



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Avaliação de Rácios Hematológicos em Tumores Mamários Felinos

Francisco Rafael de Almeida Malhão

Coimbra, junho de 2022



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Avaliação de Rácios Hematológicos em Tumores Mamários Felinos

Coimbra, junho de 2022

Francisco Rafael de Almeida Malhão

Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Prof.^a Doutora Sofia Alexandra

Giestas Cancela Duarte

Arguente: Prof.^a Doutora Ana Cristina Silvestre

Ferreira

Orientador: Prof. Doutor Hugo Corte-Real Vilhena

Orientador Interno

Prof. Doutor Hugo Vilhena

Coorientador Interno

Prof.^a Doutora Liliana Montezinho

Dr. ^o Gonçalo Petrucci

Orientador Externo

Dr.^a Manuela Cardoso

(Clínica Veterinária de Pereira)

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Medicina
Veterinária na EUVG

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer ao meu orientador Professor Doutor Hugo Vilhena e aos meus Coorientadores Professora Liliana Montezinho e Doutor Gonçalo Petrucci, sem os quais esta dissertação não seria possível. Obrigada pelo apoio e disponibilidade em ajudar.

Um grande obrigado à Clínica Veterinária de Pereira por me terem recebido tão bem durante estes meses de estágio curricular. Ter escolhido este local para estagiar foi uma das minhas melhores escolhas porque encontrei pessoas fantásticas e com muito para transmitir.

Aos meus amigos de faculdade por termos feito este percurso juntos. São a família de faculdade desde o início, não os trocaria por nada.

À Joana, por todas as conversas e desabafos, pelo companheirismo, amizade e apoio nos momentos necessários.

Aos meus pais, por acreditarem nas minhas capacidades e sem os quais este sonho não se teria tornado realidade. Obrigado por todos os conselhos, por todo o apoio, por todo o suporte.

A toda a minha família, pelo apoio e por sempre acreditarem que seria possível.

Índice Geral

Agradecimentos.....	iii
Índice de Tabelas.....	iv
Lista de Abreviaturas.....	v
Página de Título.....	1
Resumo.....	2
Palavras-chave.....	2
Abstract.....	3
Keywords.....	3
Introdução.....	4
Materiais e Métodos.....	5
Resultados.....	6
Discussão.....	10
Conclusão.....	13
Referências Bibliográficas.....	14

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Caracterização da população em estudo.....	6
Tabela 2 - Parâmetros e rácios hematológicos das gatas com tumores mamários malignos.....	8
Tabela 3 – Alterações hematológicas em gatas com tumores de mama incluídas no estudo.....	9
Tabela 4 - Valores da probabilidade de significância (P) no prognóstico dos diferentes rácios hematológicos analisados sobre o intervalo livre de doença e o tempo de sobrevivência.....	9

Lista de Abreviaturas

CCS – Contagem de Células Sanguíneas

DFI – Intervalo Livre de Doença (do inglês, *Disease Free Interval*)

HRR – Rácio hemoglobina-amplitude de Distribuição dos Eritrócitos (do inglês *hemoglobin-red cell distribution width ratio*)

HVB – Hospital Veterinário de Berna

HVBV – Hospital Veterinário do Baixo Vouga

HVP – Hospital Veterinário do Porto

HVUC – Hospital Veterinário Universitário de Coimbra

LMR – Rácio linfócito-monócito (do inglês *lymphocyte-monocyte ratio*)

LRR – Rácio linfócito-eritrócitos (do inglês *lymphocyte-erythrocyte ratio*)

NLR – Rácio neutrófilo-linfócito (do inglês *neutrophil-lymphocyte ratio*)

NRR – Rácio neutrófilo-eritrócitos (do inglês *neutrophil-erythrocyte ratio*)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PLR – Rácio plaquetas-linfócito (do inglês *platelet-lymphocyte ratio*)

RBC – Eritrócitos (do inglês *Red Blood Cell*)

RDW – Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos (do inglês *Red Cell Distribution Width*)

RPR – Rácio Amplitude de distribuição dos eritrócitos-plaquetas (do inglês *red cell distribution width-platelet ratio*)

TSS – Tempo de Sobrevida Tumoral Específica (do inglês *Tumour-specific Survival*)

Avaliação de Rácios Hematológicos em Tumores Mamários Felinos

Francisco Malhão^a, Liliana Montezinho^b, Gonçalo Petrucci^{b, c}, Hugo Vilhena^{b, d, e, f}

^a Department of Veterinary Sciences, Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (franciscomalhao_1710@hotmail.com)

^b Center for Investigation Vasco da Gama (CIVG), Department of Veterinary Sciences, Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Coimbra, Portugal (liliana.montezinho@euvg.pt; goncalo.petrucci@onevetgroup.pt; hugo.vilhena@euvg.pt)

^c Onevetgroup Veterinary Hospital of Porto (HVP), Porto, Portugal

^d Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), UTAD, Vila Real, Portugal

^e Onevetgroup University Veterinary Hospital of Coimbra (HVUC), Coimbra, Portugal

