

GENES *BRCA1* E *BRCA2* COMO BIOMARCADORES EM CARCINOMAS MAMÁRIOS CANINOS – REVISÃO DE LITERATURA

Tamires Goneli Wichert Teodoro¹
Heloísa Coppini de Lima²
Renée Laufer Amorim³

RESUMO

Os carcinomas mamários caninos são a neoplasia mais comumente diagnosticada em cadelas não castradas, e são a segunda neoplasia mais comumente encontrada dentre todas as neoplasias em cães. Assim como observado em tumores de mama em humanos, os tumores mamários malignos em cadelas possuem uma incidência de alta morbidade e mortalidade nos animais acometidos. Além da semelhança epidemiológica com dados encontrados na literatura humana sobre neoplasias mamárias, os tumores mamários caninos também possuem alta similaridade histopatológica e de fisiopatogenia. Os carcinomas mamários caninos possuem desenvolvimento multifatorial, os quais podem estar associados a raça, idade, status de castração do animal e, também, fatores genéticos. Os genes *BRCA1* e *BRCA2*, quando mutados, têm grande importância na formação de tumores de mama em humanos e cães. Estes são genes com função importante na manutenção da estabilidade genômica. Devido a alta semelhança desta enfermidade entre a espécie canina e humana, é possível estudar a utilização de biomarcadores humanos para medicina veterinária. Mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* são alvos de uso como biomarcadores bem definidos e estabelecidos para tumores de mama e de cérvix em mulheres, o seu uso tem relevância na medicina veterinária, assim como é observado na literatura humana. Com esta revisão, ressalta-se que é notório o potencial do uso dos genes *BRCA1* e *BRCA2* como biomarcadores para carcinomas mamários caninos a partir de estudos já existentes, porém, ainda são necessários mais estudos abordando esta temática.

Palavras-chave: carcinoma mamário, genética, mutações, neoplasias.

BRCA1 AND *BRCA2* GENES AS BIOMARKERS IN CANINE MAMMARY CARCINOMAS – LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

Canine mammary carcinomas are the most commonly diagnosed neoplasm in unneutered female dogs and are the second most frequently found neoplasm among all neoplasms in dogs. As observed in breast tumors in humans, malignant mammary tumors in dogs have a high incidence of morbidity and mortality in affected animals. In addition to the epidemiological similarity with data found in the human literature on mammary neoplasms, canine mammary tumors also have high histopathological and pathophysiological similarity. Canine mammary carcinomas have a multifactorial development, which may be associated with the breed, age, castration status of the animal, and genetic factors. The *BRCA1* and *BRCA2* genes are two genes that, when mutated, are of great importance in forming breast tumors in humans and dogs. These are genes with an essential function in maintaining genomic stability. Due to the high

¹ Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu – Doutora em Medicina Veterinária. *Correspondência: tamires.teodoro@unesp.br

² Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu – Doutoranda em Medicina de Animais Selvagens. heloisa.coppini@unesp.br

³ Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu – Professora Titular do Departamento de Clínica Veterinária. renee.laufer-amorim@unesp.br

similarity, using human biomarkers within veterinary medicine becomes possible. Mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes are targets for use as well-defined and established biomarkers for breast and cervix tumors in women. Their high use is relevant in veterinary medicine, as is observed in the human literature. With this review, it is highlighted that the potential of using the *BRCA1* and *BRCA2* genes as biomarkers for canine mammary carcinomas based on existing studies is clear. However, more studies addressing this topic are still needed.

Keywords: mammary carcinoma, genetic, mutations, neoplasia.

