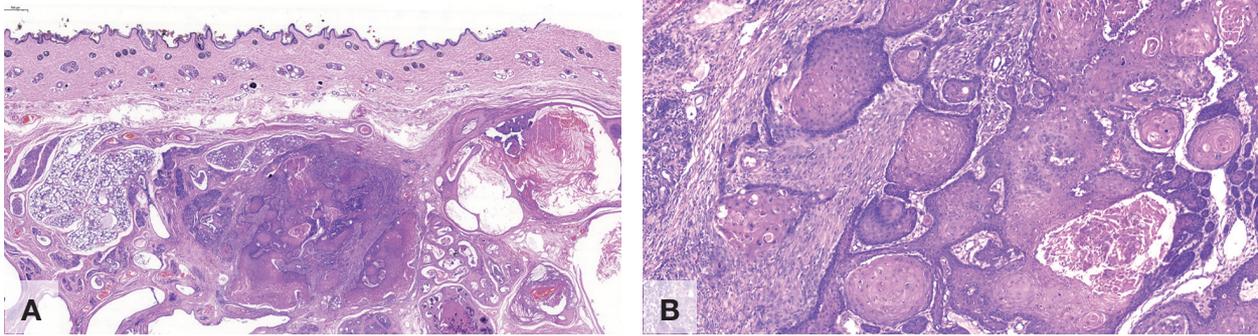
## CASO



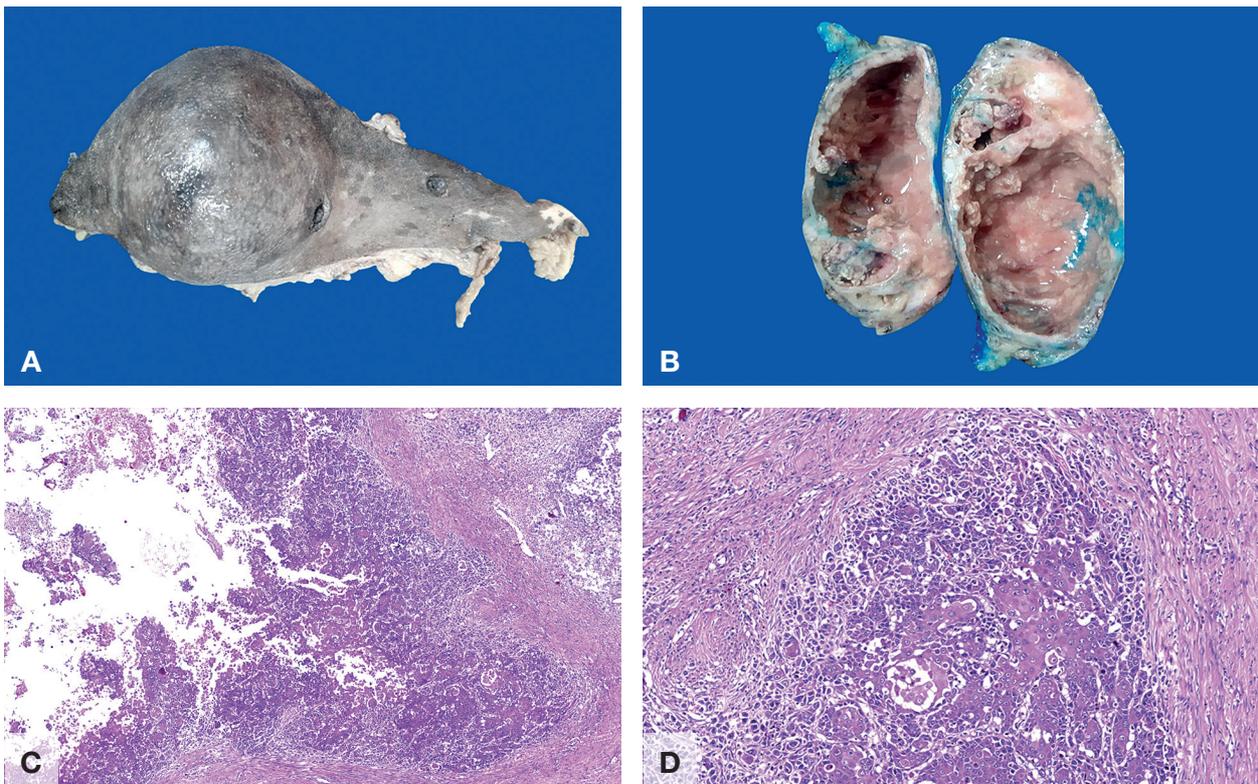
**NÓDULO MAMÁRIO DE CADELA.** **A.** Lóbulo aumentado de volume pela proliferação de ácinos e ductos terminais (H/E). **B.** Observa-se proliferação epitelial preenchendo ácinos e ductos terminais, com dois padrões celulares: células colunares sem atipias na parte externa, voltadas para o estroma e células cuboides atípicas, monomórficas, com núcleos hipercondensados, formando pontes celulares na parte interna dos ácinos e ductos (hematoxilina/eosina – H/E). **C.** Há baixa marcação para Ki-67. **D.** Perda da expressão de E-caderina nas células cuboides das áreas atípicas e expressão da proteína nas células colunares. **E.** As células colunares expressam RE e RP. **F.** As células cuboides atípicas são negativas para estes dois marcadores

rato-hialina). Comumente, as células apresentam citoplasma amplo, eosinofílico, núcleos com acentuado pleomorfismo e alta atividade mitótica (Fig 9.77 a 9.79). CCE mamá-