^f Associate Laboratory for Animal and Veterinary Science – AL4AnimalS, Portugal

Resumo

Os tumores mamários estão entre as neoplasias mais frequentes em gatas. Na sua maioria são malignos e apresentam um comportamento biológico agressivo, tendo a maioria dos animais afetados um curto período de sobrevivência após o diagnóstico. A determinação de fatores de prognóstico é importante em oncologia humana e veterinária, uma vez que é fundamental na predição da evolução da doença e para a determinação de decisões terapêuticas. Na prática clínica, principalmente em oncologia veterinária, a existência de fatores de prognóstico que sejam facilmente acessíveis, de fácil interpretação e que apresentem um baixo custo são extremamente importantes. Diferentes alterações nos parâmetros e raios hematológicos foram descritos como potenciais fatores de prognóstico em vários tumores em medicina humana e veterinária. No entanto, a informação disponível em oncologia felina é escassa. Este estudo teve como objetivo avaliar o valor prognóstico de diferentes raios hematológicos (ráio neutrófilo-linfócito, ráio eritrócito-plaquetas, ráio hemoglobina-eritrócito, ráio plaqueta-linfócito, ráio linfócito-monócito, ráio linfócito-eritrócito e ráio neutrófilo-eritrócito), em carcinomas mamários felinos. Para este estudo foram selecionadas 66 gatas apresentadas em cinco centros de atendimento médico-veterinário de Portugal no período entre 2015 e 2021 com diagnóstico de carcinoma mamário em estadio clínico I, II e III (determinado de acordo com a classificação modificada da Organização Mundial de Saúde) e que foram submetidas a mastectomia. As medianas do tempo livre de doença (DFI) e do tempo de sobrevivência tumoral específica (TSS) da população em estudo foram de 285 dias e 414 dias, respetivamente. A estatística univariada mostrou que valores mais elevados do ráio neutrófilo-eritrócito (NRR) ($NRR > 0,75$) estavam significativamente associados a um menor tempo de sobrevivência dos animais ($p=0,001$). Os nossos resultados sugerem que o NRR pode ser utilizado como marcador de prognóstico pré-cirúrgico não invasivo. No entanto mais estudos são necessários para comprovar o uso clínico como biomarcador de prognóstico de carcinomas mamários felinos.

Palavras-Chaves

Carcinoma mamário, fatores de prognóstico, gata, raios hematológicos, ráio neutrófilo-eritrócito

Abstract

Mammary tumors are among the most frequent neoplasms in cats. Most are malignant and have an aggressive biological behavior, with most affected animals having a short survival period after diagnosis. The determination of prognostic factors is important in human and veterinary oncology, as it is fundamental in predicting the course of the disease and for determining therapeutic decisions. In clinical practice, especially in veterinary oncology, the existence of prognostic factors that are easily accessible, easy to interpret and have a low cost are extremely important. Different changes in hematological parameters and ratios have been described as potential prognostic factors in various tumors in human and veterinary medicine. However, the information available in feline oncology is scarce. This study aimed to evaluate the prognostic value of different hematological ratios (neutrophil-lymphocyte ratio, erythrocyte-platelet ratio, hemoglobin-erythrocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, lymphocyte-erythrocyte ratio and neutrophil-erythrocyte ratio), in feline mammary carcinomas. For this study, 66 cats presented at five veterinary medical care centers in Portugal between 2015 and 2021 with a diagnosis of breast carcinoma in clinical stages I, II and III (determined according to the modified classification of the World Health Organization) were selected.) and who underwent mastectomy. The median disease-free time (DFI) and tumor-specific survival time (TSS) of the study population were 285 days and 414 days, respectively. Univariate statistics showed that higher values of the neutrophil-erythrocyte ratio (NRR) ($NRR > 0.75$) were significantly associated with a shorter animal survival time ($p = 0.001$). Our results suggest that the NRR can be used as a non-invasive pre-surgical prognostic marker. However, more studies are needed to prove its clinical use as a prognostic biomarker of feline mammary carcinomas.

Keywords

Cat, hematological ratios, mammary tumours, prognostic factors, neutrophil-erythrocyte ratio

1. Introdução

Os tumores mamários estão entre as neoplasias mais frequentes em gatas, contando com uma incidência de aproximadamente 25 casos por cada 100000 gatas por ano (Egenvall *et al.*, 2010). Cerca de 80% dos tumores mamários felinos são malignos, sendo que a maioria destes apresenta um comportamento agressivo e mau prognóstico, tendo os animais afetados uma taxa de sobrevivência inferior a um ano mesmo após tratamento agressivo (Millanta *et al.*, 2002; Vilhena *et al.*, 2021). Esta taxa de sobrevivência depende de vários fatores clínicos e histopatológicos, tais como o tamanho do tumor, a presença de metástases, a invasão linfovascular, o índice mitótico e o grau histológico, entre outros (Weijer and Hart, 1983, Seixas *et al.*, 2007, Seixas *et al.*, 2011). Estes fatores de prognóstico ajudam os tutores e os médicos veterinários a tomar decisões relacionadas com opções de terapias mais agressivas ou fim de vida do animal (Zappulli *et al.*, 2015).

Atualmente, a avaliação do prognóstico de gatas com tumores mamários felinos baseia-se em parâmetros clínicos, histopatológicos e moleculares (Haynes *et al.*, 1981; Seixas *et al.*, 2011; Zappulli *et al.*, 2015), no entanto, estes são limitados e, muitas vezes, falham na avaliação de doentes de baixo e alto risco. É necessário incluir parâmetros capazes de avaliar o sistema imunitário como a contagem de células sanguíneas (CCS) que é frequentemente realizada na prática clínica. Esta análise engloba as medições dos glóbulos brancos, glóbulos vermelhos e plaquetas, e índices hematológicos associados. A CCS, bem como a análise de diversos raios hematológicos, tais como o raio neutrófilo-linfócito (NLR), o raio plaquetas-linfócito (PLR), o raio linfócito-monócito (LMR), entre outros, poderão constituir biomarcadores importantes no prognóstico de doentes oncológicos (Takeuchi *et al.*, 2016; Tan *et al.*, 2016; Sun and Zhang, 2018). Adicionalmente, estas análises apresentam um risco baixo para o animal e um baixo custo associado, pelo que poderão ser clinicamente muito úteis (Sylman *et al.*, 2018).

