

METÁSTASE ÓSSEA DE CARCINOMA MAMÁRIO EM ESCÁPULA DE CADELA: RELATO DE CASO

BONE METASTASIS OF MAMMARY CARCINOMA IN A DOG'S SCAPULA: CASE REPORT

Antony Rodrigues do N. Filho^{1*}, Terezinha de Jesus Marques de Souza², Márcio Nunes de Souza Filho³

¹Espaço Pet&Cia de atividades veterinárias; ²Universidade Nilton Lins; ³Clínica Veterinária Petzog

*Corresponding author: antonyrodri@gmail.com

Resumo: Metástases ósseas de carcinomas mamários são achados menos frequentes e considerados incomuns e raros. O presente trabalho relata um caso de metástase óssea em escápula em uma cadela da raça poodle, de 14 anos. Foram realizados exames de raio -x e ressonância magnética para planejamento cirúrgico, para o diagnóstico foi realizada biópsia óssea e os fragmentos de tecido foram encaminhados para análise histopatológica que não se mostrou conclusiva sendo realizado o exame de imuno-histoquímica que teve maior valor diagnóstico, expressando positivamente os marcadores AE1/AE3 que indicam neoplasias de origem epitelial, o que corroborou em conjunto com o histórico clínico que o carcinoma mamário seria o provável sítio primário de metástase.

Palavras-chave: Imuno-histoquímica. Malignas. Neoplasias ósseas.

Abstract: Bone metastases from breast carcinomas are less frequent findings and are considered uncommon and rare. The present work reports a case of bone metastasis in the scapula in a 14-year-old poodle dog. X-ray and magnetic resonance examinations were carried out for surgical planning, for the diagnosis a bone biopsy was performed and the tissue fragments were sent for histopathological analysis, which did not prove to be conclusive, with an immunohistochemistry examination being carried out which had greater diagnostic value, expressing positively the AE1/AE3 markers that indicate neoplasms of epithelial origin, which together with the clinical history corroborated that breast carcinoma would be the likely primary site of metastasis.

Keywords: Immunohistochemistry. Malignant. bone neoplasms.

1. INTRODUÇÃO

Neoplasias são classificados como crescimentos anormais de tecidos com rápido desenvolvimento que envolvem alterações no DNA celular resultando em

alterações que controlam fatores de crescimento e diferenciação celular, constituem massas anormais que continuam a se proliferar mesmo com o estímulo

interrompido (Andrade, 2008; Gamba, 2013; Cacemiro *et al.*, 2017).

Neoplasias de glândulas mamárias constituem o grupo de neoplasias mais comumente diagnosticadas em fêmeas caninas, representando um dos principais tipos de neoplasia que ocasionam metástases ósseas. A ocorrência de metástases ósseas são citadas como eventos incomuns e menos frequentes que as neoplasias primárias (Morgan, 1972; Chun e Lorimier, 2003; Cassali *et al.*, 2018).

O presente trabalho tem o objetivo de relatar um caso de metástase óssea em escápula em uma cadela que teve como origem de um carcinoma mamário, os autores tiveram como base o resultado do exame de imuno-histoquímica que expressou positivamente os marcadores AE1/AE3 que em conjunto com o histórico de mastectomia corroboraram que o carcinoma mamário seria o mais provável sítio primário de metástase.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi atendida no dia 4 de abril de 2023 em uma clínica veterinária particular na cidade de Manaus, no Estado do Amazonas, uma cadela de raça poodle, castrada com 14 anos, pesando 8,7 kg e em bom estado geral, na anamnese a tutora relatou que a cadela iniciou claudicação no membro torácico

direito aproximadamente 10 dias antes da consulta e evoluindo com apatia e decréscimo de apetite.

Na anamnese, foi informado ao examinador que a paciente já tinha sido acometida por tumores mamários, e foram retirados cirurgicamente há aproximadamente dois anos e que não foram realizadas análises histopatológicas ou quaisquer outros exames nas peças cirúrgicas com finalidades diagnósticas.