GENES *BRCA1* Y *BRCA2* COMO BIOMARCADORES EN CARCINOMAS MAMARIOS CANINOS – REVISIÓN DE LA LITERATURA

RESUMEN

Los carcinomas mamarios caninos son la neoplasia más comúnmente diagnosticada en perras no castradas y son la segunda neoplasia más común entre todas las neoplasias en perros. Como se observa en los tumores de mama en humanos, los tumores mamarios malignos en perros tienen una alta incidencia de morbilidad y mortalidad en los animales afectados. Además de la similitud epidemiológica con los datos encontrados en la literatura humana sobre neoplasias mamarias, los tumores mamarios caninos también tienen una alta similitud histopatológica y fisiopatológica. Los carcinomas de mama caninos tienen un desarrollo multifactorial, que puede estar asociado a la raza, edad, estado de castración del animal y también a factores genéticos. Los genes *BRCA1* y *BRCA2* son dos genes que al mutar tienen gran importancia en la formación de tumores de mama en humanos y perros. Se trata de genes con una función importante en el mantenimiento de la estabilidad genómica. Debido a la gran similitud, es posible el uso de biomarcadores humanos en la medicina veterinaria. Las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* son objetivos para su uso como biomarcadores bien definidos y establecidos para tumores de mama y cuello uterino en mujeres. Su elevado uso es relevante en medicina veterinaria, como se observa en la literatura humana. Con esta revisión se destaca que el potencial de utilizar los genes *BRCA1* y *BRCA2* como biomarcadores de carcinomas mamarios caninos con base en estudios existentes es claro, sin embargo, aún se necesitan más estudios que aborden este tema.

Palabras clave: carcinoma mamario, genética, mutaciones, neoplasias.

INTRODUÇÃO

A taxa de tumores de mama diagnosticados em humanos, nos últimos anos, vem aumentando significativamente.^{1,2} O câncer mais frequente em mulheres em todo o mundo é o de mama, com 1,05 milhão de novos casos a cada ano e representa mais de 20% de todas as doenças malignas entre as mulheres.³ Segundo dados mundiais em 2020, 2,3 milhões de mulheres foram diagnosticadas com câncer de mama com 685 mil mortes.² O mesmo cenário pode ser observado na Medicina Veterinária, pois dentre todos os tipos de cânceres que acometem cadelas, mais de 40% são tumores mamários e, destes, aproximadamente 30-50% são diagnosticados como malignos.⁴⁻⁶ Os cães desenvolvem tumores da glândula mamária espontaneamente e algumas características epidemiológicas, clínicas e prognósticas são semelhantes ao câncer de mama humano.⁷⁻⁹

O carcinoma mamário (CM) é o tumor mamário mais diagnosticado em cadelas não castradas¹⁰⁻¹², dos quais aproximadamente 50-70% são diagnosticados como malignos.¹³ Os

tipos mais comuns de carcinomas mamários são adenocarcinoma, carcinoma papilar, carcinoma sólido, carcinoma complexo e carcinosarcoma.^{11,14}

O desenvolvimento dos carcinomas mamários é multifatorial.¹³ São descritos fatores que podem influenciar a incidência de carcinomas mamários em cadelas, como raça, idade e status reprodutivo (animal castrado ou não).⁷ Os resultados de diferentes estudos mostraram que as taxas de incidência de CM em cães de raça pura são significativamente maiores do que em animais sem raça definida⁵ e, dependendo do estudo, raças diferentes parecem ter um risco aumentado de desenvolver CM.¹³⁻¹⁵ Ainda, sabe-se que há vários genes associados à incidência de tumores mamários malignos em humanos, assim como em cadelas. Em humanos, o câncer de mama possui padrão genético estabelecido, enquanto, na Medicina Veterinária, este padrão ainda não está completamente elucidado.^{16,17} Existem vários genes candidatos que foram avaliados quanto à associação ao risco de CM, como *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *CHEK2*, *TOX3*, *ERBB2*, *BRIP1*, *STK11*.^{13,18} Dois desses genes, *BRCA1* e *BRCA2*, estão significativamente associados a tumores mamários em cães.¹⁹

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são responsáveis pela manutenção da estabilidade genômica por meio de seu envolvimento na recombinação homóloga e no reparo acoplado à transcrição e em quebras de fita dupla no DNA.²⁰ Mutações em qualquer um desses genes conferem um risco vitalício de câncer de mama e de ovário em humanos²¹ e, em cães, estão significativamente associados à maior risco de desenvolverem tumores mamários malignos.¹⁵

O presente estudo visou realizar uma revisão de literatura sobre a importância do entendimento dos genes *BRCA1* e *BRCA2* e dos impactos de mutações destes genes em tumores mamários caninos.

