

## CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C REATIVA (PCR) EM CADELAS PORTADORAS DE NEOPLASIAS MAMÁRIAS

*(Serum concentration of C-reactive protein (CRP) in bitches with mammary gland tumor)*

Breno Queiroz PINHEIRO<sup>1\*</sup>; Héli da Tainan Silva BARBOSA<sup>1</sup>; Gabriel Rocha GURGEL<sup>1</sup>; Manoel Wanamark David FERREIRA FILHO<sup>1</sup>; Francisco Wesley da Silva ALVES<sup>1</sup>; Isaac Neto Góes da SILVA<sup>1</sup>; Lúcia Daniel Machado da SILVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. Av. Dr Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903. \*E-mail: [breno.queiroz@uece.br](mailto:breno.queiroz@uece.br)

### ABSTRACT

There is strong evidence that inflammation plays a key role in all stages of tumorigenesis. In human medicine, C-reactive protein (CRP) is frequently used in tests for neoplastic biomarkers, however, few studies are available on the serum concentration of CRP in cases of canine mammary tumors (CMT). The aim of this study was to evaluate the serum concentrations of CRP in bitches with CMT and its association with prognostic factors. Thirty bitches participated in the work, which were equally divided into two groups, with and without CMT. Bitches with CMT have higher concentrations of CRP ( $4.0 \pm 1.9$  mg/L) compared to the control group ( $1.0 \pm 1.2$  mg/L) and their values were positively correlated with inflammation and/or macroscopic ulceration ( $r=0.4$ ), tumor size ( $r=0.6$ ), histopathological grade ( $r=0.6$ ), metastatic lymph node ( $r=0.6$ ) and clinical stage ( $r=0.8$ ).

**Keywords:** Cancer, inflammation, prognosis.

### INTRODUÇÃO

Desde 1863, quando Virchow supôs “que a origem das neoplasias estava em locais de inflamação crônica”, muitos estudos abordam o tema. Existem fortes evidências de que o crescimento da neoplasia pode ser controlado pelo sistema imunológico (VESELY *et al.*, 2011; JIANG e SHAPIRO, 2014) e que a inflamação desempenha um papel fundamental em todos os estágios da tumorigênese (FERNANDES *et al.*, 2015), estimulando a utilização dos produtos de processos inflamatórios como biomarcadores neoplásicos (SIEMES *et al.*, 2006).

Na medicina humana, a proteína C reativa (PCR), que é uma proteína inflamatória de fase aguda positiva, é frequentemente usada em painéis de biomarcadores sendo associado a um pior prognóstico em neoplasias humanas (FANG *et al.*, 2017). Shimura *et al.* (2019) observaram que os níveis de expressão pré-operatória de PCR relacionaram-se com a sobrevida global e ausência de recidiva em mulheres com neoplasias mamárias, indicando este analito como de fator prognóstico superior aos de estadiamento clínico (T e N) e grau histológico.

O uso da PCR já foi relatado em cães com câncer, podendo ser utilizado como fator prognóstico em cães com linfoma submetidos à quimioterapia ou para avaliação de remissões (MERLO *et al.*, 2007; NIELSEN *et al.*, 2007). Em neoplasias mamárias caninas (NMC) poucos são os trabalhos disponíveis sobre a concentração sérica de PCR e estes apresentam resultados conflitantes (PLANELLAS *et al.*, 2009, TECLES *et al.*, 2009; SZCZUBIAŁ *et al.*, 2018). Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar as concentrações séricas da PCR em NMC e sua associação com os fatores prognósticos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Aspectos éticos

O presente projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para o Uso Animal (CEUA) da Universidade estadual do Ceará (UECE) com o seguinte número de processo: 01047323/2019.

### Animais experimentais

Participaram do trabalho 30 cadelas, selecionadas ao acaso, sem predileção de raça e peso provenientes da rotina de atendimentos do Hospital Veterinário Sylvio Barbosa Cardoso (HVSBC) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) que foram divididas em igualmente em 2 grupos, cadelas com idade entre 6 e 12 anos ( $9,0 \pm 2,0$ ) que apresentaram pelo menos um tumor em glândula mamária e cadelas saudáveis com idade entre 1 e 11 anos ( $5,3 \pm 3,0$ ).

