

USO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTEROIDAIIS NO TRATAMENTO DE TUMORES MAMÁRIOS

Data de aceite: 01/08/2023

Liliana Ataídes Silva

Universidade de Rio Verde (UniRV), Rio Verde, GO, Brasil

Gabriel Augusto de Souza Alves Tavares

Universidade Federal de Jataí (UFJ), Jataí, GO, Brasil

Maria Cristina de Oliveira

Universidade de Rio Verde (UniRV), Rio Verde, GO, Brasil

RESUMO: O câncer de mama é uma das principais doenças que afetam tanto mulheres em todo o mundo. Existem fatores imunomarcadores fundamentais para o diagnóstico desse tipo de tumor, como a expressão da enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2). Esta revisão da literatura foi conduzida para demonstrar o efeito do uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES), inibidores da COX-2, no tratamento de câncer de mama. A expressão da COX-2 sustentada pela biossíntese da prostaglandina E-2 (PGE-2) está relacionada diretamente a promoção da carcinogênese mamária. A expressão de COX-2 ocorre em proporção maior em neoplasias mamárias malignas em

comparação a benignas em cadelas e quanto mais indiferenciada neoplasia, maior será a intensidade e frequência da expressão de COX-2 e menor taxa de sobrevivência. Os AINEs são medicamentos amplamente usados em humanos e em animais, para redução de sintomas como dor, febre e inflamações. Ao inibir a atividade da COX-2 e, conseqüentemente, a síntese de PGE2, os AINES podem ser ferramentas úteis como adjuvantes no tratamento de câncer mamário em cadelas e humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer de mama, marcadores tumorais, neoplasia, tumores, agentes anti-inflamatórios.

USE OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORIES IN THE TREATMENT OF BREAST TUMORS

ABSTRACT: Breast cancer is one of the main diseases affecting women in the world. There are immune markers fundamental for the diagnosis of this tumor type, such as the enzyme cyclo-oxygenase-2 (COX-2). This literature review was performed to show the effect of the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), COX-2 inhibitors, in the breast cancer treatment. The COX-2 expression supported by the

prostaglandin E-2 (PGE-2) is directly related to the promotion of mammary carcinogenesis. COX-2 expression occurs in a higher proportion in malignant mammary neoplasia compared to the benign ones in bitches, and the more undifferentiated is the neoplasia, the more will be the intensity and frequency of the COX-2 expression and lower the survival rate of the patients. NSAIDs are drugs widely used in humans and animals to reduce the symptoms as pain, fever and inflammation. By inhibiting the activity and expression of COX-2 and, consequently, the PGE-2 synthesis, NSAIDs can be useful tools as adjuvants in the treatment of mammary breast in animals and humans.

KEYWORDS: Breast cancer, tumor markers, neoplasia, tumors, anti-inflammatory.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia mais frequente em mulheres, causando grande número de mortes devido à doença. Novos modelos de câncer de mama, tais como cadelas, tem surgido dado a semelhança em muitos aspectos clínicos e moleculares de tumores mamários que se desenvolvem espontaneamente nestes animais com o câncer de mama em humanos (RAFFO-ROMERO et al., 2023).

Nesse sentido, a Medicina Veterinária também tem buscado uma identificação específica dessas lesões, principalmente, por meio de análises histopatológicas e imuno-histoquímicas, como métodos de diagnóstico para o câncer de mama em cadelas. Além disso, a busca por terapias que contribuam para melhorar a qualidade de vida e sobrevivência dos animais tem sido foco de pesquisas oncológicas. Este maior interesse deve-se ao fato de que a melhor qualidade de vida e maior longevidade é desejada pelos tutores dos animais e não mais a eutanásia uma alternativa comum (SALVADOR-BARNABÉ et al., 2018).

Há algumas características comuns entre tumores mamários em cadelas e em mulheres, tais como perfil epidemiológico, clínico e biológicos (NAGATA et al., 2014). As similaridades mais comuns entre as espécies são a faixa etária de aparecimento, morfologia, presença de receptores hormonais, órgãos alvo de metástase, evolução clínica e hereditariedade em alguns casos. Neoplasias mamárias em cadelas e em mulheres mostram fenótipo antigênico bem similar. Desta forma, tais similaridades tornam as cadelas um excelente modelo de estudo comparativo do câncer de mama em mulheres (SILVA et al., 2004).

Vários imunomarcadores são utilizados para o diagnóstico de câncer de mama. Dentre eles, a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), responsável pela produção de fatores inflamatórios, prostaglandinas (PGs), leucotrienos e tromboxanos. É uma enzima induzida por citocinas, fatores de crescimento, oncogenes e promotores tumorais. Não é detectada na maioria dos tecidos normais e se eleva nos quadros inflamatórios e, em tecidos tumorais, está relacionada à carcinogênese (HWANG et al., 1998). Em camundongos transgênicos, observou-se relação entre o aumento da expressão de COX-2 e o desenvolvimento de

câncer de mama em 85% dos animais e a deleção do gene murino COX-2 reduziu a incidência de tumores intestinais, sugerindo que ela é necessária para a tumorigênese (OLIVEIRA et al., 2010).

Há evidências de que a COX-2 está expressa em tumores mamários em cadelas e está relacionada com o aumento da angiogênese tumoral, grau de malignidade e pior prognóstico. Além disso, é considerada um fator preditivo devido à possibilidade de associação de inibidores seletivos para a COX-2 em tratamentos adjuvantes (SALVADOR-BARNABÉ et al., 2018). Outros estudos mostraram que o uso dos anti-inflamatórios inibidores de COX-1 e 2, piroxicam ou firocoxibe, aumentaram a sobrevida de cadelas com câncer de mama, tanto não associada quanto associada a cirurgia. Os pesquisadores verificaram que pacientes com aumento da expressão de COX-2 em tumores primários de câncer de mama e expressão aumentada da COX-2 nos linfonodos axilares apresentaram incidência maior de recidiva de tumor local em dois anos (GRUDZINSKI et al., 2006; LAVALLE et al., 2012).

Assim, partindo do pressuposto que a enzima COX-2 está expressa em tumores de mama tanto em mulheres quanto em cadelas, objetivou-se realizar uma revisão da literatura sobre o uso de anti-inflamatórios não-esteroidais, inibidores da COX-2, em cadelas com câncer de mama.

2 | REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características clínicas e biológicas do câncer de mama em cadelas e humanos

Semelhante a humanos, o câncer de mama em cadela é um dos mais frequentemente detectados na rotina clínica de animais de companhia. Em estudo realizado no México, dos tumores diagnosticados em cadelas, 16,8% eram de mama e desses 47,5% eram malignos (SALAS et al., 2015). No Brasil, foi reportado incidência de 86,8% de neoplasia mamária com 67% de malignidade (SILVA et al., 2019). Dentre as características em comum, pode-se destacar a faixa etária de aparecimento, morfologia tumoral, presença de receptores de estrógeno e progesterona, órgãos alvo de metástase, evolução clínica e hereditariedade (FELICIANO et al., 2012).

De forma geral, o processo carcinogênico dos cânceres de mama compreende os estágios de iniciação, promoção, progressão e disseminação (SILVA et al., 2004). Sabe-se que podem existir inúmeros fatores que possibilitam a iniciação do câncer como radiação, infecções virais, mutações, erros aleatórios na replicação do DNA (MS, 2011).

