

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Estudo retrospectivo sobre as características clinicopatológicas,  
imunohistoquímicas e seguimento dos tumores de glândulas hepatóides em  
cães**

Hellen Magela Barreto  
*Magister Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**HELLEN MAGELA BARRETO**

**Estudo retrospectivo sobre as características clinicopatológicas,  
imunohistoquímicas e seguimento dos tumores de glândulas hepatóides em  
cães**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Fabiana Azevedo Voorwald

Coorientador: Carlos E. Fonseca Alves

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Barreto, Hellen Magela, 1994-  
B273e           Estudo retrospectivo sobre as características  
2024           clínicopatológicas, imuno-histoquímicas e seguimento dos  
                  tumores de glândulas hepatoides em cães / Hellen Magela  
                  Barreto. – Viçosa, MG, 2024.  
                  1 dissertação eletrônica (55 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.  
Orientador: Fabiana Azevedo Voorwald.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Veterinária, 2024.  
Referências bibliográficas: f. 51-52.  
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.050>  
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Oncologia veterinária. 2. Cães - Doenças. 3. Câncer -  
Diagnóstico - Estatísticas. 4. Histopatologia veterinária.  
5. Adenoma. 6. Carcinoma. I. Voorwald, Fabiana Azevedo,  
1982-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.70896994

**HELLEN MAGELA BARRETO**

**Estudo retrospectivo sobre as características clinicopatológicas,  
imunohistoquímicas e seguimento dos tumores de glândulas hepatóides em  
cães**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de dezembro de 2024.

Assentimento:

---

Hellen Magela Barreto  
Autora

---

Fabiana Azevedo Voorwald  
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 19/02/2025 às 11:11:21 e pela orientadora em 19/02/2025 às 11:30:42. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **KWU9.EAPV.KU3X** e clique no botão 'Validar documento'.



## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A Deus toda gratidão por ser meu pai nos momentos de alegria, ser o caminho nos momentos de incerteza e por ser refúgio nos momentos necessários. Obrigada pelo dom que me concedeste.

À minha família, que acompanhou o tempo de minha ausência por força das ocupações acadêmicas ao longo de todos estes anos, meu isolamento nos intermináveis momentos de estudo, mas que sempre me apoiou e me deu forças para continuar. Agradeço à minha irmã Aline, por ser sempre meu melhor ombro amigo, por me ouvir, me aconselhar e ser minha fortaleza. Sem você eu nada seria. À minha mãe Regina, obrigada por acreditar em mim e por me incentivar a perseguir meus sonhos, mesmo, e principalmente, quando eu mesma não acreditava. Ao meu pai Luiz Antônio, obrigada por aceitar e apoiar minhas decisões, mesmo quando elas pareciam arriscadas. À minha avó Anita, muito obrigada por sempre cuidar de mim e me fazer acreditar em um mundo melhor.

À minha professora e mentora, Fabiana, minha eterna gratidão por todo aprendizado, paciência e dedicação à minha formação acadêmica e profissional. Você é para mim um exemplo a ser seguido. Aos meus professores do Programa de Mestrado, meus sinceros agradecimentos por todo apoio e incentivo a mim dedicados. E por fim, agradeço aqueles que motivaram meu ingresso na Medicina Veterinária, meus gatos amados. Tudo isso é para vocês, por vocês.

“Aprender é descobrir aquilo que você já sabe. Fazer é demonstrar que você o sabe.  
Ensinar é lembrar aos outros que eles sabem tanto quanto você. Vocês são todos  
aprendizes, fazedores, professores.”

Richard Bach

## RESUMO

BARRETO, Hellen Magela, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2024. **Estudo retrospectivo sobre as características clinicopatológicas, imunohistoquímicas e seguimento dos tumores de glândulas hepatóides em cães.** Orientadora: Fabiana Azevedo Voorwald. Coorientador: Carlos Eduardo Fonseca Alves.

Objetivou-se com o presente estudo caracterizar os aspectos clinicopatológicos e imuno-histoquímicos dos tumores de glândulas hepatóides em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, entre os anos de 2016-2022, bem como seguimento desses pacientes. Observando o grau de concordância entre os patologistas envolvidos. A classificação morfológica seguiu as normas da Organização Mundial de Saúde (OMS). Foram utilizados os marcadores imuno-histoquímicos ki67 e VEGF. As características histopatológicas e imuno-histoquímicas foram correlacionadas estatisticamente com o prognóstico por meio do comportamento biológico dos tumores, frente a evolução dos pacientes. A classificação de tumores de glândula hepatoide como malignos, em sua apresentação de carcinoma, muitas vezes ocorre de forma superestimada, devido à observação de aspectos considerados negativos na avaliação histopatológica, devido à avaliação subjetiva do patologista na ausência de guidelines e algoritmos para correta classificação. Cães de diferentes raças, idades e sexo apresentando lesões em glândulas hepatóides que foram atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, entre os anos de 2016-2022 foram incluídos neste estudo. Observou-se uma concordância total em 44% dos casos, e discordância em 8%. A marcação de Ki67 apresentou associação significativa com o diagnóstico, sendo maior nos casos de carcinoma, intermediária em epitelomas e baixa em adenomas. Não foi possível a associação entre a marcação de VEGF e o prognóstico das neoplasias hepatóides. Os critérios histopatológicos mais relevantes para o diagnóstico foram a presença de infiltração, atipia celular, grau de atipia e perda da polaridade celular.