Ao exame clínico e físico, animal com dor à manipulação do membro torácico direito apresentava - se normotérmico, normocorado, anictérico, eupneico, hidratado, ativo e reativo a estímulos, sem aumento de volume de linfonodos palpáveis, ausculta limpa, foi proposto à tutora à realização de exame radiográfico, ultrassonográfico e exames laboratoriais. Os resultados do hemograma não revelaram alterações, porém no perfil bioquímico foi constatado aumento nas concentrações de fosfatase alcalina (355 U.I/L) e Alanina aminotransferase (89 U.I/L).

O exame radiográfico evidenciou reação periosteal mista, proliferativa e lítica com comprometimento do corpo de escápula direita. No exame sonográfico, não foram visualizadas imagens sugestivas de metástases à distância. Com finalidades

de planejamento cirúrgico foi solicitado o exame de ressonância magnética que revelou várias alterações (Figura 1).

Os resultados dos exames foram explicados à tutora e salientada a necessidade de realização de biópsia óssea e envio do material para análise histopatológica e exame microbiológico para diagnóstico de infecções bacterianas e fúngicas.

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos com o exame microbiológico, não constataram crescimentos bacterianos e fúngicos. A análise histopatológica foi sugestiva de neoplasia maligna intra óssea, morfológicamente compatível com osteossarcoma osteoblástico ou metástase de carcinoma pouco diferenciado, sendo sugerido nas observações do patologista a realização de exame de imuno-histoquímica para melhor caracterização neoplásica, visando confirmação de histogênese das células neoplásicas.

Diante disso foi solicitado exame de imuno-histoquímica onde a recuperação antigênica foi realizada pelo método de calor úmido foi realizada em panela a vapor, por 20 -30 min. A incubação com os anticorpos primários foi feita por toda a

noite a 4 graus C. A coloração foi feita com 3,3 - diaminobenzidina e a contracoloração com hematoxilina.

Na avaliação imuno-histoquímica foram utilizados painéis marcadores de anticorpos, de citoqueratinas, de células endoteliais, de proteína e de proliferação celular, de diferenciação osteoblástica e de músculo liso. As células cancerígenas apresentaram expressão positiva aos marcadores AE1/A3, que indicam neoplasias de origem epitelial, favorecendo, assim, a suspeita de que a metástase óssea teria como origem um carcinoma mamário (Tabela 1).

O exame de ressonância magnético com meio de contraste gadolínio revelou lesão expansiva óssea, com destruição e esclerose do corpo e região do colo da escápula e rompimento da cortical com extensão aos planos musculares adjacentes, a lesão fazia contato com o úmero ocasionando redução do espaço articular gleno-umeral e perda da cartilagem de revestimento com exuberante osteofitose e sendo indissociável dos músculos supra e infra-espinhais (Figura 1).

Paciente apresentou piora clínica dez dias após o estabelecimento do diagnóstico imuno-histoquímico, evoluindo com anorexia, apatia e vômitos, sendo internada para estabilização do quadro e realização de exames sanguíneos, sendo atestado

alterações nos níveis de ureia e creatinina respectivamente 58 mg/dl e 6,30 mg/dl sendo acompanhado pelos serviços de nefrologia e nutrição na tentativa de estabilização e melhora do estado geral e quadro laboratorial, porém a paciente evoluiu com piora clínica vindo a óbito com 48h de internação.

4. DISCUSSÃO

As informações acerca da ocorrência de metástases ósseas são escassas, limitando-se a relatos de caso e estudos muito antigos (Zuchi *et al.*, 2020). Alguns desses estudos têm mais de 50 anos, como exemplo o descrito por Misdorp *et al.* (1972) em que dois animais com tumores de glândula mamária desenvolveram focos de metástases esqueléticas, uma no fêmur e outra em vértebra.