Em medicina humana, diversas alterações hematológicas e diferentes raios hematológicos, tais como o PLR, o LMR e o NLR foram descritos como fatores de prognóstico em vários tipos de tumores (Nishijima *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2016; Sun and Zhang, 2018; Tadmor *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2016; Mu *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019), incluindo o raio LMR em tumores de mama (Ni *et al.*, 2014). A informação relacionada com o valor prognóstico das alterações hematológicas e os raios hematológicos, em oncologia felina é escassa (Petrucci *et al.*, 2021; Naito *et al.*, 2021). Recentemente, foi descrito que valores mais elevados de NLR estavam associados a um aumento do risco de recorrência tumoral e da morte associada ao tumor em gatas com carcinomas mamários (Petrucci *et al.*, 2021; Naito *et al.*, 2021).

Este estudo retrospectivo teve como objetivo avaliar o valor prognóstico de diferentes raios hematológicos – NLR, LMR, PLR, raio amplitude de distribuição dos eritrócitos-plaqueta (RPR), raio hemoglobina-amplitude de distribuição dos eritrócitos (HRR), raio linfócito-eritrócito (LRR) e raio neutrófilo-eritrócito (NRR) – no carcinoma mamário felino.

2. Materiais e Métodos

Os animais incluídos no estudo foram recrutados através da consulta das bases de dados clínicos de cinco centros de atendimento médico-veterinários de Portugal, nomeadamente do OneVetgroup Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), do OneVetgroup Hospital Veterinário de Berna (HVB), do OneVetgroup Hospital Veterinário do Porto (HVP), do OneVetgroup Hospital Veterinário do Baixo Vouga (HVBV) e do OneVetgroup Policlínica Veterinária de Aveiro, no período entre 2015 e 2021. Foram selecionadas para este estudo gatas com confirmação histopatológica de carcinomas mamários que tenham sido excisados por mastectomia, as quais foram submetidas a estadiamento clínico completo, incluindo um hemograma completo pré-cirúrgico. As amostras de sangue total foram recolhidas para um tubo de EDTA e os parâmetros hematológicos foram determinados num analisador hematológico por citometria de fluxo validado para veterinária (BC 5000 VET, Mindray Corp) (Thongsahuan *et al.*, 2020). Foram excluídos do estudo animais em que não foi possível realizar o acompanhamento clínico, que tinham CCS realizados em equipamentos hematológicos diferentes, que apresentavam doenças concomitantes e que apresentavam carcinoma mamário em estadio clínico IV. Foram avaliados os registos médicos de 104 gatas com confirmação histopatológica de carcinoma mamário. Trinta e oito gatas não reuniam as condições de inclusão e foram excluídas (em 20 animais não foi possível realizar o acompanhamento clínico, 16 tinham CCS realizados em equipamentos hematológicos diferentes e duas tinham carcinoma mamária em estadio IV).

Das fichas médicas foram recolhidas a identificação do animal, os dados laboratoriais pré-cirúrgicos, o tipo de cirurgia realizado, o tratamento adjuvante administrado, as características clínicas e histopatológicas do tumor como o tipo histológico (determinado acordo com a classificação da OMS) (Misdorp *et al.*, 1977), o grau histológico (determinado de acordo com a classificação de Elston e Ellis, 2002), a invasão linfovascular e a evolução clínica. O estadio TNM foi determinado em todas as gatas de acordo com o sistema de estadiamento clínico da OMS modificado (McNeil *et al.*, 2009). O protocolo de acompanhamento pós-cirúrgico do animal recomendado consistiu num controlo um mês após a cirurgia, seguido de um controlo a cada três meses durante dois anos e, por fim, um controlo a cada seis meses durante um ano.

Os desfechos clínicos avaliados neste estudo foram o intervalo livre de doença (DFI) e o tempo de sobrevivência tumoral específica (TSS). O DFI foi definido pelo intervalo de tempo entre a mastectomia e a progressão tumoral (recorrência local, regional ou desenvolvimento de metástases à distância). O TSS foi definido pelo tempo entre a mastectomia e a morte relacionada com tumor.

As características do animal e do tumor foram descritas usando frequências para as variáveis qualitativas, e a média e o desvio padrão ou a mediana e o intervalo interquartil (IQR) para variáveis quantitativas. A transformação logarítmica foi usada para minimizar a distorção dos dados. A análise de sobrevivência foi realizada para o DFI e TSS. Os gatos foram censurados se foram perdidos durante o acompanhamento, se estavam vivos no final do estudo ou se não apresentaram progressão da doença no final do estudo. Os valores da mediana de cada rácio hematológico analisado foram usados como valores de corte para a análise da influência dos diferentes rácios hematológicos no DFI e TSS. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado para

significância estatística. A análise estatística foi realizada usando o software SPSS Statistics 26 (IMB, Nova Iorque, Estados Unidos da América).

3. Resultados

Na tabela 1 é apresentada a caracterização da população em estudo por raça, idade, estado reprodutivo, administração de progestagénios, número de lesões, ulceração, tamanho do tumor, invasão tumoral nos linfonodos regionais, estadió clínico e tipo de cirurgia (n=66).

Tabela 1 - Caracterização da população em estudo (n=66).