A idade do animal é um fator importante e a possibilidade de desenvolver tumores malignos aumenta com a idade, de forma que a média aproximada de 8,8 a 10 anos apresenta maior probabilidade de desenvolver a doença (PASTOR et al., 2018; RAFALKO et al., 2023). Além disso, devem ser considerados também o porte, o número de partos,

a ocorrência de pseudogestação e o histórico de doenças anteriores (RAMOS; ALESSI, 2011).

Em neoplasias mamárias, a evolução para malignidade de tumores está fortemente relacionada à dependência e independência hormonal. Existem estudos que demonstram que a castração de cadelas antes do primeiro estro reduz para 0,5% a chance de aparecimento do câncer de mama e essa proporção aumenta para 8,0% quando a castração ocorre após o primeiro ciclo. Esta observação deve-se ao fato de que com a castração os níveis de progesterona são reduzidos permitindo a ocorrência de apoptose, o que reduz a ação carcinogênica da progesterona (FONSECA; DALECK, 2000; ZUCCARI et al., 2008).

Dentre os hormônios que atuam na glândula mamária, o estrógeno e a prolactina são necessários para o desenvolvimento da neoplasia (YUE et al., 2010; SCHULER; O'LEARY, 2022; HATHAWAY et al., 2023) e a progesterona é considerada carcinogênica, quando seus níveis são aumentados por períodos muito longos (MUTI, 2014; TRABERT et al., 2020). O estrógeno estimula a liberação do fator de crescimento tumoral, pois promove o crescimento celular, além de estimular o crescimento dos ductos. Receptores para esses hormônios, assim como para fator de crescimento epidérmico já foram observados em tumores em cadelas com a coexistência em uma mesma neoplasia. Assim, acredita-se que a quantidade e a existência desses receptores estejam relacionadas à capacidade de proliferação das células neoplásicas (CARVALHO et al., 2004).

A predisposição hormonal fica evidente pela ação de estrógeno e progesterona em cadelas também pela ação de anticoncepcionais e a não-castração serem fortemente relacionadas ao desenvolvimento de tumores mamários. Assim, a administração contínua e em altas doses de estrógeno, associadas a progesterona, tem sido associada ao risco de desenvolvimento de neoplasias malignas (DENKERT et al., 2003). Além disso, esses fatores estão associados à progressão tumoral, aumentando assim a malignidade. Desta forma, quanto maior a exposição do animal aos anticoncepcionais, maior será o desenvolvimento do tumor e sua malignidade (FONSECA; DALECK, 2000).

Considerando a estrutura dos nódulos, estes podem apresentar um aspecto sésil ou não aderido, pois essas massas podem ser únicas ou múltiplas com tamanhos variáveis entre 0,5 cm de diâmetro até tumores com mais de 15 cm no seu maior diâmetro. Além disso, podem apresentar ulcerações ou apenas sinais evidentes de inflamação. Quando as neoplasias mamárias progridem para a metástase, elas podem ser classificadas como regional (em linfonodos regionais por via linfática) ou distantes (por via sanguínea) (FELICIANO et al., 2012).

Os tumores mamários podem ser classificados em malignos e benignos e a classificação universal dos tumores de mama em caninos torna-se complicada devido à grande heterogeneidade histológica. Considerando-se a histogênese, os tumores podem ser classificados em carcinomas, sarcomas e mistos, quando apresentam componentes epiteliais e mesenquimais neoplásicos (VASCONCELOS, 2000). Dentre os malignos,

destacam-se carcinoma, adenocarcinoma, cistoadenocarcinoma, misto maligno e fibrosarcoma. Considerando os tumores benignos destacam-se o adenoma, cistoadenoma, misto benigno e mioepitelioma benigno (MS, 2011). Destaca-se que os carcinomas anaplásicos carcinomas sólidos e os carcinosarcomas são os tumores que apresentam aspectos histopatológicos com pior prognóstico (SILVA, 2018). Além disso, observa-se participação de diferentes tipos celulares na composição das neoplasias em caninos, como proliferação de células mioepiteliais, fibroblastos, células inflamatórias, adipócitos, os quais interagem entre si e formam o microambiente tumoral nestas neoplasias (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

2.2 Aspectos gerais da carcinogênese

O câncer é uma doença multifatorial em que ocorre proliferação celular descontrolada e autônoma em razão de alterações epigenéticas e mutações em genes que controlam proliferação e diferenciação celular (ARAÚJO, 2018). Além das mudanças de comportamento celular, as células tumorais interagem com outros elementos celulares, teciduais e moleculares presentes no microambiente tumoral, que associados determinam a progressão tumoral. Assim, as células tumorais devem ser avaliadas como parte de um ambiente tumoral, o qual envolve vascularização, oxigenação, pressão intersticial, inflamação, fatores de crescimento e necrose tecidual que favorecem a malignidade tumoral (GONÇALVES et al., 2017; FIGUEIREDO, 2019).

A formação de um tumor necessita de várias mutações para interferir nos mecanismos responsáveis pela proliferação, diferenciação e morte celular. Algumas alterações são importantes para a transformação de uma célula normal em célula tumoral, sendo autossuficiência em sinais de proliferação, insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, evasão da apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada, invasão tecidual e metástase. Esses fatores, alcançados por diferentes mecanismos moleculares, poderiam representar a superação de estratégias distintas contra o desenvolvimento tumoral, porém o conjunto deles contribui para a malignidade do câncer (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

Uma célula normal pode se transformar em uma célula cancerosa devido a ação de dois ou mais oncogenes, já que apenas um oncogene não tem efeito suficiente para essa alteração (SILVA; SILVA, 2005). Os dois principais tipos de genes que desempenham um papel no câncer são os oncogenes e os genes supressores do tumor. Proto-oncogenes são genes que codificam proteínas envolvidas no controle do crescimento, divisão e diferenciação celular (CHOUDHURI et al., 2018) e, se estes sofrem mutações ou se existem muitas cópias dos mesmos, eles podem se tornar permanentemente ativados, fazendo com que a célula cresça descontroladamente. Estes genes se tornam então oncogenes (ONCOGUIA, 2015).

Os genes supressores de tumor agem inibindo a proliferação celular e o desenvolvimento tumoral. Em muitos tumores, entretanto, estes genes foram perdidos ou inativados, removendo assim o controle da proliferação celular (COOPER, 2000). O processo de malignidade ocorre, principalmente, devido a presença de oncogenes, que são genes indutores de tumor ou devido a inativação de genes supressores de tumor, que bloqueiam o crescimento tumoral e induzem a morte da célula. Além disso, a progressão tumoral envolve alterações em genes relacionados ao reparo do DNA, apoptose e de mobilidade celular (GHAFAR, s.d).

O crescimento celular desordenado e a homeostase tecidual dependem das condições ou alterações do DNA. Portanto, os mecanismos que contribuem para o aumento no número de células e a inibição delas são reguladas pela expressão dos genes contido no DNA (NELSON; DANIEL, 2002). Assim, existem três mecanismos que ativam oncogenes que são as mutações, a amplificação da expressão gênica e rearranjos cromossômicos (PURSHOUSE et al., 2022).