Thompson e Pool (2002), citam que a frequência de ocorrências de metástases ósseas é subestimada, pois não são realizados estudos radiográficos de todo o esqueleto e nem procedimentos de necrópsia de forma rotineira o que impossibilita o registro desses eventos.

Algumas neoplasias, tem potencial para apresentar graus elevados de indiferenciação perdendo suas características específicas, sendo nesses casos necessária a utilização de outros

métodos para confirmação diagnóstica como o exame de imuno-histoquímica (IHQ), que além desse fator tem outras utilidades como a pesquisa de fatores prognósticos e terapêuticos, elucidação do tecido onde foi originada a neoplasia indiferenciada (Werner *et al.*, 2005).

A avaliação da expressão de um ou mais imunomarcadores de prognóstico apresenta-se como uma ferramenta mais eficiente e conclusiva (Thomas e Berner, 2000). Neoplasias indiferenciadas apresentam figuração microscópica acentuada e divergente das células primárias, podendo conter arranjos celulares em forma de ninhos, cordões e ilhas de células epiteliais com elevado potencial metastático (Carvalho *et al.*, 2014; Zachary, 2018).

Marcadores prognósticos são ferramentas capazes de fornecer informações sobre a neoplasia, ou seja, sobre suas propriedades biológicas envolvidas nos processos de transformação de células neoplásicas, no crescimento tumoral e no processo da cascata metastática. Um marcador é considerado preditivo se fornecer dados claros sobre a sensibilidade a terapias específicas (Schmitt *et al.*, 1998).

A técnica de realização do exame de imuno-histoquímica é baseada na busca

de um determinado antígeno por meio de um anticorpo especificamente preparado, e assim, formando o complexo antígeno-anticorpo, demonstrado via coloração histoquímica visível por microscopia óptica e luz ultravioleta (Ramos-Vara, 2005).

Esta técnica consiste em um agregado de metodologias que recorrem a anticorpos capazes de reconhecer e estabelecer ligações com elementos teciduais que são denominados de antígenos pelo método de coloração associado aos complexos de antígenos- anticorpos formados (Polak, 2002).

O processo de desenvolvimento metastático se mostra semelhante em todos os tipos de doenças neoplásicas, sendo os estágios com maior importância onco-gênese, angiogênese, as células tumorais apresentam um fenótipo invasivo, com maior velocidade de crescimento e com maior capacidade de sobrevivência à circulação sanguínea e adesão ao tecido alvo, levando ao bloqueio da resposta imune hospedeira (Brown e Healey, 2001).

Brown e Healey (2001) enfatizam que neoplasias como carcinomas renais, mamários e mielomas múltiplos tem maior potencialidade de avanço ao tecido ósseo, enquanto carcinomas de pulmão e de colo retal tem seu potencial de consolidação menor. Jamil e Kasi (2021), afirmam que

toda neoplasia tem potencial efetivo de promover metástases ósseas, como exemplos, cânceres primários de mama, pulmões, próstata, tireoide e rins.

Segundo Lana *et al.* (2007) a metastização neoplásica é classificada como regional quando acomete os linfonodos regionais ou proximais à formação, ou à distância, ocorrendo por disseminação linfática, ou hematogêna, podendo ocorrer primeiramente nos pulmões, linfonodos, fígado, rins e menos frequentes em tecido ósseo, cardíaco e pele, e anexos.

Goldschmidt *et al.* (2017) alvitraram que o processo de metástase óssea é dividido em quatro estágios: o primeiro estágio ou fase de colonização consiste quando as células neoplásicas circulantes adentram a medula óssea; no segundo estágio ocorre uma adaptação ao seu novo microambiente, podendo permanecer inativas por longos períodos; no terceiro estágio as células neoplásicas saem do estágio de inatividade são reativadas e proliferam ativamente; o quarto e último estágio as células crescem sem controle e adquirem independência do microambiente tumoral modificando o tecido ósseo à medida que a metástase cresce.