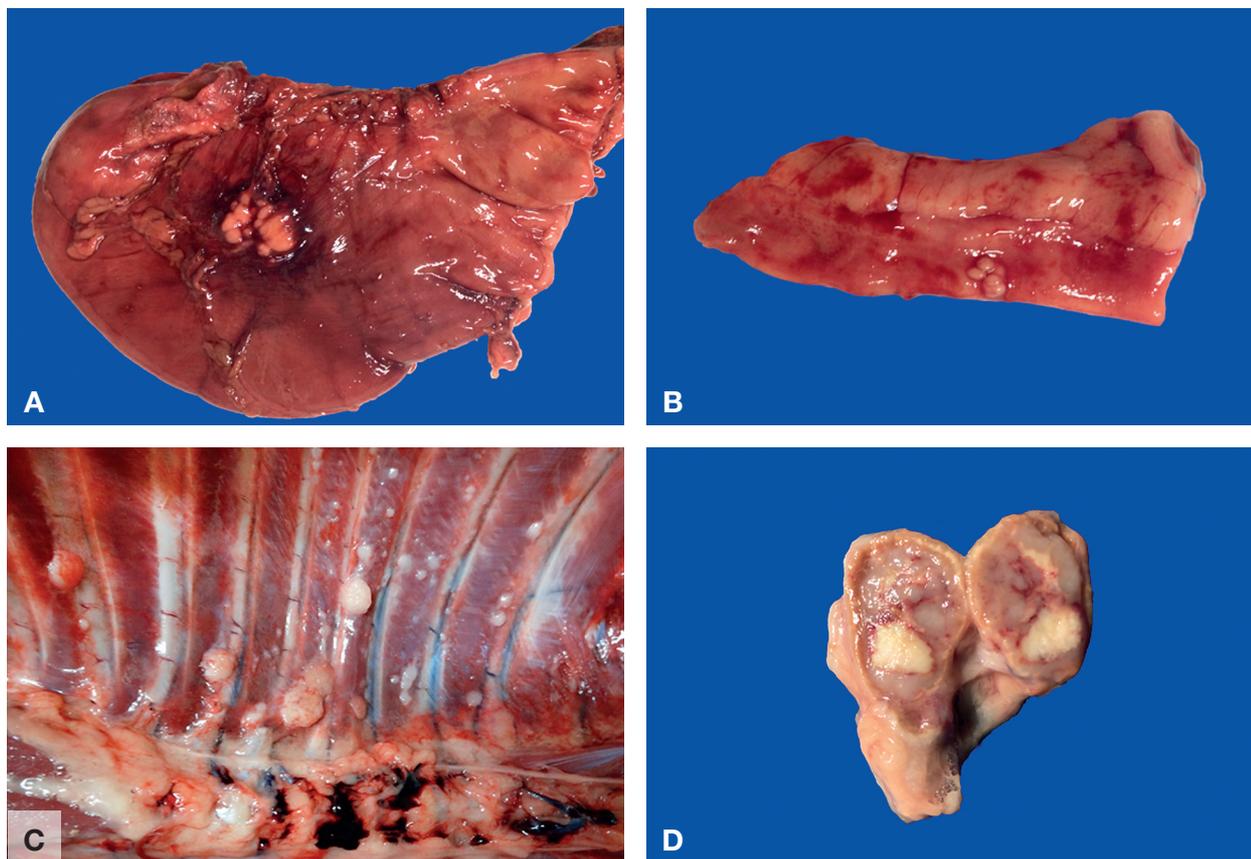
rios são neoplasias acentuadamente infiltrativas e focos de invasão linfática/formação de êmbolos vasculares são comumente evidenciados.



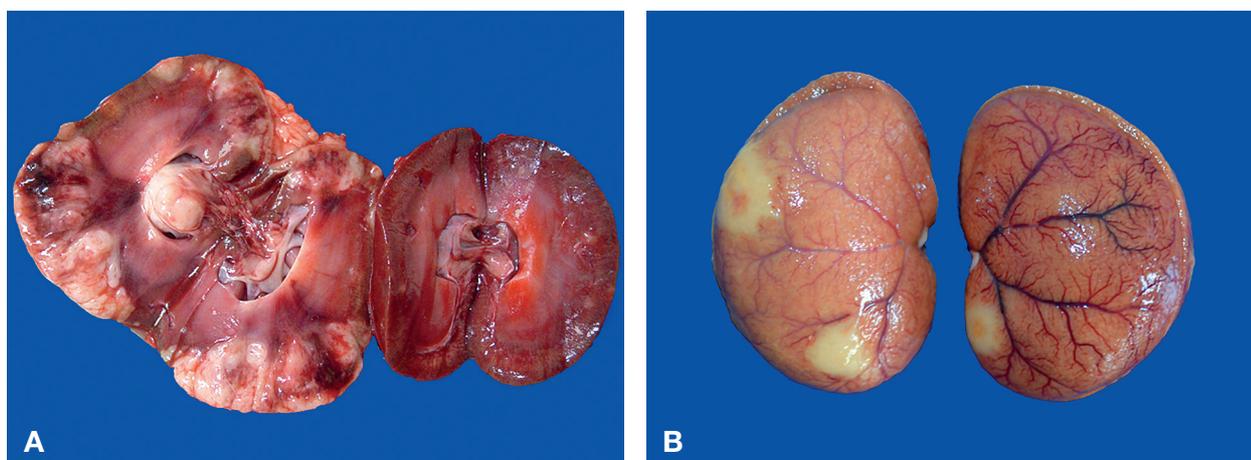
**FIGURA 9.77.** Carcinoma de células escamosas da mama da cadela. **A.** Proliferação neoplásica epitelial em glândula mamária, sem contato ou continuidade com a epiderme. **B.** Células epiteliais escamosas formando ninhos e trabéculas, com focos de queratinização.



**FIGURA 9.78** Carcinoma de células escamosas da mama da cadela. **A.** Nódulo mamário recoberto com pele íntegra. **B.** Superfície de corte do nódulo demonstrando área cística contendo grumos de material de coloração branca. **C.** Proliferação neoplásica na periferia com área central cística, contendo restos celulares e queratina. **D.** Células epiteliais malignas proliferadas, com queratinização evidente.



**FIGURA 10.18.** Canino. **A.** Estômago com metástase de carcinoma com arranjo sólido da glândula mamária. Nódulo focal esbranquiçado em parede gástrica. **B.** Intestino com metástase de carcinoma com arranjo sólido da glândula mamária. Nódulo focal esbranquiçado em parede intestinal. **C.** Pleura/musculatura costal com metástase de carcinoma micropapilar glândula mamária. Nódulos multifocais esbranquiçados em musculatura intercostal. **D.** Adrenal com metástase de carcinoma cribriforme da glândula mamária. Nódulo focal brancacento em região medular da glândula adrenal. (Cortesia do Setor de Patologia Veterinária - UFLA.)

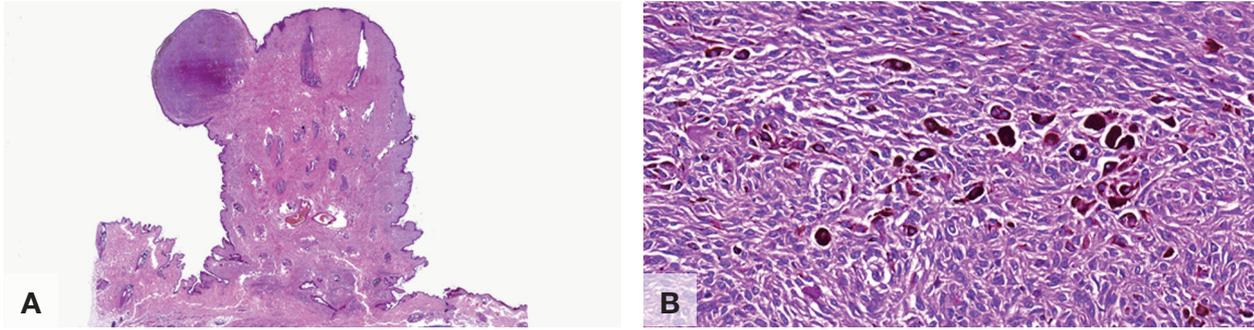


**FIGURA 10.19.** **A.** Canino. Rim (à esquerda) com metástase de carcinoma em tumor misto da glândula mamária. Nódulos multifocais a coalescentes esbranquiçados. **B.** Felino. Rins com metástase de carcinoma com arranjo sólido da glândula mamária. Nódulos multifocais amarelados. (Cortesia do Setor de Patologia Veterinária - UFLA.)