A supressão tumoral é a principal função da proteína p53, a qual é codificada pelo gene TP53. Esta proteína inibe alterações fenotípicas e genômicas associadas com o desenvolvimento de câncer por meio de vários mecanismos essenciais aos processos celulares, tais como divisão celular, manutenção da estabilidade genômica, apoptose, autofagia, resposta imune e regulação do microambiente tumoral. A ligação da p53 ao DNA induz a expressão de vários genes que evitam o desenvolvimento e progressão tumorais (MAREI et al., 2021). Quando as células não apresentam esse gene, continuam o processo de divisão replicando o DNA sem interrupções, o que favorece a sobrevida e a proliferação celular, produzindo pouca proteína p53 nas células (SILVA; SILVA, 2005).

O receptor de fator de crescimento epidérmico humano-2 (HER-2) é um membro da família de receptores de crescimento, expressa pelo oncogene *neu* (ou *Her-2/neu* ou *erbB-2*). Amplificação ou superexpressão do HER-2 ocorre em aproximadamente 15-30% dos cânceres mamários em humanos e a sua expressão está relacionada a maior agressividade do tumor e resistência a alguns tipos de tratamento. Na mulher, o aumento da expressão de HER-2 é um marcador prognóstico desfavorável, por estar relacionado à diminuição do tempo de remissão da doença e redução da sobrevida quando comparadas a HER-2 negativos, além de desenvolvimento de metástases, resistência a medicamentos e, por isso, sua expressão é um dos alvos de investigação em tumores mamários caninos (IQBAL; IQBAL, 2014).

Em cadelas, a expressão de HER-2 ainda é controversa, variáveis como idade do animal, o escore adotado segundo o consenso e diretrizes para padronização e identificação de HER-2 e o uso de anticorpos humanos influenciam o resultado do exame. Porém, o perfil de expressão de HER-2 é um importante marcador prognóstico preditivo, tendo o aumento de sua expressão diretamente relacionada à malignidade do carcinoma mamário (STOLL, 1999; DABBS et al., 2006).

A fração de crescimento do tumor depende principalmente das células que estão em intensa atividade proliferativa, contudo, não são todas as células que estão com a mesma intensidade de proliferação. A taxa de crescimento tumoral depende de um equilíbrio entre a apoptose e a proliferação celular. Na formação do tumor, a replicação e a proliferação celular não ocorre uniformemente, ou seja, são heterogêneas em diferentes regiões. Isso ocorre devido a diferentes taxas de diferenciação celular, sendo inversamente relacionada à proliferação. Outra característica é a formação de subpopulações celulares dentro do mesmo tumor, formadas por alterações genéticas ao longo do processo tumoral. E finalmente, devido a disponibilidade desigual de nutrientes e oxigênio para regiões diferentes do tumor (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

A homeostase e manutenção de populações celulares ocorre devido a apoptose, que regula a proliferação e o crescimento celular. Alterações nesse processo podem favorecer o acúmulo de células e provocam neoplasias. A apoptose disfuncional pode ser também um fator predisponente ao desenvolvimento de neoplasias. O desequilíbrio na proliferação celular, comprometendo a homeostase tecidual acontece em decorrência de danos no DNA, ou seja, essas células sofrem mutações ou alterações genéticas provocando descontrole do crescimento celular (PISTRITTO et al., 2016).

Fatores como inflamação, aumento da expressão de COX-2 e prostaglandina E-2 (PGE-2) são também considerados antiapoptóticos e compostos anti-inflamatórios que inibem a COX-2 são pró-apoptóticos (NASRY et al., 2018; JIN et al., 2023). Independentemente, a apoptose regulada, dentro ou fora da célula, poderá ser inibida com o aumento da expressão da COX-2 (HARRIS et al., 2014).

O conhecimento sobre a interação no microambiente tumoral entre células geneticamente alteradas, células normais como fibroblastos, células endoteliais, células imunes, os vasos e substâncias produzidas ou oriundas da irrigação sanguínea tem contribuído para melhor compreensão do desenvolvimento tumoral. Assim, as células não-cancerosas têm uma contribuição ativa no processo de progressão tumoral, como na angiogênese, na proliferação celular e metástase (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010). Com isso, essa homeostase torna-se comprometida, tornando o tumor um tecido complexo, pois as células cancerosas passam a comandar as atividades metabólicas ativando as células normais a funcionar conforme essa nova dinâmica tecidual (FELICIANO et al., 2012).

2.3 Microambiente tumoral do câncer de mama

Um tumor não é simplesmente um grupo de células cancerosas, mas sim uma coleção heterogênea de células infiltradas e de células residentes, fatores secretados e matriz extracelular. A composição do microambiente varia entre tipos de tumores, mas tem características comuns como células imunes, células estromais, vasos sanguíneos e a matriz extracelular (ANDERSON; SIMON, 2020). As células estromais incluem fibroblastos, células endoteliais e imunes, como micrógliã, macrófagos e linfócitos. Os componentes da

matriz incluem colágeno, fibronectina, hialuronano, laminina, entre outros (BAGHBAN et al., 2020).

A presença de células inflamatórias em diferentes espécimes de tumor comprovou uma relação entre o processo inflamatório e o câncer. Os mediadores da inflamação, como citocinas e prostaglandinas, estão presentes na angiogênese e nos tumores, ainda observados na resposta inflamatória crônica e na reparação tecidual. Com isso, de forma independente, as células inflamatórias estarão presentes em um microambiente estimulando ou não o desenvolvimento de tumores (SILVA, 2018).

A resposta imune no interior do tumor pode ser variável conforme o microambiente tumoral e sofre alterações frequentes nesse local, principalmente com a presença de células apoptóticas, podendo modular a progressão do câncer. O crescimento da massa tumoral permite o desenvolvimento de necroses. As células necróticas liberam fatores que podem atuar como estímulos intensos para a diferenciação de células imunes, como os macrófagos (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

Os macrófagos são células que estão presentes na inflamação crônica podendo estar associada a progressão tumoral e a metástase. Os macrófagos participam na remodelação da matriz extracelular, migração epitelial e angiogênese, porém, no tecido tumoral os macrófagos diminuem sua função imune e desenvolvem a função trófica, então selecionados por células tumorais e classificados como macrófagos associados ao tumor (PAN et al., 2020). Estes macrófagos podem ser classificados em M1 (pró-inflamatório e anti-tumor) e M2 (anti-inflamatório e pró-tumor) O microambiente tumoral é caracterizado por hipóxia, a qual induz a transformação de macrófagos M1 em M2, efeito associado com a progressão da doença e com a resistência à terapia (LIN et al., 2019; HE; ZHANG, 2021).

Existem evidências da participação dos macrófagos na progressão tumoral, pois existe uma interação entre essas células e as células tumorais. As células tumorais expressam receptores para fator de crescimento epidérmico (FCE), este secretado pelos macrófagos perivasculares, o que permite a quimiotaxia até o vaso sanguíneo. Esses macrófagos, então são atraídos pelas células neoplásicas que passam a secretar fator de crescimento de macrófagos, os quais são estimulados a produzir FCE completando o ciclo de interação (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

Os macrófagos auxiliam o tumor na produção de substâncias capazes de induzir ou permitir o desenvolvimento de novos vasos, dentre elas, pode-se destacar o fator de crescimento endotélio vascular (FCEV), uma potente citocina que induz o aumento da permeabilidade vascular e, com isso, resulta no extravasamento sanguíneo favorecendo as metástases. As células tumorais e células inflamatórias hospedeiras produzem o FCEV, o que permite ser um fator prognóstico ativo e independente para o câncer de mama (CARVALHO et al., 2004; ROCHE-NAGLE et al., 2004).