Parâmetro Avaliado		N (%)
Raça	Europeu Comum	62 (93,9%)
	Siamês	4 (6,1%)
Idade (anos)	Média	11,2
	Intervalo (mínimo-máximo)	4-18
Estado reprodutivo	Não castradas	30 (54,5%)
	Castradas	36 (45,5%)
Administração de progestagénios	Sim	18 (27,3%)
	Não	36 (54,5%)
	Desconhecido	12 (18,2%)
Número de tumores mamários	Um tumor	30 (45,4%)
	Vários tumores	36 (54,5%)
Ulceração	Sim	9 (13,6%)
	Não	57 (86,4%)
Tamanho do tumor*	< 2 cm	29 (43,9%)
	Entre 2 e 3 cm	16 (24,2%)
	> 3 cm	21 (31,8%)
Invasão tumoral nos linfonodos regionais	Sim	32 (48,5%)
	Não	34 (51,5%)
Estadió clínico	I	14 (21,2%)
	II	10 (15,2%)
	III	42 (63,6%)
Tipo de cirurgia	Mastectomia radical unilateral	23 (35,4%)
	Mastectomia radical bilateral	8 (12,3%)
	Mastectomia regional	34 (52,3%)
Tipo Histológico do tumor	Carcinoma tubulopapilar	36 (54,5%)
	Carcinoma sólido	16 (24,2%)
	Carcinoma cribiforme	9 (13,6%)
	Outros tipos**	5 (7,6%)
Grau Histológico	I	13 (19,7%)
	II	21 (31,8%)
	III	32 (48,5%)
Invasão linfovascular	Sim	20 (30,3%)
	Não	46 (69,7%)

*Em gatas com vários tumores, foi considerado a de maiores dimensões.

**Outros tipos de tumores: carcinoma mucinoso n=2, carcinosarcoma n=1, carcinoma micropapilar n=1, carcinoma ductal n=1

Os resultados dos diferentes parâmetros e rácios hematológicos das gatas incluídas no estudo são apresentados na tabela 2. Na tabela 3 estão apresentadas as frequências das altera es hematológicas observadas nas gatas avaliadas.

A progressão do tumor foi reportada em 39 (60%) gatas. Vinte e seis (66,6%) tiveram recorrência local. Ocorreu metástase   distância em 31 (79,4%) gatas, sendo que 25 (64,1%) desenvolveram metástases pulmonares, uma (2,5%) desenvolveu metástases na pleura e três (7,6%) desenvolveram metástases em múltiplos órgãos (pulmão, pleura e fígado). No final do estudo, 38 (57,6%) gatas tinham falecido devido a causa relacionadas com o tumor, sete (10,6%) gatas faleceram por causas não relacionadas com o tumor e 21 (31,8%) gatas estavam vivas. Os valores medianos para DFI e TSS foram, respetivamente, 285 dias e 414 dias.

Tabela 2 – Parâmetros e raios hematológicos das gatas com tumores mamários malignos (n=66).

	Val. Referência do aparelho	Média	Mediana	Amplitude (máximo-mínimo)	Mínimo	Máximo
NEU (x 10³/uL)	3,12 – 12,58	8,21	6,43	55,03	1,87	56,9
LIN (x 10³/uL)	0,73 – 7,86	2,02	1,89	5,62	0,37	5,99
MON (x 10³/uL)	0,07 – 1,36	0,34	0,15	3,74	0,02	3,76
RBC (x 10⁶/uL)	4,60 – 10,20	8,38	8,50	8,13	3,39	11,52
HGB (g/dl)	8,5 – 15,3	12,15	12,30	11,40	5,30	16,70
RDW (%)	16,0 – 23,0	19,18	18,5	12,00	14,70	26,70
PLT (x 10³/uL)	100 - 518	201,27	178,50	457,00	38,00	495,00
NLR	-	5,54	3,37	32,01	0,94	32,96
RPR	-	0,13	0,1	0,52	0,03	0,55
HRR	-	6,42	6,58	7,19	2,75	9,94
PLR	-	144,7	99,68	762,03	12,97	775,00
LMR	-	16,43	12,95	51,81	0,36	52,16
LRR	-	0,25	0,22	0,84	0,05	0,89
NRR	-	1,08	0,75	8,7	0,21	8,92

NEU, neutrófilos; LIN, linfócitos; MON, monócitos; RBC, células vermelhas; HGB, hemoglobina; RDW, variação de tamanho das células vermelhas; PLT, plaquetas; NLR; rácio neutrófilo-linfócito; RPR, rácio RDW- plaquetas; HRR, rácio hemoglobina-RDW; PLR, rácio plaquetas-linfócito; LMR, rácio linfócito-monócito; LRR, rácio linfócito-RBC; NRR, rácio neutrófilo-RBC

Tabela 3 – Alterações hematológicas em gatas com tumores de mama incluídas no estudo (n=66).

	Val. Referência	Valores normais (n)	Valores superiores ao valor de referência (n)	Valores inferiores ao valor de referência (n)
NEU (x 10³/uL)	3,12 – 12,58	53	9	4
MON (x 10³/uL)	0,07 – 1,36	50	3	13
LINF (x 10³/uL)	0,73 – 7,86	62	0	4
RBC (x 10⁶/uL)	4,60 – 10,20	57	8	1
HGB (g/dl)	8,5 – 15,3	60	3	3
RDW (%)	16 – 23	54	6	6
PLT (x 10³/uL)	100 – 518	55	0	11

NEU, neutrófilos; LIN, linfócitos; MON, monócitos; RBC, células vermelhas; HGB, hemoglobina; RDW, variação de tamanho das células vermelhas; PLT, plaquetas

A análise estatística univariada da potencial influência dos diferentes rácios hematológicos no DFI e TSS estão apresentados na Tabela 4. O valor de corte utilizado em cada parâmetro foi a sua respetiva mediana. O NRR foi o único rácio hematológico determinado no momento do diagnóstico a apresentar valor prognóstico significativo em gatas com carcinoma mamários, indicando que gatas com um valor >0,75 (n=33) apresentam um período de sobrevivência mediano de 443 dias ($p < 0,001$) enquanto que gatas com valores inferiores (n=33) tem um período de sobrevivência mediano de 678 dias.