CARCINOMA MAMÁRIO CANINO

A glândula mamária é encontrada exclusivamente em mamíferos.^{9,22} Os cães apresentam comumente cinco pares de mama, cada uma caracterizada por um corpo mamário (composto por oito a quatorze lóbulos, tecido conjuntivo e pele) e uma papila mamária.⁹

A mama é uma glândula sudorípara apócrina modificada, caracterizada por estrutura tubuloalveolar.⁹ Histologicamente é caracterizada por um longo sistema ductolobular, composto por epitélio que forma uma população de células em dupla camada: células epiteliais luminiais e células mioepiteliais basais, justapostas a uma membrana basal contínua.⁹ Os ductos maiores são revestidos por epitélio cúbico em camada dupla, enquanto os ductos menores têm monocamada de epitélio cúbico e todos os ductos são circundados por células mioepiteliais fusiformes.⁹ Os alvéolos não secretores são semelhantes aos ductos menores, enquanto os alvéolos secretores têm epitélio luminal cuboidal a colunar e são circundados por células mioepiteliais.²² A glândula mamária é hormônio-dependente e sua atividade cíclica está associada às fases sucessivas de desenvolvimento e regressão.^{23,24}

Os tumores mamários caninos possuem morfologia variada, com formação de tumores simples, complexos, mistos e mesenquimais.^{7,25,26} Tumores mistos benignos são muito comuns e formados pela proliferação benigna de células epiteliais e mioepiteliais glandulares, com elementos mesenquimais metaplásicos, principalmente cartilagem e osso.^{7,25}

Carcinomas são as neoplasias de mama malignas mais comuns e são classificados de acordo com suas características morfológicas.^{7,25} Nos carcinomas simples há proliferação de apenas um tipo celular (células epiteliais luminiais ou mioepiteliais), enquanto os carcinomas complexos são caracterizados por proliferação de duas populações de células (células epiteliais luminiais e mioepiteliais).⁷

Os carcinosarcomas são outro tipo de neoplasia mamária que acomete as cadelas. Sua ocorrência é incomum, quando comparado aos carcinomas. Esta neoplasia também é denominada como tumor mamário misto maligno, são compostos em parte por células que se

assemelham morfológicamente a componente epitelial e em parte por células que se assemelham morfológicamente a elementos do tecido conjuntivo. Os dois componentes são malignos.²⁵ O componente epitelial metastiza por meio de vasos linfáticos para os linfonodos regionais e os pulmões, e o componente mesenquimal, pela via hematogênica para os pulmões.⁷

GENES *BRCA1* E *BRCA2*

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são responsáveis pela manutenção da estabilidade genômica por meio de seu envolvimento na recombinação homóloga e no reparo acoplado à transcrição e em quebras de fita dupla no DNA.²⁰ Esses genes são necessários para uma explosão proliferativa normal na embriogênese inicial e são regulados positivamente com a proliferação de células epiteliais da mama durante a puberdade, gravidez e lactação.²⁷ Esses dois genes são membros da família dos genes da granina, que suprime o crescimento de tumores.²⁸

O gene *BRCA1* está localizado no cromossomo humano 17q21 e é expresso em muitos tecidos de mamíferos.¹⁶ Em células de mamíferos, a recombinação homóloga (HR) e a junção final não homóloga (NHEJ) são duas principais vias para reparar quebras de fita dupla de DNA (DSBs) para a integridade do genoma. Tanto o domínio RING quanto o domínio BRCT do *BRCA1* são essenciais para que a HR mantenha a estabilidade do genoma.³

