

Carcinoma mamário ductal invasivo em uma vaca

Invasive Ductal Mammary Carcinoma in a Cow

Francisca Maria Sousa Barbosa¹, Sara Vilar Simões Dantas¹, Harlan Hallamys de Lima Nascimento²,
José Paulo de Araújo Sobrinho¹, José Rômulo Soares dos Santos¹,
Gláucia Denise Kommers² & Ricardo Barbosa Lucena¹

ABSTRACT

Background: Mammary gland carcinoma is a malignant epithelial neoplasm that can be classified as solid, papillary, ductal, invasive micropapillary, or invasive ductal. They are rarely diagnosed in livestock animals. Reports describing the breast as primary site of tumor in cows are scarce. In this case report, pathological and clinical findings of primary carcinoma of the mammary gland in a cow are reported.

Case: A 7-year-old crossbred pregnant cow exhibited an increase in volume in the posterior region of the udder. Palpation raised suspicion of mastitis. The prefemoral lymph nodes (LNs) were enlarged. After calving, the clinical condition worsened, and edema was observed in the ventral region, from the udder to the neck. Poisoning by *Amaranthus* sp. was suspected. The cow died fifteen days after calving. Necropsy was performed. The affected mammary gland and its LNs, fragments of abdominal organs, brain, pelvic limbs, and udder skin were routinely prepared and stained with hematoxylin and eosin. Gross examination revealed significant alterations in the mammary gland, and in the mammary and prefemoral LNs. The mammary gland was firm and swollen; with loss of normal architecture, and released purulent, pinkish, fetid contents. The mammary LNs were enlarged, with diffuse coalescent multifocal lesions, loss of corticomedullary delimitation, and the content was similar to that observed in the udder. The internal prefemoral LNs were also enlarged and contained the same fetid contents. Histopathology revealed proliferation of neoplastic ducts coated by numerous neoplastic cells; some areas were solid. There was moderate to severe pleomorphism, with moderate anisocytosis and anisokariosis. Most of the cells had vesicular nuclei, with up to two evident nucleoli. Other cells had dense chromatin, and moderately eosinophilic cytoplasm. There was marked cell dissociation, and cell detachment. The central portions of the ducts were necrotic, with a predominantly neutrophilic inflammation. The mitotic index was low, but some areas had up to four mitotic figures per high power field. Numerous areas exhibited multiple foci of deposition of organized granular basophilic material, interpreted as mineralized areas, and stained positively for Von Kossa stain. Some areas of the mammary gland exhibited proliferative acini and ducts, composed of a single layer of cuboidal or columnar cells with moderately eosinophilic, vacuolated cytoplasm, and a basal rounded nucleus of generally aggregated chromatin (mammary hyperplasia). Many acini were dilated, and some contained circumscribed basophilic material (corpora amylacea). The structural architecture of the LNs was altered by malignant neoplastic infiltration, similar to that found in the mammary gland. No metastatic lesions were detected in the other organs. Immunohistochemistry (IHC) was performed using the streptavidin-biotin-peroxidase technique. Anti-pan-cytokeratin and anti-vimentin antibodies were used. Neoplastic cells exhibited strong and uniform cytoplasmic immunoreactivity for pan-cytokeratin. Expression of vimentin was absent in the neoplastic cells, but was present in the connective tissue associated with the neoplasm.

Discussion: Invasive ductal mammary carcinoma was confirmed by histopathological and IHC analyses. Edema can be explained by the neoplasm in the mammary gland and in the mammary LNs, with accumulation of fluid in the interstitium, caused by growth of the tumor and compression of large blood and lymphatic vessels. IHC confirmed the epithelial origin of the tumor and demonstrated the presence of epithelial tumor cells in the LNs, proving to be metastatic. Similar findings were reported in a cow with a highly aggressive secretory mammary carcinoma, in which neoplastic cells exhibited immunoreactivity to cytokeratin, indicative of their epithelial origin.

Keywords: histology, immunohistochemistry, neoplasms, ruminant.

Descritores: histologia, imunohistoquímica, neoplasmas, ruminante.