### Coleta de dados

Todas as cadelas foram submetidas à realização de hemograma completo, dosagem de analitos hepáticos e renais. Nas cadelas com neoplasia mamária também foram realizadas radiografias torácicas, em três projeções, e ultrassonografia abdominal total e avaliou-se a presença de ulceração e/ou inflamação, tamanho tumoral, que foi determinado de acordo com o diâmetro do maior nódulo (cm) e possibilidade de metástase linfonodal ou a distância.

As mastectomias foram adotadas de acordo com as mamas envolvidas e todas as peças foram fixadas em solução formalina tamponada a 10%, embebidos em parafina e rotineiramente preparados e corados com hematoxilina e eosina (HE). As NMC foram classificadas de acordo com Cassali e colaboradores (2014). Quando a cadela apresentava múltiplas massas, o tumor de pior prognóstico na histopatologia foi escolhido para a análise. Além disso, as neoplasias foram graduadas de acordo com o Nottingham Grading System (ELSTON e ELLIS, 1998).

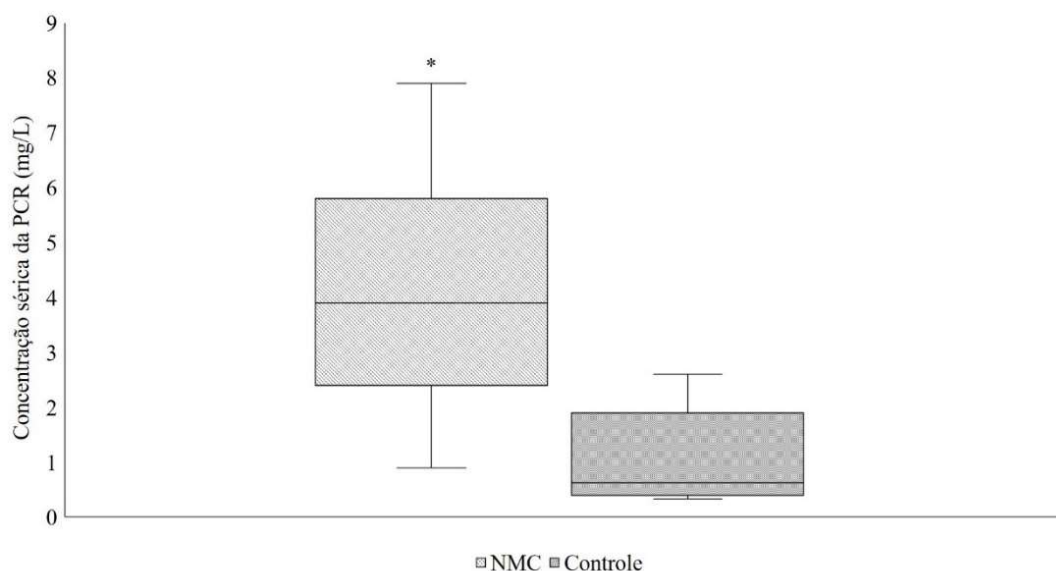
Para realização das dosagens de PCR, as amostras sanguíneas foram colhidas por venopunção jugular, de modo a se evitar hemólise. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas e o soro alíquotado e armazenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um prazo máximo de 30 dias. Foram utilizados *kits* reagentes de imunoturbidimetria por meio de partículas de látex estabilizadas para a dosagem automatizada.

### Análise Estatística

A análise estatística foi realizada usando o RStudio versão 1.3 (Boston, EUA). One-way ANOVA e teste de Tukey foram utilizados para determinar diferenças nas concentrações entre os grupos estudados. Utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson para se avaliar a relação entre valores de PCR com os fatores prognósticos. Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP). Diferenças foram consideradas significativas ao nível de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração média da PCR foi significativamente maior em NMC ( $4,0 \pm 1,9$  mg/L) em comparação com aquelas do grupo controle ( $1,0 \pm 1,2$  mg/L) resultado este que contraria o encontrado por Tecles e colaboradores (2009) que não observaram diferenças (Fig. 01). Já Planellas *et al.* (2009) e Szczubiał *et al.* (2018) encontraram diferenças estatísticas entre cadelas portadoras de NCM e cadelas saudáveis.