O prognóstico dos pacientes com metástases ósseas é altamente variável,

estando diretamente relacionado ao tipo histológico da neoplasia primária, à extensão da metástase óssea, às alterações sistêmicas detectadas e ao estado geral e funcional do paciente (Errani *et al.*, 2017).

Nos processos metastáticos em seres humanos, o esqueleto representa o terceiro local mais comum depois dos pulmões e fígado. Em contrapartida, metástases ósseas caninas são consideradas menos comuns do que tumores ósseos primários, e com ocorrência de metástases mais frequentes no esqueleto axial e ossos apendiculares (Trost *et al.*, 2014).

Existe a hipótese de que metástases ósseas não são achados frequentes em cães, visto à baixa realização de estudos radiográficos e procedimentos de necropsia. Na literatura, é mencionado que o risco de lesões ósseas metastáticas está relacionado à resposta clínica em relação à doença neoplásica primária, bem como ao tipo histológico e ao número de implantes no esqueleto (Croucher *et al.*, 2016).

Estudos conduzidos na medicina humana das décadas de 1970 e 1980 já indicavam que metástases ósseas são achados frequentes em pacientes que vão a óbito devido a neoplasias de mama, brônquios, próstata, rins e tireoide (Galasko, 1976; Galasko, 1986).

Neoplasias mamárias, especialmente os carcinomas, se constituem como o tipo mais comum de tumor diagnosticado em cadelas e a terceira neoplasia mais comumente relatada em gatas e a ocorrência de metástases ósseas ainda é considerada rara (Chun e Lorimier, 2003; Cassali *et al.*, 2020).

Células neoplásicas alteram os mecanismos homeostáticos do osso ocasionando desequilíbrio entre osteoblastos e osteoclastos, podendo surgir dois tipos de lesões: as osteolíticas onde ocorre ampliação da atividade osteoclástica e o rompimento da arquitetura óssea, e as osteoblásticas onde os osteoblastos são amplificados favorecendo a formação óssea e escalada da osteosclerose (Guerrieri *et al.*, 2020; Ban *et al.*, 2021).

Os locais de ocorrência mais comumente relatados de implantação de metástases ósseas são crânios, costelas, coluna vertebral e bacia, áreas proximais dos membros superiores como o úmero e membros inferiores, em especial o osso fêmur (Kim *et al.*, 2018).

Neoplasias do tipo carcinoma têm sua disseminação, principalmente por via linfática, ocasionando implantes nos pulmões e linfonodos locais. Processos metastáticos para as estruturas ósseas ocorrem principalmente por via

hematógena, a célula neoplásica adapta-se ao parênquima da medula óssea, aproveitando-se da plasticidade das células originais para permanecerem potencializadas (Mumprecht e Detmar, 2009; Peña *et al.*, 2014).

Outros métodos de detecção precoces com mais especificidade e sensibilidade como a cintilografia óssea, tomografia computadorizada e ressonância magnética tem alta Relevância na pesquisa de metástases ósseas, especialmente em neoplasias com origem em mama, próstata e pulmões, mesmo antes do surgimento de sintomas ou alterações bioquímicas séricas (Souza *et al.*, 2020; Próspero *et al.*, 2022).

Métodos de diagnóstico por imagem constituem-se como ferramentas de extrema utilidade na identificação de lesões primárias ou eventos metastáticos, no processo de estadiamento e no monitoramento contínuo do paciente oncológico, e cada vez mais se empregam técnicas com maior sensibilidade e especificidade, tais como a ressonância magnética nuclear (RMN) ou a tomografia de emissão de pósitrons (Mattoon e Bryan, 2013; Coleman *et al.*, 2020).