Tabela 4 - Valores de cut-off e da probabilidade de significância (P) no prognóstico dos diferentes rácios hematológicos analisados sobre o intervalo livre de doença e o tempo de sobrevivência (n=66).

	Valor de corte	DFI	TSS
NLR	3,37	0,411	0,194
RPR	0,10	0,821	0,732
HRR	6,58	0,397	0,256
PLR	99,67	0,656	0,986
LMR	12,95	0,982	0,983
LRR	0,22	0,696	0,346
NRR	0,75	0,073	0,001

Nota: Os valores a negrito são os resultados com significância ($p < 0,05$)

DFI, intervalo livre de doença; TSS, tempo de sobrevivência tumoral específica; NLR, rácio neutrófilo-linfócito; RPR, rácio RDW-plaquetas; HRR, rácio hemoglobina-RDW; PLR, rácio plaquetas-linfócito; LMR, rácio linfócito-monócito; LRR, rácio linfócito-RBC; NRR, rácio neutrófilo-RBC

4. Discussão

No presente estudo, foram analisados diferentes rácios hematológicos no momento do diagnóstico de 66 gatas com carcinomas mamários em estdio clínico I, II e III. Que tenhamos conhecimento, este estudo descreve pela primeira vez a avaliação do valor prognóstico de diferentes rácios hematológicos em gatas com tumores mamários malignos, nomeadamente do NLR, LMR, PLR, RPR, HRR, LRR e NRR.

A determinação do prognóstico é importante em oncologia humana e veterinária, uma vez que é fundamental na predição da evolução da doença e para a determinação de decisões terapêuticas. Na prática clínica, principalmente em oncologia veterinária, a existência de fatores de prognóstico que sejam facilmente acessíveis, de fácil interpretação e que apresentem um baixo custo são extremamente importantes. As alterações hematológicas são frequentemente descritas em oncologia humana e veterinária, e diversos estudos já demonstraram que diversas alterações hematológicas e os rácios hematológicos determinados no momento do diagnóstico ou durante o curso da doença possuem valor clínico prognóstico (Nishijima *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2016; Sun and Zhang, 2018; Tadmor *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2016; Mu *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019).

Como já referido anteriormente, os tumores de mama são das neoplasias mais frequentes em gatas, e destes, a maioria são malignos e apresentam um comportamento agressivo (Millanta *et al.*, 2002; Vilhena *et al.*, 2021). Apesar de na maioria dos casos o tempo de sobrevivência após o diagnóstico ser reduzido, mesmo após tratamento agressivo, os tempos de sobrevida relatados em gatas com tumores mamários malignos variam significativamente de alguns dias a vários anos (Viste *et al.*, 2002; Preziosi *et al.*, 2002). Por esse motivo, a determinação de fatores de prognóstico em gatas com carcinomas mamários é muito importante em termos clínicos. Apesar de alguns estudos já terem demonstrado que as alterações hematológicas e os rácios hematológicos apresentam valor prognóstico em gatas com tumores mamários malignos (Petrucci *et al.*, 2021; Naito *et al.*, 2021), a informação é ainda muito escassa.

De acordo com os nossos resultados, o NRR mostrou ser um potencial biomarcador do prognóstico do tempo de sobrevivência em gatas com carcinoma mamário em estdios clínicos I, II e III após realização de mastectomia, sendo que gatas com valores de NRR superiores a 0,75 estão associados a um menor tempo mediano de sobrevivência (443 dias) do que gatas com valores inferiores (678 dias).

Atualmente, é reconhecido que a resposta inflamatória tem um papel crítico na progressão tumoral e que pode influenciar a sobrevivência dos pacientes oncológicos (Coussens and Werb, 2002). Elevadas contagens de neutrófilos e plaquetas, baixos lincitos e, também, elevado NLR, PLR e baixo LMR foram associados a prognósticos desfavoráveis em vários tumores sólidos em medicina humana (Sun and Zhang, 2018).

Os neutrófilos produzem citocinas e moléculas efectoras, como o fator de crescimento endotelial vascular, que estimula a anginese tumoral, o crescimento da neoplasia e a metastização (Kusumanto *et al.*, 2003). Os neutrófilos ativados podem migrar até ao nicho tumoral onde libertam grandes quantidades de espécies reativas de oxignio que promovem dano no ADN celular e instabilidade genética, levando ao

aparecimento de adenomas no microambiente tumoral (Sylman *et al.*, 2018). Também têm um papel anti tumoral através da citotoxicidade, direta ou mediada por anticorpos, nas células tumorais e da ativação de células do sistema imunitário como as células T e as células dendríticas (Sylman *et al.*, 2018). Os neutrófilos podem ser ativados por citocinas derivadas das células tumorais como os fatores de crescimento mielóides, a IL-10, a IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (Sylman *et al.*, 2018). Estudos recentes, mostraram que um valor mais elevado de NLR está associado a um pior prognóstico para carcinoma mamário felino (Petrucci *et al.*, 2021; Naito *et al.*, 2021). No entanto, no presente estudo, o NLR não mostrou potencial como biomarcador de prognóstico do carcinoma mamário felino. De acordo com a nossa opinião, esta diferença pode ser devida a dois fatores principais. O facto de termos usado o valor da mediana do NLR das gatas incluídas neste estudo como o valor de corte; eventualmente a análise de outros valores de corte poderiam permitir obter resultados diferentes. Outro fator é o facto de as populações em estudo serem diferentes. Apesar de essa análise não ter sido realizada, é possível que a avaliação de duas populações diferentes, que apresentem tumores em diferentes estadios clínicos, possa ter influenciado os resultados, e possa justificar as diferenças observadas entre estudos.