**Figura 01:** Concentrações séricas da PCR em cadelas portadoras de neoplasias mamárias (NMC) e do grupo controle. \*Diferença estatística ( $p < 0,05$ )

Entre as NCM, 3 eram benignos (tumores mistos benignos) e 12 malignos (6 carcinomas em tumor misto, 5 carcinomas tubulares e 1 carcinomas micropapilar). Metástases a distância foram encontradas em 3 cadelas NMC (2 carcinomas tubulares e 1 carcinomas micropapilar). Entre as neoplasias, 5 eram ulceradas (3 não metastáticas e 2 metastáticas). O tamanho médio entre os nódulos avaliados foi de  $6,1 \pm 7,7$  cm. Todos as NMC metastáticas eram maiores que 5 cm (Tab. 01).

A concentração da PCR relacionou-se significativa e positivamente com a inflamação e/ou ulceração macroscópica ( $r=0,4$ ), tamanho do tumor ( $r=0,6$ ), grau histopatológico ( $r=0,6$ ), linfonodo metastático ( $r=0,6$ ) e estadiamento clínico ( $r=0,8$ ) ( $p < 0,05$ ).

Quando se analisa os resultados da literatura, observa-se que já existem trabalhos indicando que cadelas que possuem indícios de inflamação macroscópica (PLANELLAS *et al.*, 2009; SZCZUBIAŁ *et al.*, 2018), maiores nódulos (SZCZUBIAŁ *et al.*, 2018), metástase à distância (SZCZUBIAŁ *et al.*, 2018) e elevados estadiamentos clínicos (TECLES *et al.*, 2009) possuem maiores concentrações da PCR. Até onde vai o nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho a encontrar uma correlação positiva entre o grau histopatológico proposto por ELSTON e ELLIS (1998) e a concentração da PCR.

**Tab 01:** Descrição dos parâmetros clínico patológicos observados nas cadelas portadoras de neoplasias mamárias.

| Raça                | PCR (mg/L) | Tamanho tumoral (cm) | Inflamação e/ou ulceração | Histopatológico     | Grau | Linfonodo metastático | Estadiamento clínico |
|---------------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------|------|-----------------------|----------------------|
| Poodle              | 0,9        | 1,5                  | Não                       | Ca. tubular         | II   | Não                   | I                    |
| Golden              | 6,0        | 32                   | Sim                       | Ca. tubular         | II   | Sim                   | V                    |
| Poodle              | 2,3        | 3,5                  | Não                       | Ca. em tumor misto  | I    | Não                   | II                   |
| SRD                 | 3,4        | 3,8                  | Sim                       | Ca. tubular         | I    |                       | I                    |
| SRD                 | 5,3        | 8                    |                           | Ca. micropapilar    | III  | Sim                   | V                    |
| Terrirer brasileiro | 2,0        | 0,8                  | Não                       | Tumor misto benigno | -    | Não                   | I                    |
| SRD                 | 3,9        | 7,8                  | Sim                       | Ca. em tumor misto  | I    | Não                   | III                  |
| SRD                 | 4,2        | 10                   | Não                       | Ca. em tumor misto  | I    | Não                   | III                  |
| Poodle              | 2,6        | 1,5                  | Não                       | Tumor misto benigno | -    | Não                   | II                   |
| Poodle              | 3,4        | 3,5                  | Não                       | Ca. em tumor misto  | I    | Não                   | I                    |
| SRD                 | 3,9        | 2,5                  | Não                       | Tumor misto benigno | -    | Não                   | III                  |
| SRD                 | 5,8        | 6,5                  | Não                       | Ca. em tumor misto  | I    | Não                   | III                  |
| Labrador            | 6,1        | 5,5                  | Não                       | Ca. tubular         | I    | Não                   | I                    |
| SRD                 | 1,7        | 1                    | Não                       | Ca. tubular         | II   | Sim                   | V                    |