A escolha do método de exame de imagem está diretamente relacionada com a neoplasia, seu respectivo comportamento biológico e sua localização anatômica

(Withrow *et al.*, 2013). A radiologia convencional ainda é a técnica mais empregada na avaliação de alterações ósseas, fornece informações a respeito da localização, tamanho, forma e padrão de calcificação, mas sua eficácia esbarra nas limitações da diferenciação entre lesões benignas e malignas (Rajiah *et al.*, 2011).

O exame de ressonância magnética tem alta capacidade de diferenciação tecidual e seu espectro de ação é estendido a todas as regiões do corpo, explorando aspectos anatômicos e funcionais, é capaz também de fornecer informações acerca da extensão tumoral, da invasão de tecidos adjacentes e da presença de lesões metastáticas, suas desvantagens são o alto custo e a média a baixa disponibilidade do exame (Mazzola, 2015).

5. CONCLUSÃO

Na investigação bibliográfica realizada para a elaboração deste relato, são citados como raros ou incomuns os processos metastáticos ósseos oriundos da glândula mamária em cães, possivelmente, porque esses processos são sub diagnosticados e pouco investigados, as informações disponibilizadas são de estudos antigos e muitas vezes limitadas a relatos de caso.

Na medicina veterinária, não dispomos de fontes de informações fidedignas para

consulta acerca da incidência e prevalência de doenças neoplásicas que afetam caninos em nenhum nível isto é níveis locais, regionais e nacionais.

Tabela 1. Estudo imuno-histoquímico com resultados individuais para os marcadores utilizados.

Marcador	Anticorpo	Clone	Resultados
Citoqueratina AE1/AE3	Marca células epiteliais normais, carcinomas e outros tumores com diferenciação epitelial	AE1&AE3	Imunoexpressão positiva
CD31	Marcador de células endoteliais	BC2	Imunoexpressão negativa
Ki -67	Marcador de proteína nuclear expressa em todas as fases do ciclo celular e de proliferação celular	MIB-1	Imunoexpressão positiva em aproximadamente 40% das células neoplásicas.
RUNX	Marcador de diferenciação osteoblástica	5A1	Imunoexpressão negativa
Actina de músculo liso	Marcador de músculo liso	1A4	Imunoexpressão negativa

Fonte: Elaborada pelo pesquisador.