Apesar de o papel dos neutrófilos na progressão do tumor estar pouco compreendido, eles desempenham uma função importante na inflamação associada ao tumor, devido ao facto de conseguirem redirecionar a resposta inflamatória para uma ação anti- ou pró-tumoral (Shaul and Fridlender, 2018). Os neutrófilos associados ao tumor (TAN), podem alterar o seu fenótipo para um tipo anti-tumoral (N1) ou para um tipo pró-tumoral (N2) (Mishalian *et al.*, 2017). Vários mecanismos moleculares têm impacto no balanço entre estas duas funções. Os neutrófilos são recrutados em resposta a citocinas específicas do tumor como a IL-6 e o interferão gama (Shaul and Fridlender, 2018). Estes neutrófilos ativados podem promover o crescimento e a progressão tumoral convertendo células cancerígenas senescentes em células cancerígenas proliferativas (Coffelt *et al.*, 2016). Podem ainda inibir a atividade citotóxica das células do sistema imunitário como os linfócitos T, o que origina uma diminuição da resposta imunitária anti-tumoral do doente, e pode agravar o prognóstico (Tsuda *et al.*, 2012).

Os neutrófilos circulantes são uma fonte de TAN e podem aumentar com o desenvolvimento do tumor, em resposta a citocinas tumorais como IL8 e o fator de estimulação de colónias de granulócitos (Coffelt *et al.*, 2016). O duplo papel presente nos TAN também está descrito nos neutrófilos circulantes, havendo duas frações: uma de alta densidade (HDN) com capacidade citotóxica e uma de baixa densidade (LDN) que promove o desenvolvimento tumoral e inibe células imunes (Shaul and Fridlender, 2018). O nosso estudo levanta a hipótese de que os neutrófilos circulantes podem estar envolvidos na carcinogénese tumoral nos carcinomas mamário, no entanto são necessários estudos futuros para confirmar esta hipótese.

Em medicina humana, um elevado valor de PLR parece estar associado a um menor intervalo livre de doença (Takeuchi *et al.*, 2016) e a um menor tempo de sobrevivência em doentes com carcinoma das células escamosas do esófago (Sun and Zhang, 2018). Tal resultado é possível porque as plaquetas favorecem o extravasamento das células tumorais por libertação de metaloproteases e promovem a angiogénese tumoral e o crescimento das metástases através de fatores de crescimento (Bambace and Holmes, 2011). As

plaquetas também protegem as células tumorais em circulação das células T-*killer*. Os linfócitos induzem citotoxicidade e inibem a proliferação e migração das células tumorais (Sylman *et al.*, 2018).

A diminuição da hemoglobina pode refletir um estado de desnutrição, pelo que haverá uma menor tolerância ao tratamento. Um aumento do RDW está associado a um pior prognóstico no tempo de sobrevivência (Sun *et al.*, 2016) mas o estudo publicado por Seretis *et al.* (2013) relaciona-o inversamente com o grau de malignidade. O rácio hemoglobina-RDW (HRR) quando diminuído está associado a um aumento no estadio do tumor pulmonar das células não pequenas em humanos (Chen *et al.*, 2020). O aumento do rácio RDW-plaquetas (RPR) está relacionado com um prognóstico desfavorável em tumores mamários da mulher (Takeuchi *et al.*, 2019).

Uma diminuição dos rácios linfócito-RBC (LRR) e neutrófilo-RBC (NRR), no momento do diagnóstico está associada a um maior DFI em mulheres com tumores mamários (Wang *et al.*, 2019).

Os linfócitos fazem parte da resposta anti-tumoral humoral e celular, o que explica que uma diminuição do número de linfócitos esteja associada a uma menor taxa de sobrevivência em vários tipos de tumores (Nishijima *et al.*, 2015). Os monócitos são recrutados para o local do tumor onde alteram o microambiente tumoral para promover a progressão do tumor através da supressão local do sistema imunitário e da angiogénese (Pan *et al.*, 2018). Em medicina humana, está descrito que um aumento do rácio LMR está associado a um aumento do DFI em tumores mamários (Ni *et al.*, 2014) enquanto que para o carcinoma das células escamosas do esófago uma diminuição está associada a um menor tempo de sobrevivência (Sun and Zhang, 2018).

Será necessário fazer, num futuro próximo, uma avaliação destes dois fatores para avaliar estas diferenças entre estudos.

Os nossos resultados não permitem também corroborar os resultados obtidos noutros estudos que avaliaram o valor prognóstico dos rácios hematológicos em doentes oncológicos (Nishijima *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2016; Sun and Zhang, 2018; Tadmor *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2016; Mu *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019), possivelmente pelas diferenças existentes entre diferentes tumores, por termos utilizado um valor de corte diferente, pelos restritos critérios de inclusão ou pelo tamanho da amostra.

São necessários mais estudos para corroborar os resultados aqui obtidos para o carcinoma mamário felino e para outros tipos de tumores, para determinar um valor de corte mais preciso e assim conhecer melhor o valor clínico destes rácios hematológicos no prognóstico dos tumores mamários felinos e de outros tumores felinos. Será necessário também conhecer melhor as funções das diferentes células avaliadas na carcinogénese de diferentes tumores, e como é que o seu comportamento durante o processo tumoral pode afetar os rácios avaliados.