Além dos macrófagos, o microambiente tumoral é rico em linfócitos, como células T auxiliares, células T citotóxicas, células T reguladoras, células B e células *natural killer*

(WHITESIDE, 2022). A comunicação entre os componentes do sistema imune ocorre pela interação entre as células a partir de diversas moléculas de adesão e receptores de membrana, bem como usualmente proteínas secretadas, denominadas citocinas. Elas unem-se a receptores específicos nas células e podem ser imunoestimulatórias ou imunoinibitórias. As células tumorais secretam proteínas, glicoproteínas e glicolipídios, assim, os constituintes celulares do sistema imune em conjunto respondem especificamente, ativando outras células imunes a atacar as células tumorais com os mesmos antígenos (SILVA et al., 2004). É demonstrado que determinados tumores que apresentam células T infiltradas no tumor, os pacientes possuem maior sobrevida e menor invasão metastática, ou seja, as células T podem ser indicadas como um fator prognóstico (ONUCHIC; CHAMMAS, 2010).

As células *natural killers* fazem parte da imunidade inata do organismo e correspondem a linfócitos circulantes. Considerando os demais linfócitos, essas células são morfológicamente maiores apresentando marcadores de superfície CD16 e CD56. São células que reagem de forma rápida durante a uma invasão, enquanto um linfócito T pode demorar dias para uma resposta imune adequada, apesar de apresentar marcadores de superfícies, função citotóxica intermediada pela secreção de citocinas, perforinas, granzimas e relação com as células dendríticas. Os indivíduos com deficiência das células *natural killers* podem apresentar infecções virais persistentes, pois esses agentes só podem ser eliminados com a ação de drogas antivirais (ROCHE-NAGLE et al., 2004).

Pessoas com o sistema imunológico deficiente estão mais suscetíveis ao desenvolvimento de neoplasias malignas, pois as células imunes não apresentam a habilidade de exercer a imunovigilância tumoral, que consiste em controlar o nascimento e o crescimento neoplásico (MAFFEIS et al., 2019; SILVA et al., 2021). Quando há inibição das funções imunológicas, a neoplasia interfere ativamente no sistema imune do hospedeiro podendo levar ao desenvolvimento de metástases (SILVA, 2018). Além disso, indivíduos imunocomprometidos, ou que se submeteram ao tratamento prolongado com fármacos imunossupressores, apresentam possibilidade maior de desenvolver câncer quando comparados a população geral.

A correlação entre a progressão e a promoção do tumor é uma característica dos pacientes imunossuprimidos. A baixa capacidade em produzir uma defesa imunológica contra um tumor em desenvolvimento, geralmente está relacionada ao aumento da expressão de COX-2 e à biossíntese de prostaglandinas, o que suprime a função de células do sistema imunológico e permite maior proliferação de células cancerosas, imortalização e metástases (HARRIS et al., 2014).

2.4 Ciclooxygenase-2 (COX-2)

A enzima COX, cuja nomenclatura oficial é prostaglandina-endoperóxido sintase-2, é uma glicoproteína dimérica integral de membrana, presente no retículo endoplasmático

e membrana de microssoma (FAKI; AYSE, 2021). Essa enzima tem como substrato o ácido araquidônico presente nos fosfolípidios de membrana e o converte em prostanoide, que dá origem a fatores inflamatórios como prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, em resposta a um dano tecidual ou infecção (TUFEKCI et al., 2012). São descritas as isoformas COX-1, COX-2 e um terceiro tipo a COX-3, uma variante da COX-1, presente no SNC (WOLFESBERGER et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007).

As enzimas COX-1 e COX-2 são semelhantes estruturalmente e quanto à atividade enzimática. A COX-1 apresenta 17 aminoácidos em sua região peptídica amino terminal, ausentes na COX-2, a qual, por sua vez, possui 18 aminoácidos adicionais em sua terminação carboxila (CARVALHO et al., 2004). A quantidade de aminoácidos presentes na molécula determina duas isoformas definidas, com variação de 576 aminoácidos para a COX-1 e de 581604 aminoácidos para a COX-2 (FAKI; AYSE, 2021).

A clonagem de cDNA demonstrou que as sequências de aminoácidos das COX-1 e COX-2 são 60% idênticas, indicando uma estrutura global comum e catalisam as mesmas reações. No entanto, o sítio catalítico das COXs, onde ocorre a interação com o ácido araquidônico, há uma substituição do aminoácido isoleucina nas posições 434 e 523, pelo aminoácido valina na COX-2. Essa diferença faz com que a cavidade de interação da COX-2 seja maior. Estas diferenças estruturais são importantes para a elaboração de medicamentos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) e explica, por exemplo, a seletividade dos coxibes pela isoforma 2 (KIEFER et al., 2000).

A COX-1 foi a primeira a ser caracterizada e está presente em condições fisiológicas em células de vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins e é responsável pela síntese de prostaglandinas (PGs) e regula a função celular normal (QUEIROGA et al., 2011). A COX-2 está normalmente ausente, exceto na placenta, cérebro e rins, mas tem expressão induzida em células envolvidas no processo inflamatório como macrófagos, monócitos e sinoviócitos por mediadores inflamatórios como interleucinas (IL) e fator de necrose tumoral-1 (TNF-1), fatores de crescimento e endotoxinas. Embora participe de processos fisiológicos, esta enzima aumenta sua expressão em situações patológicas, como reações inflamatórias e na oncogênese (DORÉ, 2011).

O ácido araquidônico é um ácido graxo poli-insaturado, componente dos fosfolípidios de membranas celulares, o qual tem seu metabolismo iniciado pela enzima fosfolipase-A que o libera da membrana. O ácido graxo liberado será substrato das COXs, para a síntese de PGs e tromboxanos (TX) e, pela via das lipoxigenases, produzirá leucotrienos. Esses eventos ocorrem associados à membrana. São produtos do ácido araquidônico diversos compostos como PGs, leucotrienos e TX, relacionados a processos inflamatórios (WANG et al., 2021).

As PGs foram descobertas e isoladas a partir do líquido seminal, como secreção da próstata, e assim receberam a denominação glandinas por associação à glândula. As PGs são lípidios que participam de uma variedade de processos fisiológicos, como

relaxamento ou contração da musculatura brônquica ou uterina, ovulação, manutenção do fluxo sanguíneo renal e citoproteção da mucosa gástrica (CARVALHO et al., 2004; SILVA, 2018).

Inicialmente, a COX catalisa a adição de oxigênio molecular ao ácido araquidônico formando o produto intermediário, a PG_2 ou PGG_2 . Em seguida, a COX atua como peroxidase e reduz a PG_2 a PGH_2 . Essas serão substratos para formar diversas PGs com atividade como PGD_2 , Prostaglandina E2 (PGE_2), prostaciclina (PGI_2) e TX (SILVA, 2018). Isso ocorre em um sítio ativo localizado em um longo canal hidrofóbico na própria membrana, uma vez que esta apresenta esse sítio de ligação em que a molécula de ácido araquidônico tem acesso na própria membrana. Portanto, as PGs são sintetizadas a partir da ação das COXs, pois irão catalisar o oxigênio molecular ao ácido araquidônico, formando o endoperóxido intermediário PGG_2 . A COX com a ação de peroxidase, pode formar a PGH_2 a partir do catabolismo e redução da PG (CARVALHO et al., 2004).