O gene *BRCA2* codifica uma proteína grande relacionada ao reparo da recombinação homóloga do DNA por meio de suas interações com a recombinase RAD51.²⁹ O *BRCA2* consiste em 27 éxons, que codificam um transcrito de 11 a 12 kb. A sequência do cDNA do *BRCA2*, que prevê uma proteína de 3.418 aminoácidos, não apresenta nenhuma homologia óbvia com qualquer outra proteína.³⁰ A homologia geral da sequência de aminoácidos da proteína *BRCA2* é de 68% entre caninos e humanos e de 58% entre caninos e camundongos.³⁰ O *BRCA2* canino inclui as repetições BRC que são conservadas entre as espécies até agora relatadas.¹⁷

BRCA1 E *BRCA2* BIOMARCADORES EM CANCER DE MAMA

Biomarcadores são proteínas que podem ser medidas no sangue ou em outros tecidos (como tecido tumoral) e fornecem dados sobre a presença de uma doença, a eficácia do tratamento ou o prognóstico futuro do paciente.^{31,32}

Diversos marcadores moleculares ligados ao crescimento de tumores foram descobertos nos últimos anos.^{16,17,31} Um estudo mostrou que vários genes ligados ao desenvolvimento e incidência do câncer da mama humano também desempenham papéis cruciais na formação de tumores mamários em caninos.¹⁷ Mutações no gene *BRCA*, expressão proteica de EGFR, Ki-67, HER2/neu, p53, p63, metaloproteinases de matriz, fosfatase e homólogo de tensina, proteínas de choque térmico, mucinas, maspina, antígeno Sialyl Lewis X e ciclooxigenase-2 são alguns desses marcadores. Todos esses marcadores possuem potencial para ser estabelecido um prognóstico de tumores mamários caninos.^{16,17,31}

Na medicina veterinária, os padrões hereditários do CM ainda estão sob investigação, mas acredita-se que diversas raças estejam predispostas.¹⁸

MUTAÇÕES EM *BRCA1* E *BRCA2*

Mutações pontuais que resultam em códons de terminação, mutações de mudança de quadro líderes de *indel* e mutações que afetam o controle da transcrição são algumas das mutações encontradas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. A maioria das mutações nos genes *BRCA1/2* encontradas são causadas por truncamentos, alterando apresentação fenotípica de suas proteínas.^{13,18,33} Truncamentos são gerados à partir de processos de *indels*, mutações sem

sentido, variantes de *splice* ou rearranjos.^{19,34,35,36} Além disso, outras variações de sequência cujos impactos ainda não foram determinados foram encontradas nesses genes.^{13,18}

Fenótipos mutantes desses genes predisõem ao câncer de mama e de ovário em mulheres.³⁷ Mutações em qualquer um desses genes conferem um risco vitalício de câncer de mama de 60 a 85% e um risco vitalício de câncer de ovário de 15 a 40%.²¹

Ao examinar a expressão oncogênica comum entre o câncer de mama em humanos e caninos, foram observadas semelhanças significativas nas redes de sinalização que regulam a biologia do câncer mamário.¹⁸ Mutações germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* têm sido associadas a um risco relativamente alto de desenvolvimento de tumor mamário em certas raças de cães.¹⁸ Uma associação entre a expressão de gene mutado de *BRCA1* ou *BRCA2* e a recombinase RAD51 (*RAD51*), uma proteína reparadora de DNA que, quando regulada positivamente, está associada ao desenvolvimento de tumores mamários, também foi relatada em cães.^{18,38} Além disso, foi descrito que a expressão de *BRCA1* estava reduzida na lesão maligna de CM.³⁹

COMENTÁRIOS FINAIS

Dessa forma, é notório o potencial uso dos genes *BRCA1* e *BRCA2* como biomarcadores em carcinoma mamários caninos. A partir de estudos já existentes como os revisados, fica evidenciada a necessidade de maiores detalhamentos quanto a utilização e leitura dos dados obtidos. Contudo, com os atuais avanços da medicina veterinária é possível se estabelecer uma relação em mutações em ambos os genes podem estar intrinsecamente ligados ao carcinoma mamário canino, assim como é observado na medicina humana.