INTRODUÇÃO

As neoplasias da glândula mamária são altamente prevalentes em cadelas e gatas [18] e são responsáveis pela morte de quase meio milhão de mulheres em todo o mundo a cada ano [21]. Por outro lado, estudos retrospectivos evidenciam que os tumores mamários raramente ocorrem em animais de produção como éguas [1,11,14-16], vacas [2,5,9,12,13], ovelhas [3], cabras [4,17] e porcas [4].

As descrições de neoplasias primárias da glândula mamária em vacas são escassas. Entre os neoplasmas que foram diagnosticados, destacam-se os de origem epitelial como os adenocarcinomas [19,20] e o carcinoma mamário secretor [12]. Um estudo de 6.706 necropsias de bovinos no Brasil identificou a ocorrência de 586 tumores. Desses, apenas um caso correspondeu a carcinoma da glândula mamária [9]. Entre os tumores mesenquimais há apenas um relato de fibrossarcoma mamário [23]. Esses dados são intrigantes, já que as vacas destinadas à produção e reprodução podem sobreviver em média oito anos de idade, que corresponde a quarenta anos de vida dos humanos, considerada a idade para o desenvolvimento do câncer mamário em mulheres [8,21,24].

Por outro lado, os tumores mamários podem ser subdiagnosticados nas vacas. Isso ocorre devido a que algumas lesões que evoluem para o aumento de volume da glândula mamária de vacas, principalmente após o parto, são interpretadas clinicamente como mastites [22], abscessos, hematomas ou outras condições, resultando em remoção dos animais do rebanho, sem a realização de exames confirmatórios. O diagnóstico definitivo poderia ser facilmente obtido pelo exame histopatológico através de biópsia [21].

Este trabalho descreve um caso de carcinoma de glândula mamária em vaca, no qual o diagnóstico foi baseado nos aspectos clínicos, achados de necropsia, na avaliação histopatológica e confirmado pela imuno-histoquímica.

CASO

Uma vaca, fêmea, Mestiça de Holandesa, sete anos de idade, recém-parida, foi atendida em uma propriedade no município de Areia, Paraíba. O proprietário relatou havia que adquirido o animal prenhe há um mês e desde então, observou um aumento de volume na região posterior do úbere.

A vaca foi submetida à avaliação clínica logo após chegar à propriedade. Durante o exame físico, foi identificado aumento de volume na glândula mamária, de consistência firme, supeitando-se inicialmente de mastite, porém na avaliação do leite não foram identificadas alterações macroscópicas. Os linfonodos pré-curais também estavam aumentados de volume, sem mobilidade, com consistência firme e superfície irregular, sendo considerada então a possibilidade de ocorrência da forma tumoral da leucose bovina. Quinze dias após a avaliação inicial houve agravamento do quadro, sendo observado edema na região ventral desde o úbere até a barbela (Figura 1). Nessa ocasião, considerou-se a possibilidade de intoxicação por *Amaranthus* sp., pois a planta estava presente em grande quantidade nas pastagens da propriedade. A vaca morreu quinze dias após a parição.

Durante a necropsia realizada pela técnica convencional, foram coletados fragmentos da glândula mamária e linfonodos, além de todos os órgãos internos, músculos dos membros pélvicos, pele do úbere, cérebro e medula espinhal. As amostras foram fixadas em formol tamponado a 10% e processados rotineiramente, incluídos em parafina, corados a 4 µm, corados com hematoxilina (Hematoxilina de Harris)² e eosina (Eosina Amarelada - Ci45380)², seguido de exame histopatológico.

Na avaliação macroscópica, as alterações significativas foram verificadas na glândula mamária e nos linfonodos mamários e pré-curais. A glândula mamária estava aumentada de volume. Ao corte era firme, com perda da arquitetura normal e liberava conteúdo viscoso, róseo e fétido. Os linfonodos mamários estavam aumentados de volume, com 23x23x5 cm. Ao corte verificaram-se lesões multifocais ou coalescentes com perda da delimitação corticomedular e liberação de conteúdo viscoso (Figura 2) semelhante ao encontrado na glândula mamária. Os linfonodos pré-curais internos também apresentavam aumento de volume e conteúdo igual ao observado nos linfonodos mamários. Os demais órgãos não apresentavam nenhuma alteração.