5. Conclusão

Este estudo avaliou diferentes rácios hematológicos determinados no momento do diagnóstico em gatas com tumores mamários malignos, com o objetivo de avaliar o seu valor prognóstico. Que tenhamos conhecimento, este é o primeiro estudo a descrever o NRR como potencial biomarcador de prognóstico do TSS em carcinomas mamários felinos. Este é um parâmetro que pode ser obtido facilmente,   minimamente invasivo e de baixo custo. São, no entanto, necessários mais estudos para corroborar os resultados aqui obtidos e para determinar um valor de corte mais preciso.

Referências Bibliográficas

Bambace, N. M., & Holmes, C. E. (2011). The platelet contribution to cancer progression. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9(2), 237–249. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.04131.x>

Chen, Y., Zhang, Z., Fang, Q., & Jian, H. (2019). Prognostic impact of platelet-to-lymphocyte ratio on diffuse large B-cell lymphoma: A meta-analysis. *Cancer Cell International*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0962-3>

Coffelt, S. B., Wellenstein, M. D., & de Visser, K. E. (2016). Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nature reviews. Cancer*, 16(7), 431–446. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.52>

Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature01322>

Egenvall, A., Bonnett, B. N., Häggström, J., Ström Holst, B., Möller, L., & Nødtvedt, A. (2010). Morbidity of insured Swedish cats during 1999-2006 by age, breed, sex, and diagnosis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(12), 948–959. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2010.08.008>

Elston, C. W., & Ellis, I. O. (2002). 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*, 41(3A), 154–161.

Hayes, H. M., Jr, Milne, K. L., & Mandell, C. P. (1981). Epidemiological features of feline mammary carcinoma. *The Veterinary record*, 108(22), 476–479. <https://doi.org/10.1136/vr.108.22.476>

Kusumanto, Y. H., Dam, W. A., Hospers, G. A. P., Meijer, C., & Mulder, N. H. (2003). Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis*, 6(4), 283–287. <https://doi.org/10.1023/B:AGEN.0000029415.62384.ba>

McNeill, C. J., Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., Gibeon, L., Durham, A. C., Barber, L. G., Baez, J. L., & Overley, B. (2009). Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(1), 123–129. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0244.x>

Millanta, F., Lazzeri, G., Mazzei, M., Vannozzi, I., & Poli, A. (2002). MIB-1 Labeling Index in Feline Dysplastic and Neoplastic Mammary Lesions and Its Relationship with Postsurgical Prognosis. *Veterinary Pathology*, 39(1), 120–126. <https://doi.org/10.1354/vp.39-1-120>

Misdorp W, Else RW, Hellmén, E, Lipscomb, TP. (1977) Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat In: World Health Organization, ed. International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. Second ser. Vol 7. Washington. DC USA, Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology; 1999:11–56.

Mishalian, I., Granot, Z., & Fridlender, Z. G. (2017). The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology*, 222(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2016.02.001>

Mu, S., Ai, L., Fan, F., Qin, Y., Sun, C., & Hu, Y. (2018). Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in diffuse large B cell lymphoma patients: An updated dose-response meta-analysis. *Cancer Cell International*, 18(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0609-9>

Naito, E., Yuki, M., Hirano, T., Kainuma, D., & Aoyama, R. (2021). Prognostic utility of preoperative neutrophil–lymphocyte ratio in cats with malignant mammary tumors. *Research in Veterinary Science*, 135, 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.015>

Ni, X. J., Zhang, X. L., Ou-Yang, Q. W., Qian, G. W., Wang, L., Chen, S., Jiang, Y. Z., Zuo, W. J., Wu, J., Hu, X., & Shao, Z. M. (2014). An elevated peripheral blood lymphocyte-to-monocyte ratio predicts favorable response and prognosis in locally advanced breast cancer following neoadjuvant chemotherapy. *PLoS ONE*, 9(11), 7–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111886>

Nishijima, T. F., Muss, H. B., Shachar, S. S., Tamura, K., & Takamatsu, Y. (2015). Prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews*, 41(10), 971–978. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.10.003>

Pan, Y. C., Jia, Z. F., Cao, D. H., Wu, Y. H., Jiang, J., Wen, S. M., Zhao, D., Zhang, S. L., & Cao, X. Y. (2018). Preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) could independently predict overall survival of resectable gastric cancer patients. *Medicine (United States)*, 97(52), 1–7. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000013896>

Petrucci, G. N., Lobo, L., Queiroga, F., Martins, J., Prada, J., Pires, I., & Henriques, J. (2021). Neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent prognostic marker for feline mammary carcinomas. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19(3), 482–491. <https://doi.org/10.1111/vco.12686>

Preziosi, R., Sarli, G., Benazzi, C., Mandrioli, L., & Marcato, P. S. (2002). Multiparametric survival analysis of histological stage and proliferative activity in feline mammary carcinomas. *Research in Veterinary Science*, 73(1), 53–60. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00042-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00042-5)

Seixas, F., Palmeira, C., Pires, M. A., & Lopes, C. (2007). Mammary invasive micropapillary carcinoma in cats: clinicopathologic features and nuclear DNA content. *Veterinary pathology*, 44(6), 842–848. <https://doi.org/10.1354/vp.44-6-842>