REFERÊNCIAS

1. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res.* 2017;50:33. doi: 10.1186/s40659-017-0140-9.
2. National Cancer Institute [Internet]. Rockville: National Cancer Institute; [citado 8 Out 2023]. Disponível em: <https://www.cancer.gov>
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer.* 2001;94(2):153-6. doi: 10.1002/ijc.1440.
4. Dobson JM, Samuel S, Milstein H, Rogers K, Wood JLN. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract.* 2002;43(6):240-6. doi: 10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x.
5. Merlo DF, Rossi L, Pellegrino C, Ceppi M, Cardellino U, Capurro C, et al. Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *J Vet Intern Med.* 2008;22(4):976-84. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x.
6. Vascellari M, Baioni E, Ru G, Carminato A, Mutinelli F. Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. *BMC Vet Res.* 2009;5:39. doi: 10.1186/1746-6148-5-39.
7. Misdorp W. Tumors of the mammary gland. In: Meuten DJ, editor. *Tumors in domestic animals.* Ames: Iowa State Press; 2002. p. 575-606.
8. Mohammed SI, Meloni GB, Parpaglia MLP, Marras V, Burrari GP, Meloni F, et al. Mammography and ultrasound imaging of preinvasive and invasive canine spontaneous

- mammary cancer and their similarities to human breast cancer. *Cancer Prev Res.* 2011;4(11):1790-8. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0084.
9. Sorenmo KU, Rasotto R, Zappulli V, Goldschmidt MH. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Vet Pathol.* 2011;48(1):85-97. doi: 10.1177/0300985810389480.
 10. Benavente MA, Bianchi CP, Aba MA. Canine mammary tumors: risk factors, prognosis and treatments. *J Vet Adv.* 2016;6(8):1291-300. doi: 10.5455/jva.20160916045115.
 11. Reddy GBM, Kumar P, Kumar R, Pawaiya RVS, Ravindran R. Histopathological classification and incidence of canine mammary tumours. *Indian J Vet Pathol.* 2009;33(2):152-5. doi: 10.4314/ovj.v8i3.3.
 12. Salas Y, Márquez A, Diaz D, Romero L. Epidemiological study of mammary tumors in female dogs diagnosed during the period 2002–2012: a growing animal health problem. *PLoS ONE.* 2015;10(5):e0127381. doi: 10.1371/journal.pone.0127381.
 13. Borge KS, Børresen-Dale AL, Lingaas F. Identification of genetic variation in 11 candidate genes of canine mammary tumor. *Vet Comp Oncol.* 2011;9(4):241-50. doi: 10.1111/j.1476-5829.2010.00250.x.
 14. Jitpean S, Hagman R, Ström Holst B, Höglund OV, Pettersson A, Egenvall A. Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs. *Reprod Domest Anim.* 2012;47(6):347-50. doi: 10.1111/rda.12103.
 15. Moe L. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. *J Reprod Fertil Suppl.* 2001;57:439-43.
 16. Kaszak I, Ruszczak A, Kanafa S, Kacprzak K, Król M, Jurka P. Current biomarkers of canine mammary tumor. *Acta Vet Scand.* 2018;60:66. doi: 10.1186/s13028-018-0417-1.
 17. Mobasher A, Cassidy JP. Biomarkers in veterinary medicine: towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Vet J.* 2010;185(1):1-3. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.04.003.
 18. Rivera P, Melin M, Biagi T, Fall T, Haggstrom J, Lindblad-Toh K, et al. Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Res.* 2009;69(22):8770-4. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1725.
 19. Enginler SO, Akis I, Toydemir TSF, Oztabak K, Haktanir D, Gunduz MC, et al. Genetic variations of BRCA1 and BRCA2 genes in dogs with mammary tumours. *Vet Res Commun.* 2014;38(1):21-7. doi: 10.1007/s11259-013-9577-7.
 20. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science.* 1990;250(4988):1684-9.
 21. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(23):2339-47. doi: 10.1056/NEJMra012284.
 22. Constantinescu GM. Illustrated veterinary anatomical nomenclature. Stuttgart: Ferdinand Enke; 1992.