As PGs formadas irão se ligar a receptores prostanoídeos localizados na membrana plasmática, acoplados à proteína G. A ativação da proteína G irá estimular os sistemas efetores, que por sua vez, irão liberar segundos mensageiros em diversos tecidos. Esses efetores são classificados em cinco grupos considerando a PG com os quais eles têm maior afinidade. Eles são designados de DP (PGD_2), FP (PGF_2), IP (PGI_2), TP (PXA_2) e EP (PGE_2).

A mutação de proteínas pós-transcricionais, que interagem em determinados elementos de seu RNA mensageiro, pode aumentar a sua expressão da COX-2, tornando-se um fator importante envolvido na carcinogênese (GRUDZINSKI et al., 2006). A expressão da COX-2 possibilita a progressão do câncer e metástases, além da angiogênese característica do processo estar diretamente ligada à ação de PGE_2 (DORÉ, 2011). Assim, essa enzima pode ser considerada um fator prognóstico para a identificação e progressão de tumores. Esse prognóstico está diretamente relacionado à classificação do tumor, fundamental para o sucesso no tratamento (FELICIANO et al., 2012).

A enzima COX-1 é constitutivamente expressa em muitos tecidos normais, enquanto a COX-2 é induzida e geralmente com alta expressão em processos inflamatórios e tecidos neoplásicos. Como a COX-2 parece participar em vários aspectos da carcinogênese, a inibição de sua atividade resulta em efeitos antitumorais e antiangiogênicos (LI et al., 2020).

2.4.1 Ação das ciclooxigenases nos tumores

A ligação entre inflamação crônica e câncer envolve citocinas e mediadores das vias inflamatórias. A inibição das citocinas em decorrência da redução de estímulos inflamatórios permite a expressão da COX-2 e produz PGE_2 , reduzindo o processo inflamatório. No entanto, a exposição a estímulos inflamatórios e a alta expressão

contínua da COX-2 promovem a transição da inflamação aguda para crônica. Citocinas específicas como a IL-6 e a IL-1 são importantes para o recrutamento de monócitos e neutrófilos para os tecidos com inflamação crônica interrompendo a secreção de outras citocinas pró-inflamatórias (KRATOFIL et al., 2017).

A expressão da COX-2 sustentada pela biossíntese da PGE-2 está relacionada diretamente a promoção da carcinogênese mamária. Essa evidência baseia-se em estudos moleculares de COX-2 que também descrevem a importância do impacto benéfico de seu bloqueio na prevenção do câncer de mama. O estudo molecular evidencia que a superexpressão da COX-2 está em todo o processo de desenvolvimento e progressão do câncer de mama e que a COX-2 pode ser um biomarcador fundamental de câncer e também um dos principais alvos para a prevenção e terapia de câncer de mama (HARRIS et al., 2014).

Análises moleculares indicam que a expressão de COX-2 é uma característica marcante de neoplasias mamárias e há aumento de expressão em estágios mais avançados de malignidade e de progressão do câncer e de metástases. Várias características da carcinogênese como mutagênese, angiogênese, apoptose reduzida, metástase e imunossupressão estão relacionadas à ação da COX-2 (LEAHY et al., 2002). Durante o desenvolvimento do câncer, a COX-2 sintetiza PG que irá mediar vários eventos, como o aumento da proliferação celular, favorecimento da angiogênese por meio da produção de FCEV, diminuição da adesão celular, destruição de membrana basal, supressão do sistema imune, manutenção de resposta inflamatória, redução do índice de apoptose e maior capacidade invasiva e metastática (ALLAJ et al., 2013).

A angiogênese é considerada um fator fundamental para o desenvolvimento tumoral, pois, a partir dela ocorre a irrigação e o transporte de nutrientes para as células neoplásicas, contribuindo para a metástase. A angiogênese está diretamente relacionada com a superexpressão da COX-2, pois essa enzima estimula a expressão de FCEV, o que permite a angiogênese (HU et al., 2017; XIE et al., 2018).

A expressão de COX-2 ocorre em proporção significativamente maior em neoplasias mamárias malignas em comparação a benignas em cães e quanto mais indiferenciada neoplasia, maior será a intensidade e frequência da expressão de COX-2 e menor taxa de sobrevivência. Assim, é considerada um fator prognóstico ruim para várias neoplasias e relacionada à progressão tumoral em humanos e cães (QUEIROGA et al., 2011). O aumento da expressão da COX-2 em neoplasias de mama em cadelas está relacionada ao aumento da malignidade, a diminuição de sobrevida, ao aumento de FCEV e de angiogênese. Sendo assim, as cadelas que apresentaram maior expressão da COX-2 apresentaram pior prognóstico e uma sobrevida e tempo livre da doença reduzidos (SALVADOR-BERNABÉ et al., 2018).

Um estudo em tumores de mama em cadelas mostrou uma correlação positiva entre o tamanho do tumor e expressão de COX-2 e correlação negativa com a taxa de sobrevida

indicando seu potencial como marcador prognóstico e para o desenvolvimento de novas terapias (QUEIROGA et al., 2011). Para proporcionar um melhor diagnóstico, prognóstico e a terapêutica para desenvolvimento de tumores de mama em cadelas é de fundamental importância uma avaliação clínica para entender a evolução da doença e o comportamento biológico dessas células tumorais (OLIVEIRA et al., 2010).

O aumento na atividade de proteínas, como as metaloproteinases, responsáveis pela degradação do colágeno, permitem o aumento da expressão da COX-2, e com isso acelera a invasão do tecido. As PGs contribuem ativamente para a carcinogênese, podendo causar danos oxidativos e nitrativos do DNA provocando mutações e alterações no genoma (KAWANISHI et al., 2017). Além dessa desestabilização do DNA, PGs podem estimular a liberação de fatores do crescimento no microambiente tumoral provocando uma aceleração no processo neoplásico (MIZUNO et al., 2019; FINETTI et al., 2020; NIE et al., 2023). No tecido tumoral ainda existem muitas regiões ácidas e de hipóxia, o que contribui para a morte maciça das células, porém, o sistema imunológico consegue ativar as vias de sinalização, o que contribui para o reparo tecidual e a regeneração, permitindo a sobrevivência dessas células tumorais (SALVADOR-BERNABÉ et al., 2018).

Há substâncias capazes de inibir a ação da COX-2 e assim reduzir seus efeitos no desenvolvimento de tumores. Essas substâncias vêm sendo amplamente estudadas graças a esta ação considerada antitumoral. Nesse sentido, o uso de anti-inflamatórios não-esteroidais tem sido amplamente estudado para a inibição da COX-2 e o controle da ação carcinogênica em tumores mamários de cadelas.

2.4.2 Inibidores da COX-2

Os AINEs são medicamentos amplamente usados em humanos e em animais. Eles têm como função principal a redução de sintomas como dor, febre e inflamações. O uso de AINEs devem ter uso limitado devido ao alto risco de efeitos colaterais, portanto, a administração deve ser feita após a avaliação e indicação de cada caso. Os efeitos colaterais mais comuns ocorrem no trato gastrointestinal e nos rins trazendo consequências graves ao animal (JOBIM; JOBIM, 2008).