Na avaliação histopatológica da glândula mamária foi observado proliferação de ductos neoplásicos revestidos por numerosas células neoplásicas, porém outras áreas eram sólidas. As células apresentavam pleomorfismo que variava de moderado a acentuado, com moderada anisocitose e anisocariose.

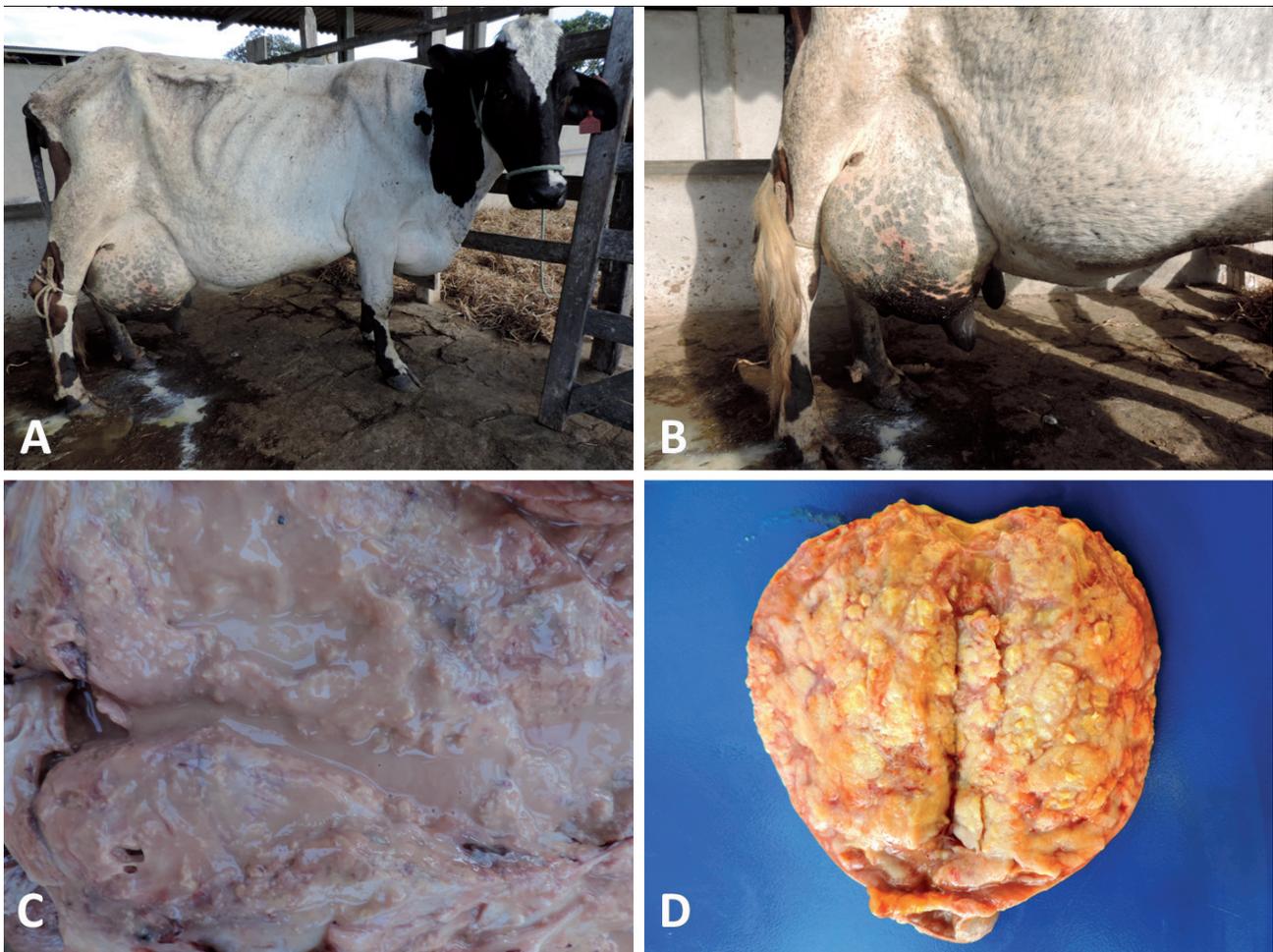


Figura 1. Vaca mestiça de Holandesa acometida por carcinoma mamário. A- Edema subcutâneo se estendendo desde a glândula mamária até a região da barbel. B- Glândula mamária marcadamente aumentada de volume. C- Superfície de corte da glândula mamária demonstrando perda da arquitetura normal e presença de conteúdo viscoso e róseo. D- Linfonodo mamário com presença de metástases e conteúdo viscoso, rosado.

A maioria das células tinha núcleo vesiculoso, com até dois nucléolos evidentes. Outras células possuíam cromatina densa e citoplasma eosinofílico moderado. Notava-se acentuada dissociação celular, com perda da polaridade e desprendimento das células neoplásicas. Os centros dos ácinos estavam necróticos, com inflamação predominantemente neutrofílica. Entre os ácinos havia intensa proliferação de tecido conjuntivo esfirroso. O índice mitótico era baixo, porém algumas áreas apresentaram até quatro figuras de mitoses por campo de grande aumento (Figura 3). Numerosas áreas apresentaram múltiplos focos de deposição de material basofílico granular organizado, interpretado como mineralização, e marcado positivamente na coloração de von Kossa (Von Kossa)¹.