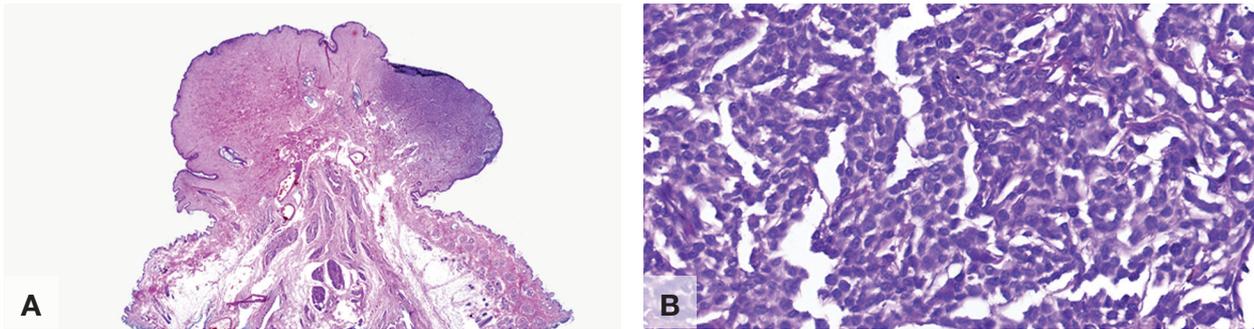
## OUTRAS NEOPLASIAS CUTÂNEAS

Além das neoplasias acima descritas, qualquer outra que acometa a pele pode ocasionalmente se desenvolver na pele da papila mamária.

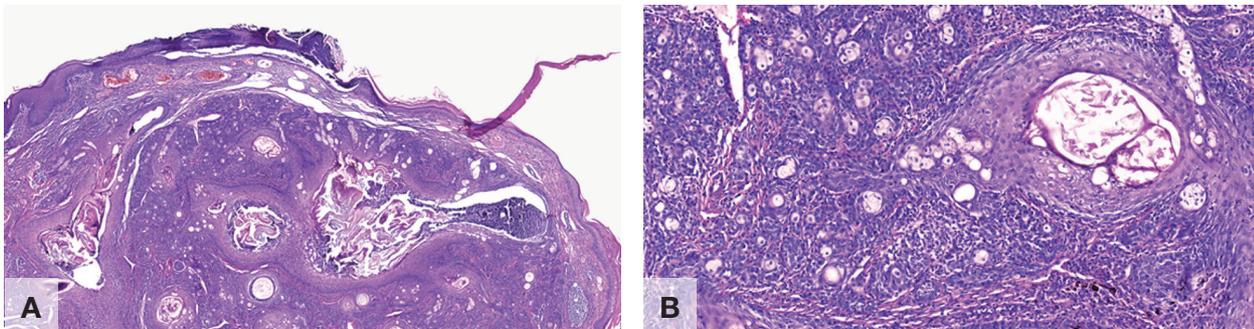
Como exemplos podemos citar o *melanoma* (Fig. 13.17), *mastocitoma*, *histiocitoma* (Fig. 13.18), *adenoma* e *epitelioma sebáceo* (Fig. 13.19).



**FIGURA 13.17.** Melanoma em papila mamária de cadela. Histopatologia. **A.** Papila mamária em menor aumento exibindo proliferação neoplásica em epiderme com crescimento exófitico e circular. **B.** Proliferação neoplásica de células fusiformes arranjadas em feixes, por vezes exibindo citoplasma com pigmento marrom-escuro (melanina).