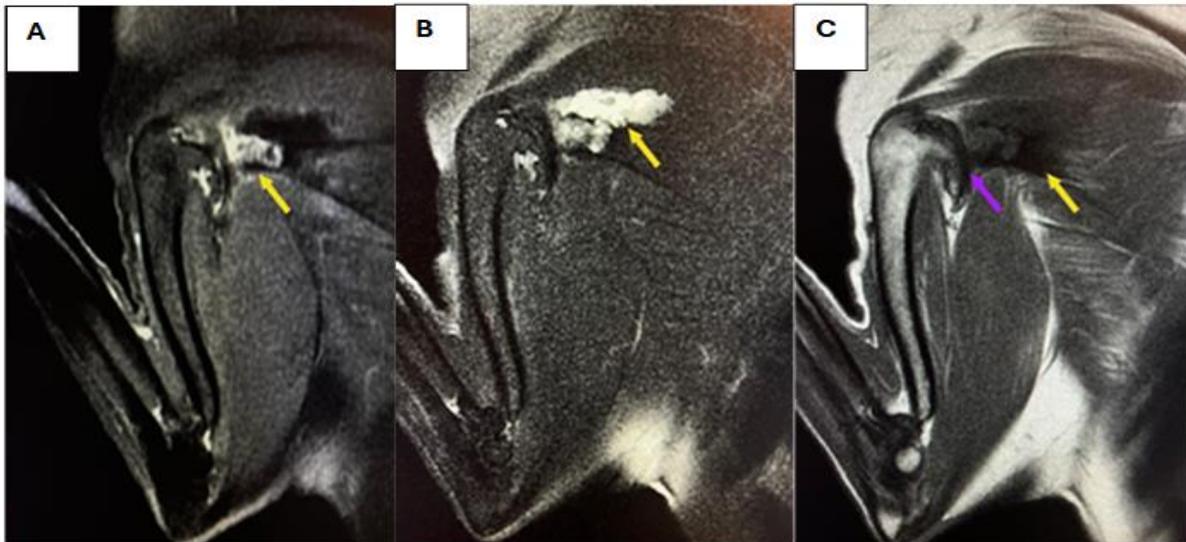


Figura 1 - A. Seta indicando lesão expansiva óssea com destruição e esclerose do corpo e região do colo da escápula B. Seta indicando exuberante osteofitose, não sendo possível a dissociação dos músculos supra e infra – espinhais C. Seta roxa indica redução do espaço articular gleno-umeral, com perda da cartilagem de revestimento, seta amarela indica rompimento da cortical e extensão aos planos musculares adjacentes.

Fonte: Acervo do pesquisador.

6. BIBLIOGRAFIA

Andrade, S. A. F. (2008). Tumores Ósseos Em Cães. *Unilus Ensino E Pesquisa*, 5(9), 5-12.

Ban, J., Fock, V., Aryee, D.N.T., Kovar, H. (2021). Mechanisms, Diagnosis And Treatment Of Bone Metastases. *Células*, 10(11), 2944-2973. <https://doi.org/10.3390/Cells10112944>

Brown, H.K., Healey, J.H. (2001). Metastatic Cancer To Bone. In: Devita, V.T. Jr.; Hellman, S., Rosenberg, A.S. *Principles And Practice Of Oncology*. 6. Ed. Philadelphia: Lippincot Raven, 2.432p.

Cacemiro, A.D.C., Tessaro, C., Campos, A.G. (2017). Ocorrência De Neoplasias Em Cães E Gatos No Hospital Veterinário Da Faculdade Dr. Francisco Maeda No Ano De 2013. *Revista Investigação*, 16(5), 37.

Carvalho, F.K.L., Dantas, A.F.M., Riet-Correa, F., Andrade, R.L.F.S., Nóbrega, P.I.N., Miranda, E.G.N., Simões, S.V.D., Azevedo, S.S. (2014). Estudo Retrospectivo Das Neoplasias Em Ruminantes E Equídeos No Semiárido Do Nordeste Brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(3), 211-216.

Cassali, G.D., Jark, P.C., Gamba, C., Damasceno, K.A., Lima, A.E., Nardi, A.B.,

Ferreira, E. Et Al. Consensus Regarding The Diagnosis, Prognosis And Treatment Of Canine And Feline Mammary Tumors - 2019. (2020). *Brazilian Journal Of Veterinary Pathology*, 13 (3), 555-574. <http://bjvp.org.br/Wp-Content/uploads/2020/11/V13-N3-1.pdf>

Chun, R., Lorimier, L.P. Update On The Biology And Management Of Canine Osteosarcoma. (2003). *Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice*, 33 (3), 491-516. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(03\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(03)00021-4).

Coleman, R.E., Croucher, P.I., Padhani, A.R., Clézardin, P., Chow, E., Fallon, M., Guise, T., Colangeli, S., Capanna, R., Costa, L. Bone Metastases. (2020). *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1), 83-110. <https://doi.org/10.1038/S41572-020-00216-3>

Croucher, P.I., Mcdonald, M.M., Martin, T.J. (2016). Bone Metastasis: The Importance Of The Neighbourhood. *Nature Reviews Cancer*, 16 (6), 373-386. <http://dx.doi.org/10.1038/Nrc.2016.44>

Errani, C., Mavrogenis, A.F., Cevolani, L.; Spinelli, S., Piccioli, A., Maccauro, G., Baldini, N., Donati, D. (2017). Treatment For Long Bone Metastases Based On A Systematic Literature Review. *European Journal Of Orthopaedic Surgery &*

Traumatology, 27(2), 205-211.
<https://doi.org/10.1007/S00590-016-1857-9>

Galasko, C.S.B. (1976). Mechanism Of Bone Destruction In The Development Of Skeletal Metastases. *Nature*, 263(5577), 507-508.