## CONCLUSÕES

Cadelas com neoplasia mamária apresentam maiores concentrações de PCR que cadelas saudáveis. A resposta inflamatória de fase aguda é estimulada em cadelas NMC inflamadas e/ou ulcerados, grandes, de elevado grau histopatológico, com linfonodo metastático e elevado estadiamento clínico, sugerindo que a PCR pode ser utilizada como potencial biomarcador prognóstico. Mais estudos são desejáveis para avaliar o seu significado quanto à eficácia terapêutica ou recorrência desta neoplasia.

## REFERÊNCIAS

- CASSALI, G.D.; LAVALLE, G.E.; FERREIRA, E.; ESTRELA-LIMA, A.; DE NARDI, A. B.; GHEVER, C.; BESERRA, H.E. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors-2013. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v.7, n.2, p.38-69, 2014.
- ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Assessment of histological grade. *The Breast*, v.13, p.356-384, 1998.
- FANG Y.; XU C.; WU P.; ZHANG L.H.; LI D.W.; SUN J.H.; LI W.F.; LIAO Z.S. Prognostic role of C-reactive protein in patients with nasopharyngeal carcinoma: A meta-analysis and literature review. *Medicine (Baltimore)*, v.96, p.8463, 2017.
- FERNANDES, J.V.; COBUCCI, R.N.O.; JATOBÁ, C.A.N.; MEDEIROS FERNANDES, T. A. A.; AZEVEDO, J.W.V.; DE ARAÚJO, J.M.G. The role of the mediators of inflammation in cancer development. *Pathology & Oncology Research*, v.21, n.3, p.527-534, 2015.
- JIANG, X.; SHAPIRO, D.J. The immune system and inflammation in breast cancer. *Molecular and cellular endocrinology*, v.382, n.1, p.673-682, 2014.
- MERLO, A.; REZENDE, B.C.G.; FRANCHINI, M. L.; SIMÕES, D.M.N.; LUCAS, S.R.R. Serum C-reactive protein concentrations in dogs with multicentric lymphoma undergoing chemotherapy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.230, n.4, p.522-526, 2007.
- NIELSEN, L.; TOFT, N.; ECKERSALL, P. D.; MELLOR, D.J.; MORRIS, J.S. Serum C-reactive protein concentration as an indicator of remission status in dogs with multicentric lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.21, n.6, p.1231-1236, 2007.
- PLANELLAS, M.; BASSOLS, A.; SIRACUSA, C.; SACO, Y.; GIMÉNEZ, M.; PATO, R.; PASTOR, J. Evaluation of serum haptoglobin and C-reactive protein in dogs with mammary tumors. *Veterinary clinical pathology*, v.38, n.3, p.348-352, 2009.
- SHIMURA, T.; SHIBATA, M.; GONDA, K.; MURAKAMI, Y.; NODA, M.; TACHIBANA, K.; ABE, N.; OHTAKE, T. Prognostic impact of interleukin-6 and C-reactive protein on patients with breast cancer. *Oncology Letters*, v.17, p.5139-5146, 2019.
- SIEMES, C.; VISSER L.E., JWW, C. C-reactive protein levels, variation in the C-reactive protein gene, and cancer risk: the Rotterdam study. *Journal of Clinical Oncology*, v.24, p.5216-5222, 2006.
- SZCZUBIAŁ, M.; DABROWSKI, R.; ŁOPUSZYŃSKI, W.; BOCHNIARZ, M.; KRAWCZYK, M. Changes in serum neopterin and C-reactive protein concentrations in female dogs with mammary gland tumours. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v.21, n.4, p.691-696, 2018.
- TECLES, F.; CALDIN, M.; ZANELLA, A.; MEMBIELA, F.; TVARIJONAVICIUTE, A.; SUBIELA, S.M.; CERÓN, J.J. Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.21, n.2, p.214-219, 2009.
- VESELY, M.D.; Kershaw, M.H.; Schreiber, R.D.; SMYTH, M.J. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology*, v.29, p.235-271, 2011.