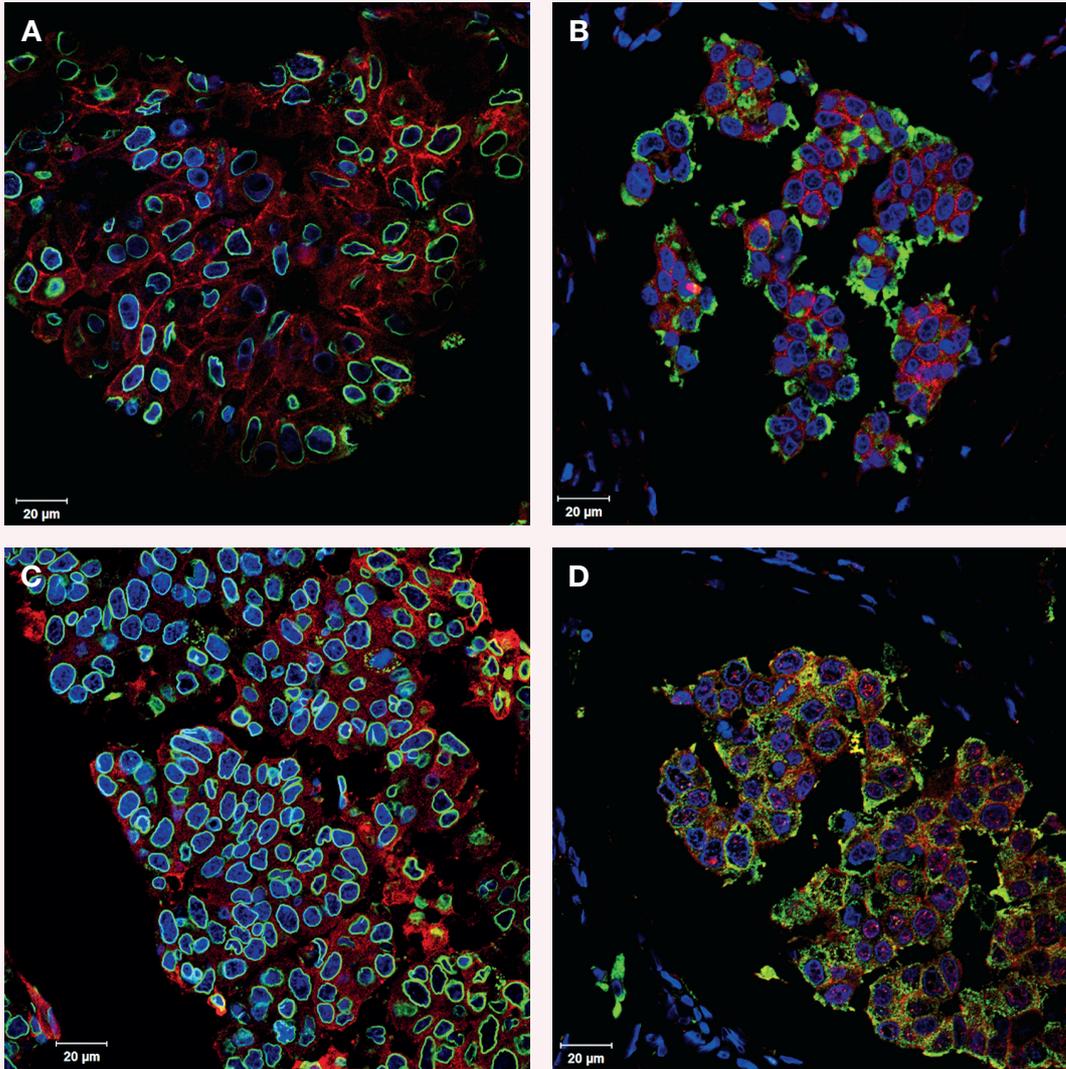


**FIGURA 13.18** Histiocitoma em papila mamária de cadela. Histopatologia. **A.** Papila mamária em menor aumento exibindo proliferação neoplásica em epiderme com crescimento exófitico e ovalado. **B.** Proliferação neoplásica de células histiocíticas redondas organizadas em cordões. (Cortesia de Dra. Camila Costa Abreu.)



**FIGURA 13.19.** Epitelioma sebáceo em papila mamária de cadela. Histopatologia. **A.** Papila mamária em menor aumento exibindo proliferação neoplásica em derme. **B.** Proliferação neoplásica de células de reserva arranjadas em grupos ao redor de sebócitos maduros.

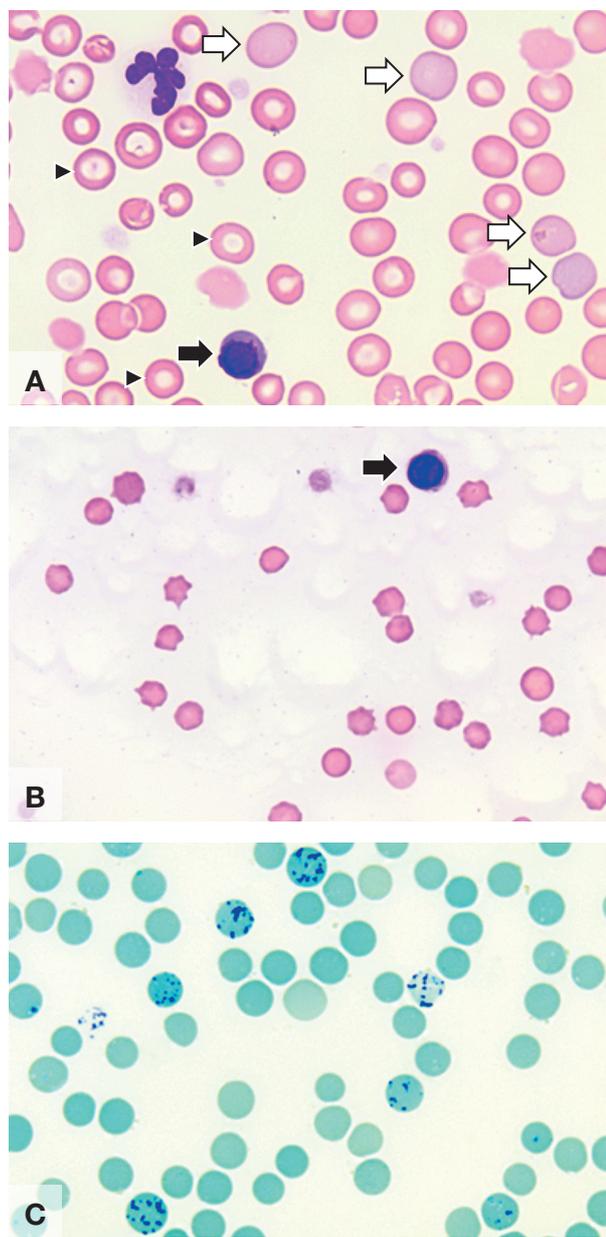
## ANEXO 15.1



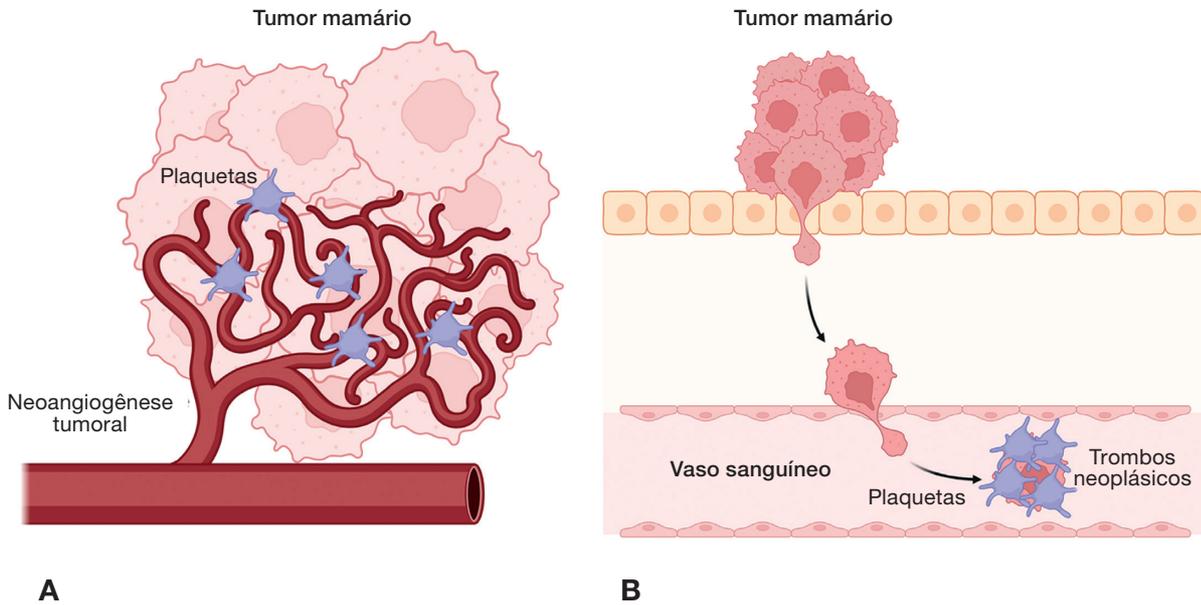
**LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA FAMÍLIA DE RECEPTORES DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO (HER) EM CARCINOMA MICROPAPILAR INVASIVO EM CADELA (CMI).** Imagens de imunofluorescência por microscopia confocal mostram a localização subcelular do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (A), HER-2 (B), HER-3 (C) e HER-4 (D) em vermelho nas lesões de CMI da glândula mamária canina; em verde, o marcador para envelope nuclear lâmina-B1 e, em azul, a marcação para núcleo com a sonda nuclear Hoechst. Escala de tamanho = 20 µm.