Algumas áreas da glândula mamária apresentavam ácinos proliferados, porém revestidos por uma única camada de células cubóides ou colunares baixas, com citoplasma moderado, levemente eosinofílico e vacuolizado, núcleo arredondado e basal

de cromatina geralmente agregada, interpretado como hiperplasia mamária. Muitos ácinos estavam dilatados e alguns preenchidos por material basofílico circunscrito (corpórea amilácea). Os linfonodos estavam com arquitetura alterada por infiltração neoplásica maligna semelhante à descrita na glândula mamária. Nenhuma lesão metastática foi detectada nos demais órgãos.

Avaliação imuno-histoquímica foi realizada pela técnica da estreptavidina-biotina-peroxidase (Complexo estreptavidina-biotina-peroxidase - LSAB Kit Peroxidase Universal, DakoCytomation)³ em diferentes secções da glândula mamária e linfonodos. Foram utilizados os anticorpos anti-panciteratina (Anti-pancitoqueratina - policlonal, Dako Cytomation)³, na diluição de 1:2000, e anti-vimentina (Anti-vimentina - clone V9, DakoCytomation)³, na diluição de 1:100. A imunomarcagem foi visualizada com o uso de 3,3-diaminabenzidina (DAB)⁴. As secções foram contracoradas com hematoxilina de Harris (Hematoxilina de Harris)²; utilizaram-se controles