Galasko Cs. Skeletal Metastases And Mammary Cancer. *Annals Of The Royal College Of Surgeons Of England* 1972 Jan; 50(1), 3-28.

Gamba, C.O. (2013). Oncologia Em Pequenos Animais. *Cadernos Técnicos De Veterinária E Zootecnia*, 70(1), 68-71.

Goldschmidt, M.H., Peña, L., Zapulli, V. (2017). Tumors Of The Mammary Gland. In: Meuten, D.J. *Tumors In Domestic Animals*. 5. Ed. Ames: John Wiley & Sons, 731- 773.

Guerrieri, A.N., Montesi, M., Sprio, S., Laranga, R., Mercatali, L., Tampieru, A., Donati, D.M., Lucarelli, E. (2020). Innovative Options For Bone Metastasis Treatment: An Extensive Analysis On Biomaterials-Based Strategies For Orthopedic Surgeons. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*, 6(8), 589-964.
<https://doi.org/10.3389/Fbioe.2020.589964>

Jamil A, Kasi A. Lung Metastasis. 2023 Jan 9. In: Statpearls [Internet]. Treasure Island (FL): Statpearls Publishing; 2024 Jan.

Kim, L.D., Bueno, F.T., Yonamine, E.S., Próspero, J.D., Pozzan, G. (2018). Metástase Óssea Como Primeira Manifestação De Tumores: Contribuição Do Estudo Imuno-Histoquímico Para O Estabelecimento Do Tumor Primário. *Revista Brasileira De Ortopedia*, 53(4), 467-471.

<https://doi.org/10.1016/J.Rbo.2017.06.028>

Lana, S.E., Rutteman, G.R., Withrow, S.J. (2007). Tumors Of The Mammary Gland. In: Withrow, S.J.; Vail, D.M. *Withrow And Macewen's Small Animal Clinical Oncology*. 4. Ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 619-636.
<https://doi.org/10.1016/B978-072160558-6.50029-0>

Mattoon, J. S., Bryan, J. N. (2013). The Future Of Imaging In Veterinary Oncology: Learning From Human Medicine. *The Veterinary Journal*, 197(3), 541-552.
<https://doi.org/10.1016/J.Tvj.2013.05.022>

Mazzola, A.A. (2015). Ressonância Magnética: Princípios De Formação Da Imagem E Aplicações Em Imagem Funcional. *Revista Brasileira De Física*

Médica, 3(1), 117-129. <https://doi.org/10.29384/Rbfm>

Misdorp, W., Cotchin, E., Hampe, J.F., Habara, A.G., Von Sandersleben, J. (1972). Canine Malignant Mammary Tumours II: Adenocarcinomas, Solid Carcinomas And Spindle Cell Carcinomas. *Veterinary Pathology*, 9(6), 447-470. <https://doi.org/10.1177/030098587200900605>

Morgan, J. P. Vertebral Column. In: Morgan, J.P. (1972). *Radiology In Veterinary Orthopedics*. Philadelphia: Lea & Febiger, 303, 219-300.

Mumprecht, V., Detmar, M. (2009). Lymphangiogenesis And Cancer Metastasis. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine*. Aug;13(8a):1405-16. <https://doi.org/10.1111/J.1582-4934.2009.00834.X>.

Polak And S. Van Noorden, O., Polak, D.J., & Van Noorden, S. (2002). *Introduction To Immunocytochemistry (3rd Ed.)*. Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9781003423829>

Peña, L., Gama, A., Goldschmidt, M.H., Abadie, J., Benazzi, C., Castagnaro, M., Díez, L., Gärtner, F., Hellmén, E., Kiupel, M., Millán, Y., Miller, M.A., Nguyen, F., Poli, A., Sarli, G., Zappuli, V., De Las

Mulas, J.M. (2014). Canine Mammary Tumors: A Review And Consensus Of Standard Guidelines On Epithelial And Myoepithelial Phenotype Markers, Her2, And Hormone Receptor Assessment Using Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 51(1), 127-145. <https://doi.org/10.1177/0300985813509388>.