com esferócitos e células jovens na circulação periférica. Alguns trabalhos sobre câncer de mama, em mulheres, descrevem a melhora da condição após tratamento cirúrgico para remoção neoplásica e, em casos inoperáveis, a instituição da terapia imunossupressora pode ser necessária. Também tendo como base a hemólise, a anemia hemolítica microangiopática é decorrente de alterações morfológicas nos eritrócitos quando estes passam por uma vasculatura anormal, como geralmente se observam nos vasos neoformados do tumor, predispondo à observação de quadros anêmicos no paciente pela destruição eritrocitária.

Entretanto, o tipo de anemia mais frequentemente descrita em cães e gatos com tumores de mama é a anemia decorrente da *inflamação*. Estudos apontam uma maior prevalência dessa anemia em estadiamentos mais avançados e nos carcinomas inflamatórios, sendo identificada em cerca de 25 a 36,8% dos casos de câncer de mama, em cadelas. Essa anemia ocorre devido ao metabolismo e armazenamento desordenado do ferro e diminuição da resposta da medula óssea. Fisiologicamente, a maior parte do ferro é obtido por meio da dieta e absorvido nos enterócitos para que fique armazenado na célula ou seja transportado para a circulação sanguínea, pela ferroportina-1, transportador de ferro localizado na membrana dos enterócitos. O regulador negativo da absorção intestinal de ferro é a hepcidina, responsável por controlar o excesso de ferro no sangue ao se ligar e bloquear a ação da ferroportina-1. A principal fonte de ferro para a eritropoiese advém de monócitos e macrófagos, os quais armazenam o ferro reciclado de eritrócitos senescentes após a hemocaterese. Em estados de inflamação crônica ou no câncer, o excesso de interleucina-6 (IL-6) estimula a liberação de hepcidina, impedindo a absorção sanguínea do ferro nos enterócitos



**FIGURA 20.1.** Características de anemia regenerativa. **A.** Esfregaço sanguíneo de cão evidenciando anisocitose, presença de policromatófilos (*seta branca*) e eritoblasto policromático (*seta preta*). Observam-se também neutrófilo hipersegmentado, hipocromasia (*ponta de seta*) e alguns codócitos, sugestivos de deficiência de ferro. Coloração May-Grünwald/Giemsa (1.000×, imersão em óleo). **B.** Esfregaço sanguíneo de gato evidenciando discreta anisocitose e presença de eritoblasto policromático (*seta preta*). Coloração May-Grünwald/Giemsa (1.000×, imersão em óleo). **C.** Presença de reticulócitos em esfregaço sanguíneo de cão, confirmando anemia regenerativa. Coloração Azul de Cresil Brillhante (1.000×, imersão em óleo). (Imagens cedidas por Lessie Análises Veterinárias).



**FIGURA 20.5.** Interação de plaquetas nas neoplasias mamárias. **A.** As plaquetas associadas ao tumor estimulam a neoangiogênese de vasos tortuosos no interior da massa tumoral e os estabilizam. **B.** As plaquetas associadas ao tumor também permitem a formação de trombos neoplásicos, juntamente com a ativação do fibrinogênio, para facilitar o processo de invasão vascular e impedir o reconhecimento das células neoplásicas pelo sistema imunológico. Criada com BioRender.com.

estando presente em cerca de 38% dos casos de neoplasias mamárias e como um potencial fator prognóstico. Como mencionado anteriormente, o aumento na produção de plaquetas pelos megacariócitos em decorrência da produção de fatores de crescimento e também pela formação dos êmbolos metastáticos favorecem a trombocitose nesses pacientes.

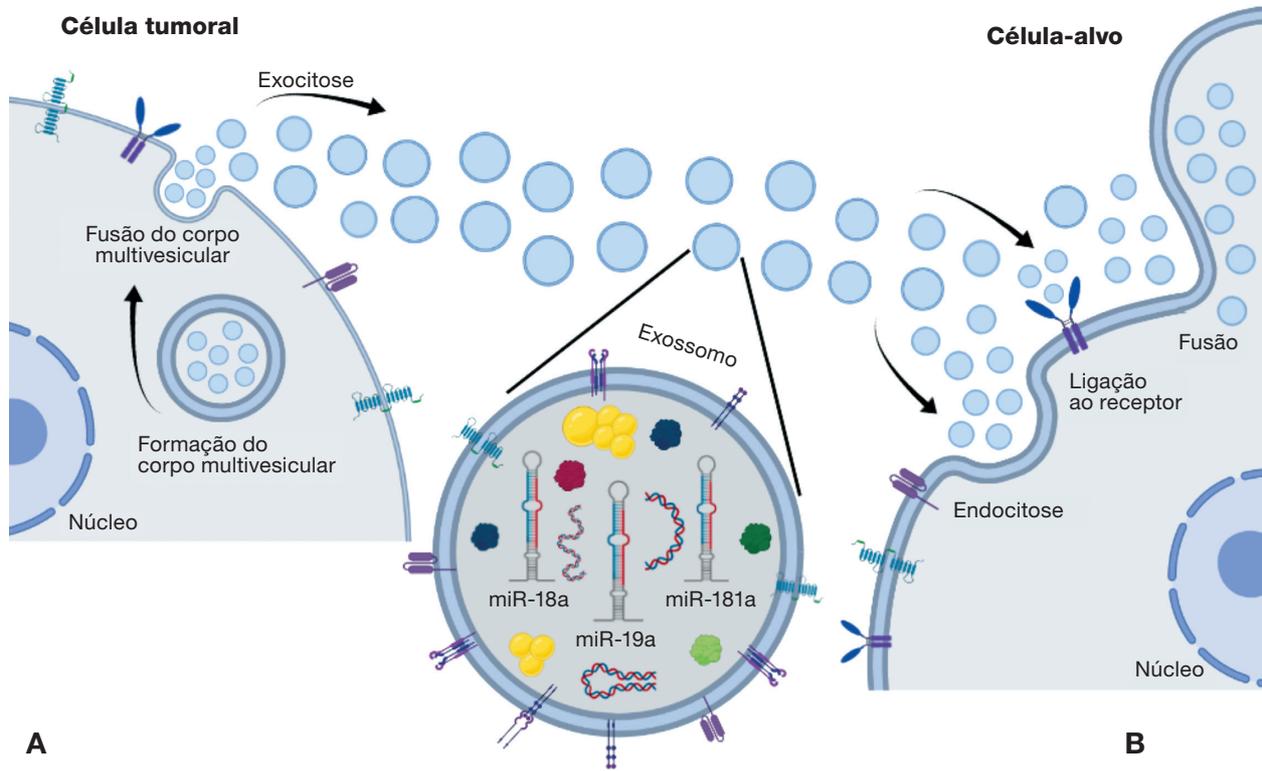
No entanto, distúrbios na diminuição de plaquetas periféricas, chamados de trombocitopenias, também são relativamente comuns em cadelas e gatas com tumores mamários. Esta prevalência pode se dar em virtude de micro-hemorragias tumorais, metástase em medula óssea ou por fármacos quimioterápicos que cursam com destruição dos precursores medulares, assim como a coagulação intravascular disseminada (CIVD) (Fig. 20.6). Por essa razão, uma abordagem individualizada do paciente,