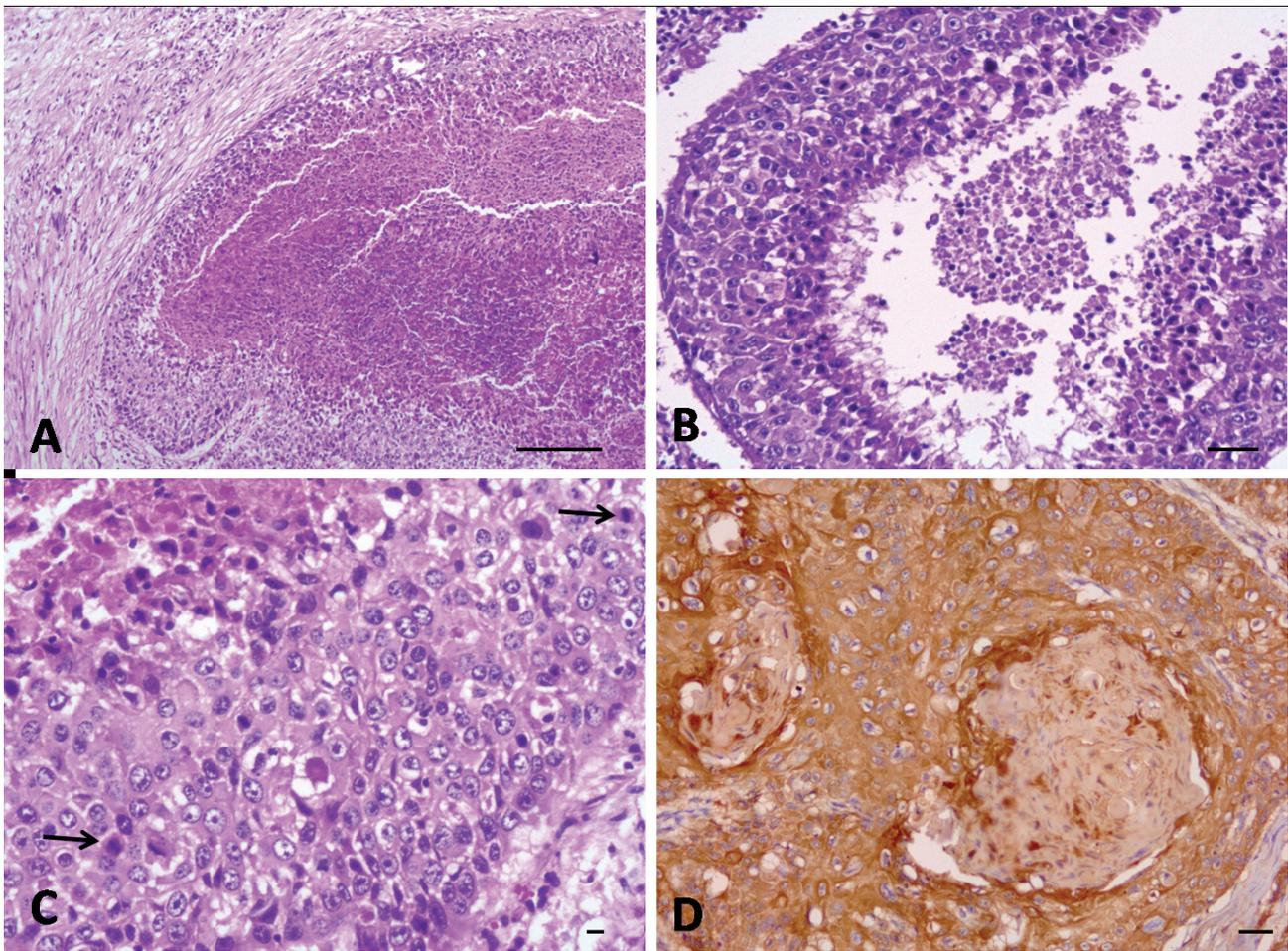


Figura 2. Carcinoma mamário ductal invasivo em vaca mestiça de Holandesa. A- Ducto neoplásico constituído por numerosas camadas de células pleomórficas, com necrose central (H&E, obj. 10x). [Barra 100 µm]. B- Ducto neoplásico em maior aumento (H&E, obj. 20x). [Barra 50 µm]. C- Numerosas mitoses atípicas em meio a células neoplásicas marcadamente pleomórficas (setas - H&E, obj. 40x). [Barra 25 µm]. D- Marcação forte e uniforme para pancitoceratina no citoplasma das células neoplásicas (Imuno-histoquímica, método da estreptavidina-biotina-peroxidase, contra-coloração com hematoxilina de Harris, obj. 20x). [Barra 50 µm].

positivos e negativos para cada anticorpo. As células neoplásicas demonstraram forte e uniforme imunoreatividade citoplasmática para pancitoceratina (Figura 4). Na avaliação para vimentina, a expressão foi negativa nas células neoplásicas e positiva no tecido conjuntivo associado ao neoplasma.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de carcinoma de glândula mamária nesta vaca baseou-se nos aspectos clínico-patológicos, e foi confirmado pelo exame histopatológico e imuno-histoquímico. Este diagnóstico é incomum na literatura mundial, pois neoplasmas primários da glândula mamária em vacas são raros [5,12].