Os AINEs são divididos em grupos com base em sua estrutura química e seletividade: salicilatos acetilados (aspirina), salicilatos não-acetilados (diflunisal, salsalato), derivados do ácido propiônico (ketofeno, naproxeno, ibuprofeno, carprofeno), derivados do ácido fenâmico (flunixin meglumine) e derivados do ácido enólico (meloxicam, piroxicam, fenilbutazona). Os AINEs apesar de serem um grupo heterogêneo, apresentam os mesmos efeitos colaterais (BERBERT et al., 2015; GHLICHLOO; GERRIETS, 2023).

Autofagia é um processo crucial para eliminação de organelas danificadas e para manter a homeostase celular. A disfunção deste processo contribui para várias desordens, incluindo o câncer (FU et al., 2020). Os AINEs inibem o crescimento neoplásico pela

indução de apoptose das células cancerígenas, pois inibem a expressão de COX-2 e, conseqüentemente, a formação de PGE2 (CHAM, 2002; KAZBERUK et al., 2020).

Ao inibir a atividade da COX-2 e, conseqüentemente, a síntese de PGE2, os AINES causam redução significativa na transcrição da p53 em células-tronco adiposas mamárias. A estabilização da p53 leva a redução à reduzida expressão e atividade da enzima aromatase RNAm, que normalmente ocorre pelo estímulo da PGE2 (MORIS et al., 2016).

O nimesulide apresenta efeito supressor nas células cancerígenas e ação antiproliferativa, sendo capaz de estimular apoptose em câncer mamário (FERREIRA et al., 2021). Em estudos com ratas com câncer mamário induzido, Nakatsugi et al. (2000) demonstraram que o nimesulide foi capaz de suprimir a evolução da doença, provocando redução no tamanho e na proliferação dos carcinomas.

O meloxicam é um inibidor preferencial da COX-2, o que o torna promissor dentre os diferentes tipos de AINEs para o tratamento de câncer. Entretanto, os achados na literatura são conflitantes. Zhivkova et al. (2020), entretanto, demonstraram que o meloxicam apresenta atividade citotóxica e apoptótica em cultura de células mamárias humanas cancerígenas, em doses de 376,5 e 298,7 µg/mL após 48 e 72 horas de tratamento, respectivamente.

Iturriaga et al. (2017) desenvolveram um estudo *in vitro* utilizando 0,25 µg/mL de meloxicam em células de carcinoma mamário de cães e notaram que não houve efeito sobre a apoptose e viabilidade celular e nem efeito sinérgico com a doxorubicina, porém, o meloxicam conseguiu diminuir a migração e invasão celular. Yamamoto et al. (2011) avaliaram o uso de 10 mg/d de meloxicam, juntamente com ciclos de doxorubicina e ciclofosfamida (1x/d por 21 dias) seguidos de ciclos de pacliaxel a cada 7 dias durante 12 semanas, em pacientes com câncer de mama. Os autores não notaram efeito benéfico do seu uso associado à quimioterapia.

Outro AINE relevante para a redução de tumores é a aspirina. Há evidências de que mulheres, com idade entre 55 e 69 anos, que consomem regularmente aspirina, comparado a mulheres que nunca utilizaram o medicamento, tiveram cerca de 20% de redução no risco de desenvolver câncer de mama (BARDIA et al., 2011). De acordo com Zhong et al. (2015), o uso de aspirina após o diagnóstico do câncer de mama, foi associado com reduzida mortalidade devida ao câncer, mas seu uso no período pré-diagnóstico não se apresentou eficiente. Em outro estudo com mulheres ingerindo 100 mg/d de aspirina por, no mínimo, 3 anos, observou-se reduzido risco de desenvolvimento do câncer de mama (JACOBO-HERRERA et al., 2014). Da mesma forma, Liu et al. (2021) e Ma et al. (2021) demonstraram, por meio de revisão sistemática, que o uso da aspirina pode reduzir o risco de morte devida ao câncer de mama, bem como a recorrência e o grau de metástases.

Com a necessidade de ser seletivo para a COX-2, uma modificação molecular do nimesulide possibilitou a formação de inibidores específicos de segunda geração, tais como celecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe e parecoxibe (FONSECA; DALECK, 2000).

O celecoxibe é um composto 375 vezes mais seletivo para COX-2 do que para COX-1, esse menos associado aos efeitos colaterais presentes nos outros AINEs até então comercializados. Esta substância não atua sobre o tromboxano ou sobre as plaquetas. O rofecoxibe é um derivado metilsulfonilfenil, mais de 800 vezes mais seletivo para COX-2 que para COX-1 e por isto, é quase isento de efeitos colaterais associados ao uso de outros AINEs e não atua sobre a agregação plaquetária (BERBERT et al., 2015).

Ao avaliarem o uso de celecoxibe, etodolac e meloxicam em cultura de células tumorais mamárias caninas, Saito et al. (2014) reportaram que somente o celecoxibe reduziu a expressão celular da COX-2 e a proliferação das células tumorais, além de ser um indutor de apoptose mais potente do que o meloxicam ou etodolac.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os principais tipos de câncer, o câncer de mama tem se destacado devido a grande quantidade de mulheres que manifestam ou já manifestaram essa doença. Existem vários fatores que possibilitam o desenvolvimento de células tumorais como idade, alimentação, raça. Porém, merece destaque a influência hormonal, principalmente de estrógeno e progesterona, um dos principais fatores que permitem a manifestação da doença. Devido a grande semelhança entre os tumores humanos e caninos, esses animais participam como modelos para o estudo de células tumorais para humanos.

Por essa razão é importante estudar fatores preditivos e prognósticos para um melhor diagnóstico e um tratamento adequado para essa doença. Com relação aos imunomarcadores que indicam a formação de células cancerígenas, essa revisão enfatiza as COXs, devido ao fato de principalmente a COX-2 participar na adesão de células, inibição de apoptose, indução da proliferação celular e a desestabilização do sistema imunológico e angiogênese, permitindo levar nutrientes e oxigênio para as células tumorais permitindo a evolução para metástases. Nesse contexto, o tratamento com AINEs pode ser importante e interessante para a redução de fatores que estimulam desenvolvimento de células tumorais, como a proliferação celular e angiogênese, que permitem a formação de cânceres com desenvolvimento de metástases.