considerando os parâmetros clinicopatológicos de cada caso, fornecerá recursos importantes para a interpretação dos resultados laboratoriais e uma abordagem mais assertiva.

### Alterações bioquímicas séricas

#### *Hipercalcemia*

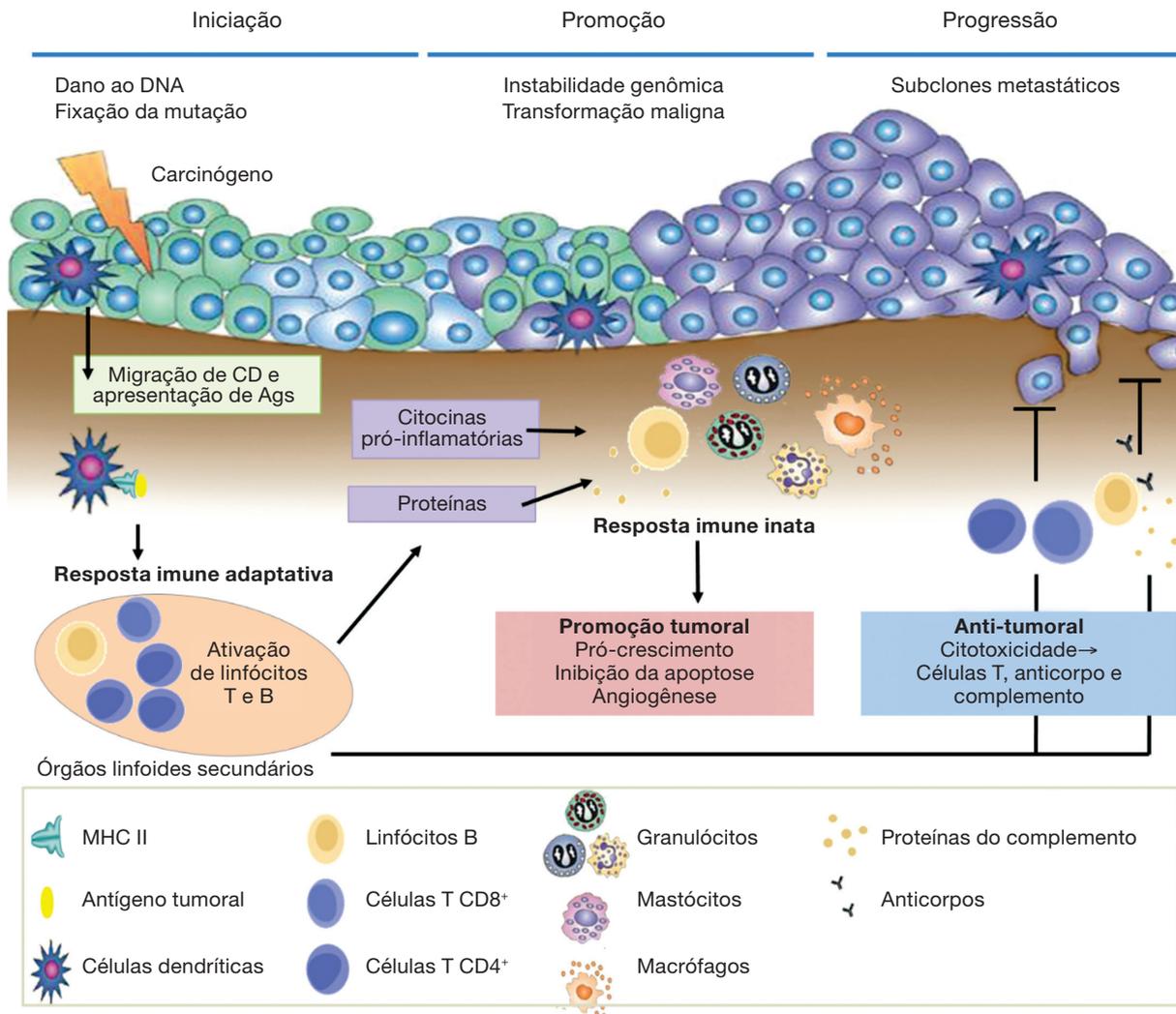
A *hipercalcemia* é uma alteração relativamente frequente na oncologia de pequenos animais e a causa mais comum em cães envolve o desenvolvimento do câncer, estando presente em cerca de 35% dos pacientes caninos com carcinomas da glândula mamária. Neoplasias são diagnosticadas em aproximadamente dois terços dos cães com hipercalcemia e aproximadamente um terço dos gatos. As causas são várias, e incluem produção ectópica de paratormônio (PTH) pelo tumor, extensa metástase óssea lítica, hiperparatireoidismo primário,