No presente relato, o neoplasma se desenvolveu a partir da glândula mamária e resultou em metástases para os linfonodos regionais mamários e pré-curais. Outros trabalhos descrevem a ocorrência de metástases para esses mesmos linfonodos [5,12]. Nestes casos,

sugere-se a via linfática como responsável pela migração das células neoplásicas até os linfonodos, dando origem às metástases [12].

O aumento de volume na região ventral que se estendeu cranialmente até a barbela é explicado pelo acúmulo de líquido no interstício. O crescimento expansivo do tumor e a compressão dos vasos linfáticos resultam na redução da remoção do líquido que se acumula normalmente no interstício durante a troca de fluidos entre o plasma e o interstício [10]. Esse achado foi visto também em uma vaca de oito anos de idade acometida por carcinoma secretor da glândula mamária [12].

Na avaliação macroscópica foi observado um conteúdo fétido, róseo que foi interpretado como necrose. Essa lesão está presente em tumores de crescimento rápido, explicado pela invasão de células tumorais e à trombose de vasos sanguíneos [23].

Histologicamente, os carcinomas possuem diferentes subtipos incluindo o sólido, o papilar, o ductal, o invasivo micropapilar e o ductal invasivo [7]. No caso deste relato foi diagnosticado um carcinoma mamário ductal invasivo, com características semelhantes a um caso de carcinoma mamário com padrão ductal e acinar descrito em uma vaca [13]. Os ductos proliferados invadiram o tecido mamário adjacente e tinham a mesma aparência nos linfonodos.

Tumores da glândula mamária devem ser diferenciados de outras neoplasias. Alguns neoplasmas cutâneos primários que invadem diretamente o úbere, principalmente os melanomas ou os carcinomas de células escamosas, devem ser diferenciados de carcinomas primários da mama. Entre os tumores metastáticos que invadem o tecido mamário destaca-se o linfoma, que também envolve os linfonodos [23]. A avaliação da pele do úbere descartou invasão de tumores cutâneos no úbere, bem como a ausência de lesões em outros órgãos afastou a hipótese de metástases para a glândula mamária.

A análise imuno-histoquímica confirmou a origem epitelial do tumor mamário e nos linfonodos, comprovando que as lesões dos linfonodos se tratavam de metástases do carcinoma mamário. Achados semelhantes foram descritos em um caso de carcinoma mamário secretor em uma vaca, altamente agressivo e maligno, no qual as células neoplásicas exibiram imunorreatividade para citoqueratina, comprovando a origem epitelial do tumor [12].

Entre os principais diagnósticos diferenciais não tumorais de carcinoma mamário em vaca destacam-se os quadros inflamatórios da glândula mamária (mastites), que também causam alterações na arquitetura da glândula com envolvimento dos linfonodos mamários. Nestes casos observam-se edema, hiperemia e endurecimento da glândula mamária, alterações essas causadas por agentes oportunistas. Os linfonodos mamários também estão aumentados de volume e drenando conteúdo [14]. Os hematomas, na forma de acúmulos de sangue, também resultam em aumento do tecido mamário e apresentam uma terceira dimensão nítida [6]. Essas lesões foram afastadas pela avaliação macroscópica, histopatológica e imuno-histoquímica na vaca do presente estudo.

Conclui-se que apesar de incomum o carcinoma mamário ductal invasivo é um subtipo de neoplasma mamário encontrado em vaca. Este tumor deve constar entre os diagnósticos diferenciais clínicos para aumentos de volume da glândula mamária e linfonodos mamários em vacas. As avaliações histopatológicas e imuno-histoquímica são fundamentais para o diagnóstico definitivo.

MANUFACTURERS

¹Wcor Corantes. São Paulo, SP, Brazil.

²Vetec Química Fina Ltda. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

³Dako. Carpinteria, CA, USA.