REFERÊNCIAS

1. ALLAJ, V.; GUO, C.; NIE, D. Non-steroid anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and cancer. **Cell & Bioscience**, 3: 8, 2013.
2. ANDERSON, N. M.; SIMON, M. C. Tumor microenvironment. **Current Biology**, 30: R921-R925, 2020.
3. ARAÚJO, S. M. **Impacto no peso e na composição corporal em mulheres com câncer de mama submetidas à quimioterapia**. Tese (Faculdade de Medicina – Ciências da Saúde). Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

4. BAGHBAN, R. *et al.* Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. **Cell Communication and Signaling**, 18: 59, 2020.
5. BARDIA, A. *et al.* Effect of aspirin and other NSAIDs on postmenopausal breast cancer incidence by hormone receptor status: results from a prospective cohort study. **Breast Cancer Research Treatment**, 126: 149-155, 2011.
6. BERBERT, L. R. H. **Efeitos colaterais de anti-inflamatórios não-esteroides em cães e gatos.** Monografia (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais). Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. 2004.
7. CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 54: 448-464, 2004.
8. COOPER, G. M. **The Cell**. 2.ed. Sinauer Associates: Massachusetts, USA. 2000.
9. CHAM, T. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, apoptosis, and colon-cancer chemoprevention. **The Lancet – Oncology**, 3: 166-174, 2002.
10. CHOUDHURI, S.; CHANDERBHAN, R.; MATTIA, A. Carcinogenesis: mechanisms and models. *In*: **Veterinary Toxicology**, 3. ed., Academic Press: Kentucky, USA, 2018. p. 339-354.
11. DABBS, D. J. *et al.* Molecular alterations in columnar cell lesions of the breast. **Modern Pathology**, 19: 344-349, 2006.
12. DENKERT, C. *et al.* Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma. **Cancer**, 97: 2931-3131, 2003.
13. DORÉ, M. Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. **Veterinary Pathology**, 48: 254-265, 2011.
14. FAKI, Y.; AYSE, E. Different chemical structures and physiological/pathological roles of cyclooxygenases. **Rambam Maimonides Medical Journal**, 12: e0003, 2021.
15. FELICIANO, M. A. R. *et al.* Neoplasia mamária em cadelas – revisão de literatura. 2012. Disponível em http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/k6okLJJ2PaKkJ7J_2013-6-28-18-15-30.pdf Acesso em 24 Junho 2023.
16. FERREIRA, R. G. *et al.* Can nimesulide nanoparticles be a therapeutic strategy for the inhibition of the KRAS/PTEN signaling pathway in pancreatic cancer? **Frontiers in Oncology**, 11: 594917, 2021.
17. FIGUEIREDO, C. R. L. V. The unusual paradoxo f cancer-associated inflammation: an update. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 55: 321-332, 2019.
18. FINETTI, F. *et al.* Prostaglandin E2 and cancer: insight into tumor progression and immunity. **Biology**, 9: 434, 2020.

19. FONSECA, C. S.; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural**, 30: 731-735, 2000.
20. FU, X.; TAN, T.; LIU, P. Regulation of autophagy by non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer. **Cancer Management and Research**, 12: 4595-4604, 2020.
21. GHLICHLOO, I.; GERRIETS, V. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). 2023. Disponível em [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/#:~:text=NSAIDs%20are%20typically%20divided%20into,meloxicam%2C%20piroxicam\)%20anthranilic%20acids%20](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/#:~:text=NSAIDs%20are%20typically%20divided%20into,meloxicam%2C%20piroxicam)%20anthranilic%20acids%20) Acesso em 23 Junho 2023.
22. GHAFFAR, A. Imunologia de tumores. s.d. Disponível em <https://www.microbiologybook.org/Portuguese/immuno-port-chapter18.htm> Acesso em 22 Junho 2023.
23. GONÇALVES, J. E. S. *et al.* The role of p16 as putative biomarker for cervical neoplasia: a controversial issue? **Medical Express**, 4: M170601, 2017.
24. GRUDZINSKI, M. *et al.* Expressão da cox-2 e CD105 no câncer de mama e sobrevida livre de doença. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 52: 275-280, 2006.
25. HARRIS, R. E.; CASTO, B. C.; HARRIS, Z. M. Cyclooxygenase-2 and the inflammogenesis of breast cancer. **World Journal of Clinical Oncology**, 10: 677-692, 2014.
26. HATHAWAY, C. A. *et al.* Prolactin levels and breast cancer risk by tumor expression of prolactin-related markers. **Breast Cancer Research**, 25: 24, 2023.
27. HE, Z.; ZHANG, S. Tumor-associated macrophages and their functional transformation in the hypoxic tumor microenvironment. **Frontiers in Immunology**, 12: 743105, 2021.
28. HU, H. *et al.* Elevated COX-2 expression promotes angiogenesis through EGFR/p38-MAPK/Sp1-dependent signalling in pancreatic cancer. **Scientific Reports**, 7: 470, 2017.
29. HWANG, D. *et al.* Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. **Journal of National Cancer Institute**, 90: 455-460, 1998.
30. IQBAL, N.; IQBAL, N. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications. **Molecular Biology International**, 2014, ID 852748, 2014.
31. ITURRIAGA, M. P. *et al.* Meloxicam decreases the migration and invasion of CF41.Mg canine mammary carcinoma cells. **Oncology Letters**, 14: 2198-2206, 2017.
32. JACOBO-HERRERA, N. J. *et al.* Clinical evidence of the relationship between aspirin and breast cancer risk (review). **Oncology Letters**, 32: 451-461, 2014.
33. JOBIM, M.; JOBIM, L. F. J. Células natural killer e vigilância imunológica. **Jornal de Pediatria**, 84: S58-S67, 2008.
34. KAWANISHI, S. *et al.* Crosstalk between DNA damage and inflammation in the multiple steps of carcinogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, 18: 1808, 2017.

35. KAZBERUK, A. *et al.* A novel plausible mechanisms of NSAIDs-induced apoptosis in cancer cells: the implication of proline oxidase and peroxisome proliferator-activated receptor. **Pharmacological Reports**, 72: 1152-1160, 2020.
36. KIEFER, J. R. *et al.* Structural insights into the stereochemistry of the cyclooxygenase reaction. **Nature**, 405: 97-101, 2000.
37. KRATOFIL, R. M.; KUBES, P.; DENISET, J. F. Monocyte conversion during inflammation and injury. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 37: 35-42, 2017.
38. LAVALLE, G. E. *et al.* Canine malignant mammary gland neoplasms with advanced clinical staging treated with carboplatin and cyclooxygenase inhibitors. **In Vivo**, 26: 375-379, 2012.
39. LEAHY, K. M. *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. **Cancer Research**, 62: 625-631, 2002.
40. LI, S. *et al.* Combined chemotherapy with cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in treating human cancers: recent advancement. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 129: 110389, 2020.
41. LIN, Y.; XU, J.; LAN, H. Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications. **Journal of Hematology & Oncology**, 12: 76, 2019.
42. LIU, J. *et al.* Effect of aspirin use on survival benefits of breast cancer patients. A meta-analysis. **Medicine**, 100: e26870, 2021.
43. MA, S. *et al.* Aspirin use and risk of breast cancer: a meta-analysis of observational studies from 1989 to 2019. **Clinical Breast Cancer**, 21: 552-565, 2021.
44. MAFFEIS, M. *et al.* Primary immunodeficiencies and oncological risk: the experience of the children's hospital of Brescia. **Frontiers in Pediatrics**, 7: 232, 2019.
45. MAREI, H. E. *et al.* p53 signaling in cancer progression and therapy. **Cancer Cell International**, 21: 703, 2021.
46. MIZUNO, R.; KAWADA, K.; SAKAI, Y. Prostaglandin E2/EP signaling in the tumor microenvironment of colorectal cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, 20: 6254, 2019.
47. MORIS, D. The role of NSAIDs in breast cancer prevention and relapse: current evidence and future perspectives. **Breast Care**, 11: 339-344, 2016.
48. MS – Ministério da Saúde. **ABC do Câncer**. Abordagens básicas para o controle do câncer. INCA: Rio de Janeiro, 2011. 128p.
49. MUTI, P. Is progesterone a neutral or protective factor for breast cancer? **Nature Review Cancer**, 14: 146, 2014.
50. NAGATA, W. B. *et al.* Perfil epidemiológico da neoplasia mamária canina em Araçatuba: uma abordagem estatística. **Revista da Estatística**, 3: 669-673, 2014.