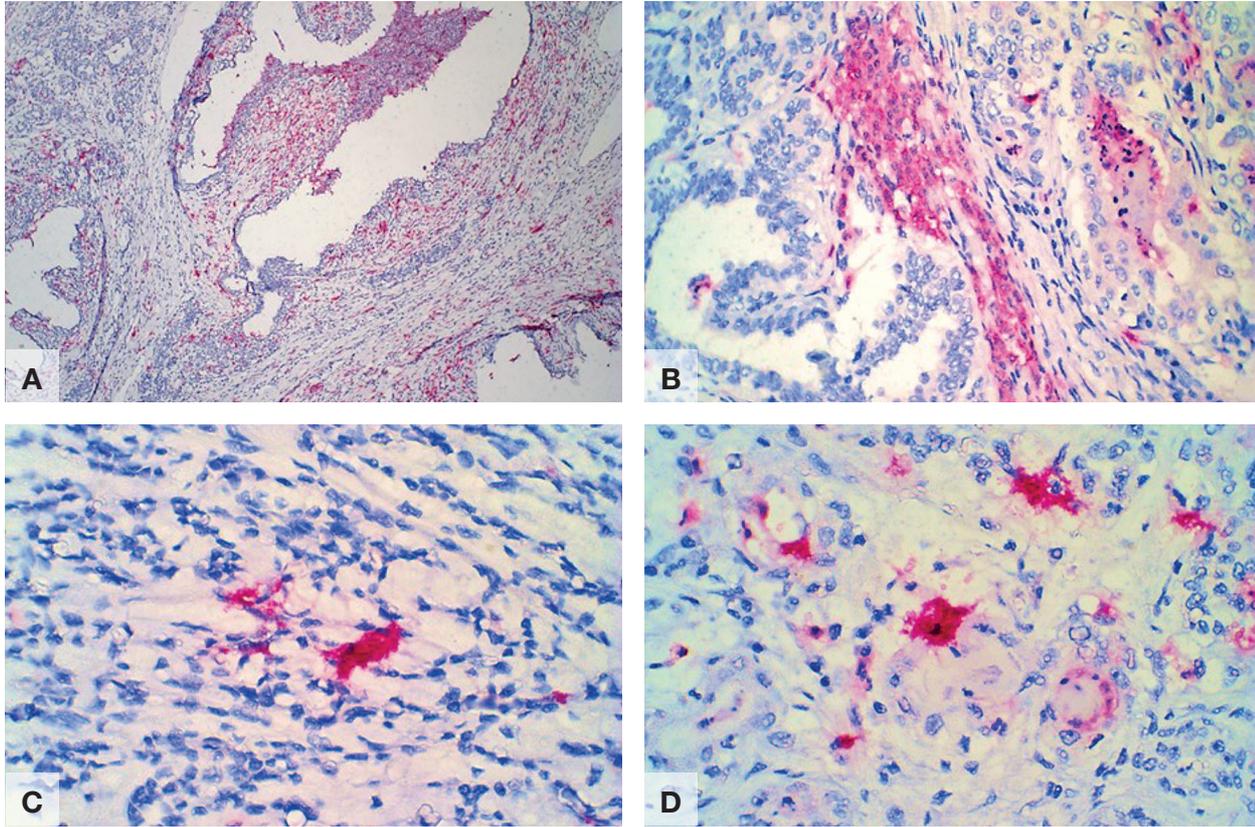
**FIGURA 21.2.** **A.** Na célula tumoral, a bicamada lipídica se invagina para formar várias vesículas intraluminais. Este complexo endossômico, contendo essas vesículas, é denominado corpo multivesicular. Os corpos multivesiculares se ligam à membrana plasmática e liberam as vesículas intraluminais no ambiente extracelular por meio de exocitose. A partir desse momento, essas vesículas são denominadas exossomos. **B.** Os exossomos podem ser absorvidos pela célula-alvo ou célula receptora por meio de diferentes mecanismos: fusão com a membrana plasmática, internalização por endocitose e ligação aos receptores da superfície celular. Os exossomos contêm vários marcadores de superfície, lipídeos, proteínas, RNAs (mRNA, miRNA, lncRNA e outras espécies de RNA) e DNAs (mtDNA, ssDNA, dsDNA). Na medicina veterinária, está descrita, até o momento, a participação de miRNAs miR-18a, miR-19a e miR-181a no câncer de mama canino (criada com BioRender.com).

imunes, constituídas de diferentes proporções de linfócitos T, linfócitos B, células NK, macrófagos e, em menor proporção, por plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos. Aparentemente, o tipo, a intensidade, a localização

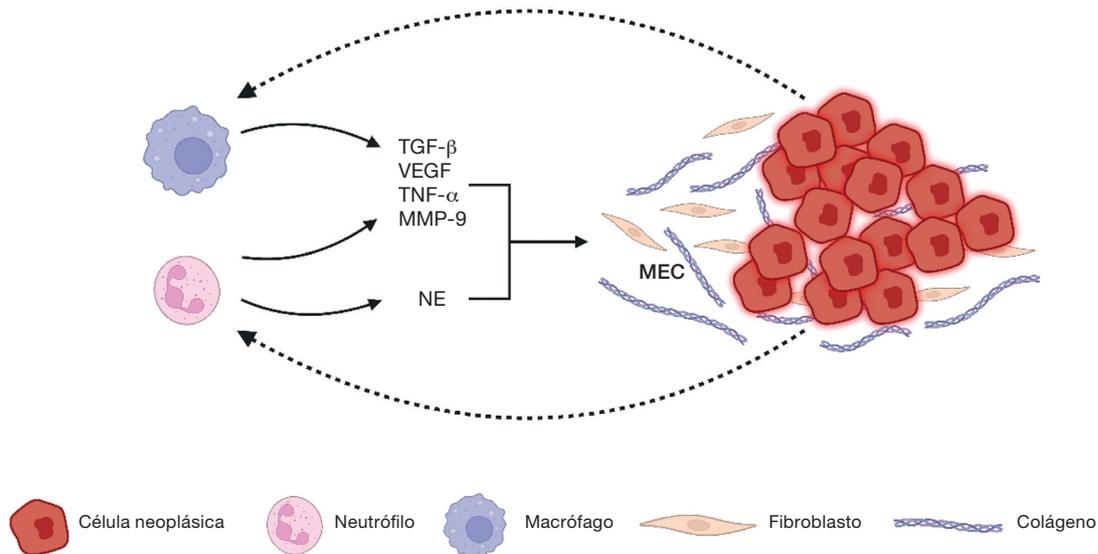
peri ou intratumoral e o momento do início da resposta inflamatória induzida pela ação de citocinas são fatores que definem se o processo inflamatório atuará como promotor ou inibidor do desenvolvimento tumoral.