Palavras-chave: oncologia veterinária; adenoma; carcinoma; epiteloma; cirurgia oncológica; histopatologia

## ABSTRACT

BARRETO, Hellen Magela, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2024. **Retrospective study on the clinicopathological, immunohistochemical characteristics and follow-up of hepatoid gland tumors in dogs.** Adviser: Fabiana Azevedo Voorwald. Co-adviser: Carlos Eduardo Fonseca Alves.

The objective of this study was to characterize the clinicopathological and immunohistochemical aspects of hepatoid gland tumors in dogs treated at the Veterinary Hospital of the Federal University of Viçosa, between the years 2016-2022, as well as follow-up of these patients. Observing the degree of agreement between the pathologists involved. Strict morphological classification according to the standards of the World Health Organization (WHO). The immunohistochemical markers ki67 and VEGF were used. The histopathological and immunohistochemical characteristics were statistically correlated with the prognosis through the biological behavior of the tumors, given the patients' evolution. The classification of hepatoid gland tumors as malignant, in their presentation as carcinoma, is often overestimated, due to the observation of aspects considered negative in the histopathological evaluation, due to the subjective evaluation of the pathologist in the absence of guidelines and algorithms for correct classification. Dogs of different breeds, ages and sex presenting lesions in the hepatoid glands that were treated at the Veterinary Hospital of the Federal University of Viçosa, between the years 2016-2022 were included in this study. Total agreement was observed in 44% of cases, and disagreement in 8%. Ki67 staining showed a significant association with the diagnosis, being higher in cases of carcinoma, intermediate in epitheliomas and low in adenomas. It was not possible to establish an association between VEGF labeling and the prognosis of hepatoid neoplasms. The most relevant histopathological criteria for diagnosis were the presence of infiltration, cellular atypia, degree of atypia and loss of cellular polarity.

Keywords: veterinary oncology; adenoma; carcinoma; epithelioma; oncological surgery; histopathology

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Coeficientes de concordância kappa ( $\pm$ e.p.).....	26
Tabela 2 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 1 e Patologista 2. ....	27
Tabela 3 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 1 e Patologista 3. ....	27
Tabela 4 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 2 e Patologista 3. ....	28
Tabela 5 Diagnóstico dos três patologista para cada amostra. ....	28
Tabela 6 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico. ....	30
Tabela 7 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico. ....	33
Tabela 8 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico. ....	36
Tabela 9 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.....	37
Tabela 10 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.....	39
Tabela 11 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.....	41
Tabela 12 Valores do Ki67 (média $\pm$ e.p.) de acordo com o diagnóstico para cada patologista. ....	44
Tabela 13 Descrição histopatológica dos casos em que houve concordância de diagnósticos entre os patologistas. ....	48

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Algoritmo para diferenciar hiperplasia / adenoma / epiteloma / carcinoma de glândulas hepatóides em esfregaços de punção por agulha fina. Fonte: SABATTINI et al. Cytological differentiation between benign and malignant perianal gland proliferative lesions in dogs: a preliminary study (2019). .....	15
Figura 2 Fotomicrografia de Adenoma de glândula hepatóide de cão. Nota-se baixa atipia e arquitetura lobular preservada. H.E. 10x.....	20
Figura 3 Fotomicrografia de Epiteloma de glândula hepatóide de cão. Nota-se padrão lobular distorcido, maior celularidade e discreta atipia. H.E. 10x. ....	21
Figura 4 Fotomicrografia de Carcinoma de glândula hepatóide de cão. Notar desorganização arquitetural acentuada, com atipias frequentes e alta densidade celular. H.E. 10x.....	21
Figura 5 Imunoistoquímica para Ki67 de glândula hepatóide. Nota-se marcação nuclear esparsa. 10x.....	22
Figura 6 Imunoistoquímica para Ki67 de glândula hepatóide. Marcação nuclear realçando discreto pleomorfismo nuclear. 40x. ....	23
Figura 7 Imunoistoquímica para VEGF em glândula hepatóide de cão. Notar marcação heterogênea. 10x.....	24
Figura 8 Imunoistoquímica para VEGF em glândula hepatóide de cão. Notar marcação citoplasmática difusa intensa. 40x.....	24
Figura 9 Prevalência das raças entre os animais do estudo.....	26
Figura 10 Infiltração $P < 0,0001$ pelo teste de Freeman-Halton.....	29
Figura 11 Atipia $P = 0,0008$ pelo teste de Freeman-Halton.....	30
Figura 12 Infiltração $P = 0,0001$ pelo teste de Freeman-Halton.....	31
Figura 13 Perda de polaridade $P < 0,0001$ pelo teste de Freeman-Halton.....	31
Figura 14 Índice mitótico $>7$ , $P = 0,0018$ pelo teste de Freeman-Halton. ....	32
Figura 15 Diferenciação sebácea $P = 0,0194$ pelo teste de Freeman-Halton.....	32
Figura 16 Presença de atipia $P < 0,0001$ pelo teste de Freeman-Halton.....	33
Figura 17 Grau de atipia $P = 0,0283$ pelo teste de Freeman-Halton.....	33
Figura 18 Infiltração $P = 0,0267$ pelo teste de Freeman-Halton.....	34
Figura 19 Perda de polaridade $P < 0,0001$ pelo teste de Freeman-Halton.....	35
Figura 20 Diferenciação sebácea $P = 0,0021$ pelo teste de Freeman-Halton.....	35