23. Rehm S, Stanislaus DJ, Williams AM. Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2007;80(3):233-45. doi: 10.1002/bdrb.20121.
24. Santos M, Marcos R, Faustino AMR. Histological study of canine mammary gland during the oestrous cycle. *Reprod Domest Anim.* 2010;45(5):146-54. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01536.x.
25. Goldschmidt M, Pena L, Rasotto R, Zapulli V. Classification and grading canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 2011;48(1):117-31. doi: 10.1177/0300985810393258.
26. Misdorp W, Else RW, Hellmen E. Histologic classification of mammary tumors of the dog and cat. Washington: Armed Force Institute of Pathology and World Health Organization; 1999. Vol. 7.
27. Rajan JV, Marquis ST, Gardner HP, Chodosh LA. Developmental expression of Brca2 colocalizes with Brca1 and is associated with proliferation and differentiation in multiple tissues. *Dev Biol.* 1997;184(2):385-401. doi: 10.1006/dbio.1997.8526.
28. Phillips K-A, Andrulis IL, Goodwin PJ. Breast carcinomas arising in carriers of mutations in BRCA1 or BRCA2: are they prognostically different? *J Clin Oncol.* 1999;17(11):3653-63. doi: 10.1200/JCO.1999.17.11.3653.
29. Ochiai K, Yoshikawa Y, Oonuma T, Tomioka Y, Hashizume K, Morimatsu M. Interactions between canine RAD51 and full length or truncated BRCA2 BRC repeats. *Vet J.* 2011;190(2):293-5. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.11.001.
30. Bignell G, Stratton MR, Ashworth A, Woster R. The BRC repeats are conserved in mammalian BRCA2 proteins. *Hum Mol Genet.* 1997;6(1):53-8. doi: 10.1093/hmg/6.1.53.
31. Henry CJ. Biomarkers in veterinary cancer screening: applications, limitations and expectations. *Vet J.* 2010;185(1):10-4. doi: 10.1126/science.2270482.
32. Visan S, Balacescu O, Berindan-Neagoe I, Catoi C. In vitro comparative models for canine and human breast cancers. *Clujul Med.* 2016;89(1):38-49. doi: 10.15386/cjmed-519.
33. Couch FJ, Weber BL. Mutations and polymorphisms in the familial early-onset breast cancer (BRCA1) gene. *Hum Mutat.* 1996;8(1):8-18. doi: 10.1002/humu.1380080102.
34. Casilli F, Tournier I, Sinilnikova OM, Coulet F, Soubrirer F, Houdayer C, et al. The contribution of germline rearrangements to the spectrum of BRCA2 mutations. *J Med Genet.* 2006;43(9):e49. doi: 10.1136/jmg.2005.040212.
35. Tavtigian SV, Simard J, Rommens J, Couch F, Shattuck-Eidens D, Neushausen S, et al. The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. *Nat Genet.* 1996;12(3):333-7. doi: 10.1038/ng0396-333.
36. Walsh T, Casadei S, Coats KH, Swisher E, Stray SM, Higgins J, et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA.* 2006;295(12):1379-88. doi: 10.1001/jama.295.12.1379.

37. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994;266(5182):66-71. doi: 10.1126/science.7545954.
38. Yoshikawa Y, Morimatsu M, Ochiai K, Ishiguro-Oonuma T, Wada S, Orino K, et al. Reduced canine BRCA2 expression levels in mammary gland tumors. *BMC Vet Res*. 2015;11:159. doi: 10.1186/s12917-015-0483-9.
39. Nieto A, Pérez-Alenza MD, Del Castillo N, Tabanera E, Castaño M, Peña L. BRCA1 expression in canine mammary dysplasias and tumours: relationship with prognostic variables. *J Comp Pathol*. 2003;128(4):260-8. doi: 10.1053/jcpa.2002.0631.

Recebido em: 10/10/2023

Aceito em: 12/08/2024