**FIGURA 24.1.** Modelo da função das células nas respostas imunes inata e adquirida, associadas ao desenvolvimento do câncer. Os antígenos neoplásicos são transportados para os órgãos linfoides pelas células dendríticas que ativam a resposta imune adaptativa, resultando em promotores tumorais e antitumorais. A ativação dos linfócitos B e da resposta imune humoral auxiliam no recrutamento de células imunes inatas para os tecidos neoplásicos. Estas células ativadas, como mastócitos, granulócitos e macrófagos, promovem o desenvolvimento tumoral pela liberação de moléculas solúveis que modulam a expressão genética em células neoplásicas iniciadas, resultando em alteração da progressão do ciclo celular e inibição da apoptose. As células inflamatórias promovem a remodelação do estroma e a angiogênese pela produção de mediadores pró-angiogênicos e proteases extracelulares. Em contraste, células citotóxicas da resposta imune adaptativa, linfócitos TCD8<sup>+</sup>, conferem proteção contra o desenvolvimento e progressão tumoral. Ag: antígenos; CD: células dendríticas; MHC: complexo principal de histocompatibilidade.



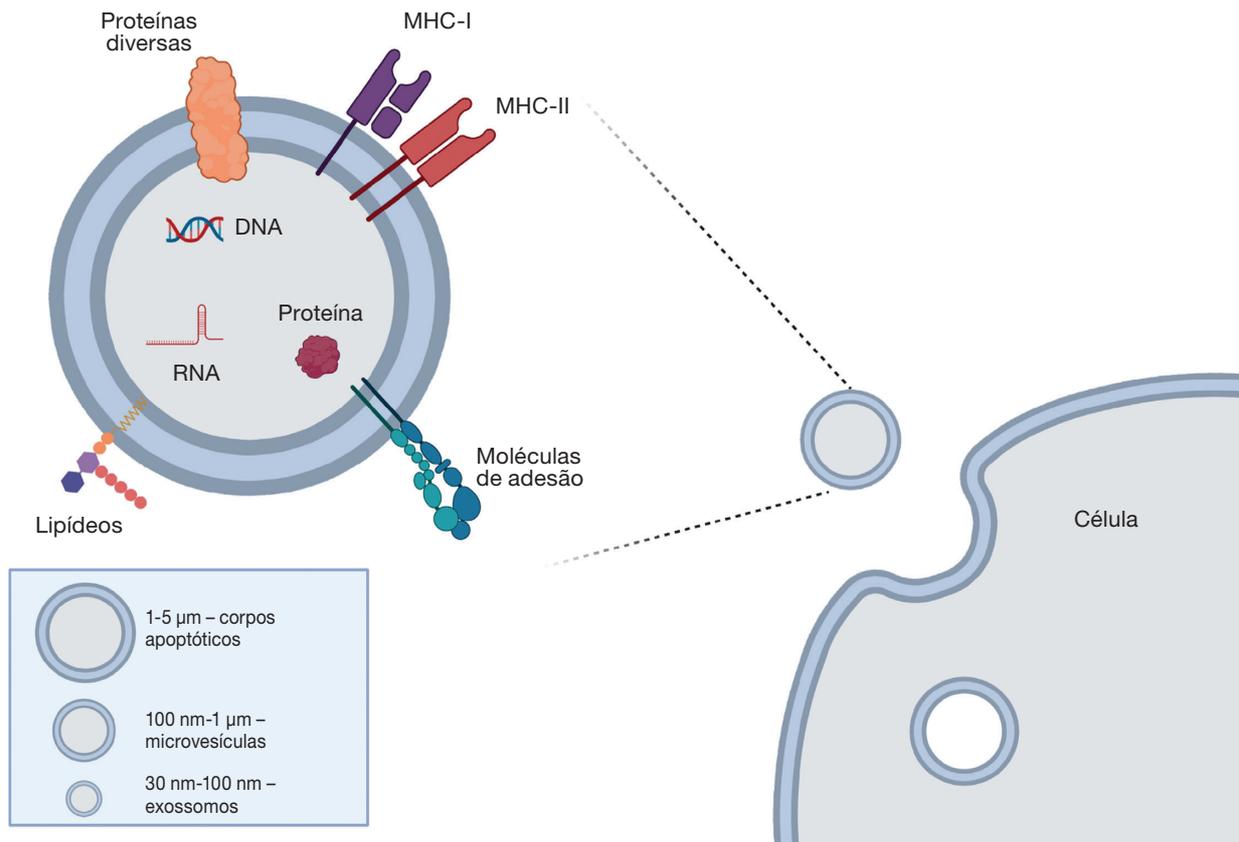
**FIGURA 25.7.** Imunomarcacão para macrófagos no microambiente tumoral de uma área invasora do carcinoma mamário canino. **A-D.** Macrófagos intratumorais. **C.** Macrófagos peritumorais.



**FIGURA 25.8.** A degradação da MEC é favorecida por uma combinação de estímulos entre as células neoplásicas e células inflamatórias. O TGF- $\beta$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e MMP, e a neutrófilo elastase (NE) secretada por macrófagos e neutrófilos, favorecem a invasividade das células tumorais, e essas, concomitantemente, aumentam a ativação das células inflamatórias no microambiente tumoral. Criada com BioRender.com.

dratos etc. Dentre essas vesículas, destacam-se os *exossomos*, os quais são vesículas de 50-150 nm de diâmetro de origem endocítica e tem sido apontada como um componente importante no preparo do sítio metastático, indução do crescimento tumoral e angiogênese, indução de CIT, resistência à terapia, e consequentemente, como importante fonte de marcadores diagnósticos, preditivos e prognósticos (Fig. 26.19). Nos exossomos identificados em linhagens celulares de tumores mamários caninos foram evidenciados miRNAs (miR-18a, miR-19a e miR-181a) preditos como reguladores do receptor de estrógeno canino, sugerindo seu papel como marcador preditivo nesses pacientes.

Outro avanço importante foi a descoberta de *neoantígenos* como forma de determinação de uma terapia individualizada. A partir das análises proteômica e genômica do tumor do paciente, é possível identificar quais mutações geraram novas proteínas tumorais, e então usar essas novas proteínas identificadas como forma de direcionar o tratamento, como, por exemplo, a partir da utilização de vacinas terapêuticas. Essa nova possibilidade tem se mostrado bastante promissora em melanomas humanos, por exemplo, em que ensaios clínicos com pequenas coortes já estão sendo realizados. No entanto, ainda há muito a se explorar em relação às neoplasias mamárias humanas, caninas e felinas.



**FIGURA 26.19.** Representação de uma vesícula extracelular. As vesículas extracelulares podem possuir diferentes tamanhos e são comumente formadas por uma bicamada lipídica. Elas podem transportar proteínas, lipídeos e carboidratos, alguns muitas vezes ligados à sua membrana, outros, em seu interior, sendo, portanto, importantes mediadoras da comunicação intercelular. Criada com Biorender.com.