51. NAKATSUGI, S. *et al.* Chemoprevention by nimesulide, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol[4,5-*b*]pyridine (PhIP)-induced mammary gland carcinogenesis in rats. **Japanese Journal of Cancer Research**, 91: 886-892, 2000.
52. NELSON, P. J.; DANIEL, T. O. Emerging targets: molecular mechanisms of cell contact-mediated growth control. **Kidney International**, 61: S99-S105, 2002.
53. NIE, J. Z.; WANG, M. T.; NIE, D. Regulations of tumor microenvironment by prostaglandins. **Cancers**, 15: 3090, 2023.
54. OLIVEIRA, L. O. *et al.* Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. **Acta Scientiae Veterinariae**, 31: 105-110, 2010.
55. ONCOGUIA. **Oncogenes e genes supressores do tumor**. 2015. Disponível em <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/oncogenes-e-genes-supressores-do-tumor/8161/73/> Acesso em 22 Junho 2023.
56. ONUCHIC, A.C.; CHAMMAS, R. Câncer e o microambiente tumoral. **Revista de Medicina**, 89, 21-31, 2010.
57. PAN, Y. *et al.* Tumor-associated macrophages in tumor immunity. **Frontiers in Immunology**, 11: 583084, 2020.
58. PASTOR, N. *et al.* Epidemiological study of canine mammary tumors: age, breed, size and malignancy. **Australian Journal of Veterinary Science**, 50: 143-147, 2018.
59. PISTRITTO, G. *et al.* Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. **Aging**, 8: 603-619, 2016.
60. PURSHOUSE, K. *et al.* Oncogene expression from extrachromosomal DNA is driven by copy number amplification and does not require spatial clustering in glioblastoma stem cells. **eLife**, 11: e80207, 2022.
61. QUEIROGA, F. L. *et al.* Expression of Cox-1 and Cox-2 in canine mammary tumours. **Journal of Comparative Pathology**, 136: 177-185, 2007.
62. QUEIROGA, F. L. *et al.* COX-2 over-expression correlates with VEGF and tumour angiogenesis in canine mammary cancer. **Veterinary Journal**, 189: 77-82, 2011.
63. RAFALKO, J. M. *et al.* Age at cancer diagnosis by breed, weight, sex, and cancer type in a cohort of more than 3,000 dogs: determining the optimal age to initiate cancer screening in canine patients. **PlosOne**, 18: e0280795, 2023.
64. RAFFO-ROMERO, A. *et al.* Establishment and characterization of canine mammary tumoroids for translational research. **BMC Biology**, 21: 23, 2023.
65. RAMOS, C. S. **Associação entre fatores epidemiológicos e neoplasias mamárias em cadelas**. Dissertação (Cirurgia Veterinária). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". 2011.

66. ROCHE-NAGLE, G. *et al.* Antimetastatic activity of a cyclooxygenase-2 inhibitor. **British Journal of Cancer**, 91: 359-365, 2004.
67. SAITO, T.; TAMURA, D.; ASANO, R. Usefulness of selective COX-2 inhibitors as therapeutic agents against canine mammary tumors. **Oncology Reports**, 31: 1637-1644, 2014.
68. SALAS, Y. *et al.* Epidemiological study of mammary tumors in female dogs diagnosed during the period 2002-2012: a growing animal health problem. **PlosONE**, 10: e0127381, 2015.
69. SALVADOR-BERNABÉ, R. L. *et al.* A relação da COX-2 e os carcinomas mamários em cadelas. **Investigação**, 17: 13-18, 2018.
70. SCHULER, L. A.; O'LEARY, K. A. Prolactin: the third hormone in breast cancer. **Frontiers in Endocrinology**, 13: 910978, 2022.
71. SILVA, A. E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência Rural**, 34: 625-633, 2004.
72. SILVA, E. V. S. *et al.* Elucidating tumor immunosurveillance and immunoediting: a comprehensive review. **Ciência Animal Brasileira**, 22: e-68544, 2021.
73. SILVA, H. C. *et al.* Epidemiology of canine mammary gland tumours in Espírito Santo, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, 47: 1640, 2019.
74. SILVA, M.M.; SILVA, V.H. Envelhecimento: importante fator de risco para o câncer. **Arquivos de Medicina do ABC**, 30: 11-18, 2005.
75. SILVA, T. C. **Análise dos tipos histológicos do câncer de mama em cadelas e sua correlação com o perfil de expressão de proteínas associadas ao prognóstico.** Tese (Ciências Médicas). Universidade de São Paulo, 2018.
76. STOLL, B.A. Premalignant breast lesions: role for biological markers in predicting progression to cancer. **European Journal of Cancer**, 35: 693-697, 1999.
77. TRABERT, B. *et al.* Progesterone and breast cancer. **Endocrine Reviews**, 41: 320-344, 2020.
78. TUJEKCI, K. U. *et al.* Inflammation in Parkinson's disease. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, 88: 69-132, 2012.
79. VASCONCELOS, A. C. **Patologia geral em hipertexto.** 2000. UFMG. Disponível em <http://depto.icb.ufmg.br/dpat/old/intro.htm> Acesso em 16 Junho 2023.
80. WANG, B. *et al.* Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, 6: 94, 2021.
81. WHITESIDE, T. L. Tumor-infiltrating lymphocytes and their role in solid tumor progression. **Experientia Supplementum**, 113: 89-106, 2022.

82. WOLFESBERGER, B. *et al.* Antineoplastic effect of the cyclooxygenase inhibitor meloxicam on canine osteosarcoma cells. **Research in Veterinary Science**, 80: 308-316, 2006.
83. XIE, C. *et al.* Cyclooxygenase-2 induces angiogenesis in pancreatic cancer mediated by prostaglandin E₂. **Oncology Letters**, 16: 940-948, 2018.
84. YAMAMOTO, D. *et al.* Efficacy of meloxicam in combination with preoperative chemotherapy for breast cancer – Japan breast cancer research network (JBCRN) 02-1 trial. **Anticancer Research**, 31: 33567-3572, 2011.
85. YUE, W. *et al.* Effects of estrogen on breast cancer development: role of estrogen receptor independent mechanisms. **International Journal of Cancer**, 127: 1748-1757, 2010.
86. ZHIVKOVA, T. *et al.* Meloxicam and its metal complexes: cytotoxic activity and ability to induce autophagy in human triple negative breast cancer cells. **Acta Morphologica et Anthropologica**, 27: 29-37, 2020.
87. ZHONG, S. *et al.* Association between aspirin use and mortality in breast cancer patients: a meta-analysis of observational studies. **Breast Cancer Research and Treatment**, 150: 199-207, 2015.
88. ZUCCARI, D. A. P. C. *et al.* Fatores prognósticos e preditivos nas neoplasias mamárias – importância dos marcadores imunohistoquímicos nas espécies humana e canina – estudo comparativo. **Arquivos de Ciência da Saúde**, 15:189-198, 2008.