Seixas, F., Palmeira, C., Pires, M. A., Bento, M. J., & Lopes, C. (2011). Grade is an independent prognostic factor for feline mammary carcinomas: A clinicopathological and survival analysis. *Veterinary Journal*, 187(1), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.030>

Seretis. (2013). Is Red Cell Distribution Width a Novel Biomarker of Breast Cancer Activity? Data From a Pilot Study. *Journal of Clinical Medicine Research*, 5(2), 121–126. <https://doi.org/10.4021/jocmr1214w>

Shaul, M. E., & Fridlender, Z. G. (2018). Cancer-related circulating and tumor-associated neutrophils - subtypes, sources and function. *The FEBS journal*, 285(23), 4316–4342. <https://doi.org/10.1111/febs.14524>

Sun, P., Zhang, F., Chen, C., Bi, X., Yang, H., An, X., Wang, F., & Jiang, W. (2016). The ratio of hemoglobin to red cell distribution width as a novel prognostic parameter in esophageal squamous cell carcinoma: A retrospective study from southern China. *Oncotarget*, 7(27), 42650–42660. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9516>

Sun, Y., & Zhang, L. (2018). The clinical use of pretreatment NLR, PLR, and LMR in patients with esophageal squamous cell carcinoma: Evidence from a meta-analysis. *Cancer Management and Research*, 10, 6167–6179. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S171035>

Sylman, J. L., Mitrugno, A., Atallah, M., Tormoen, G. W., Shatzel, J. J., Yunga, S. T., Wagner, T. H., Leppert, J. T., Mallick, P., & McCarty, O. J. T. (2018). The predictive value of inflammation-related peripheral blood measurements in cancer staging and prognosis. *Frontiers in Oncology*, 8(MAR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00078>

Tadmor, T., Bari, A., Sacchi, S., Marcheselli, L., Liardo, E. V., Avivi, I., Benyamini, N., Attias, D., Pozzi, S., Cox, M. C., Baldini, L., Brugiattelli, M., Federico, M., & Polliack, A. (2014). Monocyte count at diagnosis is a prognostic parameter in diffuse large B-cell lymphoma: Results from a large multicenter study involving 1191 patients in the pre- and post-rituximab era. *Haematologica*, 99(1), 125–130. <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.088161>

Takeuchi, H., Abe, M., Takumi, Y., Hashimoto, T., Miyawaki, M., Okamoto, T., & Sugio, K. (2019). Elevated red cell distribution width to platelet count ratio predicts poor prognosis in patients with breast cancer. *Scientific Reports*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40024-8>

Takeuchi, H., Fukuyama, S., Kubo, N., Hiroshige, S., Kawanaka, H., Yoshikawa, Y., & Yano, T. (2016). The Prognostic Significance of the Preoperative Platelet-Lymphocyte Ratio in Japanese Patients with Localized Breast Cancer. *Advances in Breast Cancer Research*, 05(02), 49–57. <https://doi.org/10.4236/abcr.2016.52005>

Tan, D., Fu, Y., Su, Q., & Wang, H. (2016). Prognostic role of platelet–lymphocyte ratio in colorectal cancer. *Medicine*, 95(24), e3837. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003837>

Thongsahuan, S., Fonghoi, L., Kaewfai, S., & Srinoun, K. (2020). Precision and accuracy of the Mindray BC-5000Vet hematology analyzer for canine and feline blood. *Veterinary Clinical Pathology*, 49(2), 207–216. <https://doi.org/10.1111/vcp.12861>

Tsuda, Y., Fukui, H., Asai, A., Fukunishi, S., Miyaji, K., Fujiwara, S., Teramura, K., Fukuda, A., & Higuchi, K. (2012). An immunosuppressive subtype of neutrophils identified in patients with hepatocellular carcinoma. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 51(3), 204–212. <https://doi.org/10.3164/jcfn.12-32>

Vilhena H, Jesus J, Canadas-Sousa A, Pastorinho MR, Craveiro H, Dias-Pereira P, Figueira AC (2021) Characterization of feline spontaneous malignant mammary tumors – a 10-year multicenter retrospective study in Portugal. Abstracts of the European Society of Veterinary Oncology Annual Congress. *Vet Comp Oncol*, 2021:19:4-24. <https://doi.org/10.1111/vco.12764>

Viste, J. R., Myers, S. L., Singh, B., & Simko, E. (2002). Feline mammary adenocarcinoma: Tumor size as a prognostic indicator. *Canadian Veterinary Journal*, 43(1), 33–37. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb11342.x>

Wang, Y., Wang, H., Yin, W., Lin, Y., Zhou, L., Sheng, X., Xu, Y., Sha, R., & Lu, J. (2019). Novel lymphocyte to red blood cell ratio (LRR), neutrophil to red blood cell ratio (NRR), monocyte to red blood cell ratio (MRR) as predictive and prognostic biomarkers for locally advanced breast cancer. *Gland Surgery*, 8(6), 627–635. <https://doi.org/10.21037/gs.2019.10.10>

Weijer, K., & Hart, A. A. (1983). Prognostic factors in feline mammary carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 70(4), 709–716.

Xia, W. K., Lin, Q. F., Shen, D., Liu, Z. L., Su, J., & Mao, W. D. (2016). Prognostic significance of lymphocyte-to-monocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *FEBS Open Bio*, 6(6), 558–565. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12066>

Zappulli, V., Rasotto, R., Caliarì, D., Mainenti, M., Peña, L., Goldschmidt, M. H., & Kiupel, M. (2015). Prognostic Evaluation of Feline Mammary Carcinomas: A Review of the Literature. *Veterinary Pathology*, 52(1), 46–60. <https://doi.org/10.1177/0300985814528221>