⁴Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- Bastianello S.S. 1983.** A survey of neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the Republic of South Africa. IV. Tumours occurring in Equidae. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. 50(4): 91-96.
- Bastianello S.S. 1982.** A survey of neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935-1974 in the Republic of South Africa. I. Tumours occurring in cattle. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. 49(1): 195-204.
- Bastianello S.S. 1982.** A survey of neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the Republic of South Africa. II. Tumours occurring in sheep. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. 49(2): 205-209.
- Bastianello S.S. 1983.** A survey of neoplasia in domestic animal species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the Republic of South Africa. III. Tumours occurring in pigs and goats. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. 50(3): 25-28.
- Beamer P.D. & Simon J. 1983.** Mammary carcinoma in a cow. *Veterinary Pathology*. 20(4): 509-510.
- Figuera R.A. & Graça D.L. 2016.** Sistema Hematopoiético. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.375-422.
- Goldschmidt M., Penã L., Rasotto R. & Zappulli V. 2011.** Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*. 48(1): 117-131.

- 8 Lester S.C. 2015. The breast. In: Kumar V., Abbas A.K. & Aster J.C. (Eds). *Robbins and Cotran Pathological Basis of Disease*. 9th edn. Philadelphia: Elsevier Saunders, pp.1343-1070.
- 9 Lucena R.B., Rissi D.R., Kommers G.D., Pierezan F., Oliveira-Filho J.C., Macedo J.T.S.A., Flores M.M. & Barros C.S.L. 2011. A retrospective study of 586 tumors in Brazilian cattle. *Journal Comparative Pathology*. 145(1): 20-24.
- 10 Mosier D.A. 2013. Doenças Vasculares e Trombose. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds). *Bases da Patologia em Veterinária: Adaptado a Realidade Brasileira*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, pp.60-88.
- 11 Munson L. 1987. Carcinoma of the mammary gland in a mare. *Journal American Veterinary Medical Association*. 191(1): 71-72.
- 12 Ohfuji S. 2012. Secretory carcinoma of the mammary gland in an 8-year-old Holstein-Friesian dairy cow. *Veterinary Quarterly*. 32(2): 113-115.
- 13 Petrites-Murphy M.B. 1992. Mammary carcinoma with peritoneal metastasis in a cow. *Veterinary Pathology Online*. 29(6): 552-553.
- 14 Santos R.L., Nascimento E.F. & Edwards J.F. 2016. Sistema Reprodutivo Feminino. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.791-793.
- 15 Reppas G.P., McClintock S.A., Canfield P.J. & Watson G.F. 1996. Papillary ductal adenocarcinoma in the mammary glands of two horses. *Veterinary Records*. 138(21): 518-519.
- 16 Seahorn T.L., Hall G., Brumbaugh G.W., Honnas C.M., Lovering S.L. & Snyder J.R. 1992. Mammary adenocarcinoma in four mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 200(11): 1675-1677.
- 17 Singh B. & Iyer P.K.R. 1972. Mammary intraductal carcinoma in goats (*Capra hircus*). *Veterinary Pathology Online*. 9(6): 441-446.
- 18 Tavasoly A., Golshahi H., Rezaie A. & Farhadi M. 2013. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. *Veterinary Research Forum*. 4(1): 25-30.
- 19 Tessele B., Rissi D.R., Langohr I.M., Vielmo A. & Barros C.S.L. 2015. Mixed apocrine adenocarcinoma of the tail in a cow. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 8(2): 72-75.
- 20 Tessele B. & Barros C.S.L. 2016. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 36(3): 145-160.
- 21 Prpar-Mihevc P.S. & Dovc P. 2013. Mammary tumors in ruminants. *Acta Argiculture Slovenica*. 102(2): 83-86.
- 22 Piva M.M., Schwertz C.I., Henker L.C., Millán Y., Las Mulas J.M., Stedille F.A., Christ R., Gabriel M.E., Silva T.M.A., Couto C., Casagrande R.A., Medeiros D.S. & Mendes R.E. 2017. Metastatic mammary carcinoma in a cow. *Ciência Rural*. 47(7): 2016-0736.
- 23 Povey R.C. & Osborne A.D. 1969. Mammary Gland Neoplasia in the Cow A Review of the Literature and Report of a Fibrossarcoma. *Pathology Veterinary*. 6(6): 502-512.
- 24 Sweet W.W., Matthews C.A. & Graves R.R. 1940. Extreme rarity of cancer in cow's udder. *Journal Dairy Science*. 23(5): 437-446.