Próspero, I., Ferreira, G., Lopes, S., Ribeiro, C. (2022). Indicações Para Utilização Da Cintigrafia Óssea No Cancro Da Mama. *Acta Radiológica Portuguesa*, 34(3), 10-12. <https://doi.org/10.25748/Arp.26856>

Rajiah, P., Ilaslan, H., Sundaram, M. (2011). Imaging Of Primary Malignant Bone Tumors (Nonhematological). *Radiologic Clinics Of North America*, 49(2), 1135-1161. <https://doi.org/10.1016/J.Rcl.2011.07.003>

Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical Aspects Of Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 42(4), 405-426. <https://doi.org/10.1354/Vp.42-4-405>. Pmid: 16006601.

Schmitt, F.C., Soares, R., Cirnes, L., Seruca, R. (1998). P53 In Breast Carcinomas: Association Between Presence Of Mutation And Immunohistochemical Expression Using A Semiquantitative Approach. *Pathology Research And*

Practice, 194(12), 815-819.

[https://doi.org/10.1016/S0344-](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(98)80083-6)

[0338\(98\)80083-6](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(98)80083-6)

Souza, J.A.R., Martins, R., Matuo, R. (2020). Importância Da Cintilografia Óssea Na Pesquisa De Metástases. *Tekhne E Logos*, 11(3), 105-114.

Thomas, E, Berner, G. (2000). Prognostic And Predictive Implications Of Her2 Status For Breast Cancer Patients. *European Journal Of Oncology Nursing*, 4, Sa, 10-17. <https://doi.org/10.1054/Ejon.2000.0073>

Thompson, R. R., Pool, K. G. (2002). Tumors Of Bones. In: Meuten, D.J. (Ed.). *Tumors In Domestic Animals*. Iowa: Iowa State Press, V. 4, Cap. 10, P. 245-317.

Trost, M.E., Inkelmann, M.A., Galiza, G.J.N., Silva, T.M., Kommers, G.D. (2014). Occurrence Of Tumours Metastatic To Bones And Multicentric Tumours With Skeletal Involvement In Dogs. *Journal Of Comparative Pathology*, 150(1), 8-17. [https://doi.org: 10.1016/J.Jcpa.2013.07.002](https://doi.org/10.1016/J.Jcpa.2013.07.002)

Werner, B.M.D., Campos, A.C., Nadji, M., Torres, L.F.B. *Uso Prático Da Imuno-Histoquímica Em Patologia Cirúrgica*. *Jornal Brasileiro De Patologia E Medicina Laboratorial*, V.41, N.5, P.353-364, 2005.

[https://doi.org/10.1590/S1676-](https://doi.org/10.1590/S1676-24442005000500011)

[24442005000500011](https://doi.org/10.1590/S1676-24442005000500011)
Withrow, S. J., Vail, D. M., Page, R. L. (2013). *Withrow And Macewen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th Ed. Maryland Heights, Usa: Elsevier Saunders.

Zachary, J. F. (2018). Bases Da Patologia Em Veterinária. In: Newkirk, K. M., Brannick, E. M., Kusewitt D. F. *Neoplasia E Biologia Tumoral*. 6. Ed. Rio De Janeiro: Elsevier, P. 286-319.

Zuchi, T., Lopes, L.V., Lopatina, C.L., Spricigo, J.G. Et Al. (2020). Metástase Óssea Rara De Carcinoma Mamário Em Cadela: Relato De Caso. *Acta Veterinária*, 14(4), 226-230. <https://doi.org/10.21708/Avb.2020.14.4.9419>