Figura 21 Presença de atipia P = 0,0002 pelo teste de Freeman-Halton.....	36
Figura 22 Grau de atipia P = 0,0003 pelo teste de Freeman-Halton.....	36
Figura 23 Curva de sobrevivência geral.....	37
Figura 24 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma; p = 0,0199 pelo teste de Log-Rank. ....	38
Figura 25 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico; p = 0,0047 pelo teste exato de Fisher.....	39
Figura 26 Curva de sobrevivência geral.....	39
Figura 27 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma; p = 0,3437 pelo teste de Log-Rank. ....	40
Figura 28 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico; p = 0,4996 pelo teste exato de Fisher.....	41
Figura 29 Curva de sobrevivência geral.....	41
Figura 30 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma; p = 0,2114 pelo teste de Log-Rank. ....	42
Figura 31 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico; p = 0,3881 pelo teste exato de Fisher.....	43
Figura 32 Óbitos até 12 meses de acordo com a presença de VEGF; p = 1,0000 pelo teste exato de Fisher.....	43
Figura 33 Mapa mental para diagnóstico de neoplasias de glândula hepatoide. ....	50

## Sumário

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Adenomas, epitelomas e adenocarcinomas hepatoides .....	13
2.2	Comportamento biológico .....	14
2.3	Diagnóstico .....	14
2.4	Tratamento.....	16
2.5	Prognóstico .....	17
3	JUSTIFICATIVA .....	18
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1	Aspectos éticos .....	19
4.2	Delineamento do estudo .....	19
4.2.1	Análise Histopatológica .....	20
	Análise Imuno-Histoquímica.....	22
4.2.2.....	.....	22
4.2.3	Análises estatísticas .....	25
4.3	Resultados .....	25
4.3.1	Caracterização dos animais.....	25
4.3.2	Concordâncias entre patologistas.....	26
4.3.3	Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 1).....	29
4.3.4	Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 2).....	30
4.3.5	Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 3).....	34
4.3.6	Análise de sobrevivência (Patologista 1) .....	36
4.3.7	Análise de sobrevivência (Patologista 2) .....	39

4.3.8	Análise de sobrevivência (Patologista 3) .....	41
4.3.9	Associação entre sobrevida e VEGF .....	43
4.3.10	Associação entre diagnósticos e marcação do Ki67 .....	43
5	DISCUSSÃO .....	45
6	CONCLUSÃO .....	48
7	PERSPECTIVAS .....	50
8	REFERÊNCIAS .....	51
APÊNDICE A – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 1		
	53	
A PÊNDICE B – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 2		
	54	
APÊNDICE C – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 3		
	55	

## 1 INTRODUÇÃO

As neoplasias de glândula hepatoide são tumores comuns na rotina veterinária, e se originam de glândulas sebáceas modificadas não secretoras presentes na região perianal, base de cauda, prepúcio e região medial de membros pélvicos de cães. As glândulas são também conhecidas como glândulas hepatoides uma vez que histologicamente possuem células que se assemelham aos hepatócitos, sendo circundadas por uma única camada de células basais de reserva (SHABEEBA, P.M. *et al*, 2021).

Sabattini *et al.* (2019) citam como lesões proliferativas oriundas dessas glândulas hiperplasia, adenoma, epiteloma e carcinoma. Acredita-se que os adenomas são hormônio dependentes, sendo os machos inteiros idosos os mais acometidos, e raramente fêmeas ou machos castrados.

De acordo com estudo realizado por Wasques *et al.* (2022) observa-se grande discordância no diagnóstico de neoplasias benignas e malignas das glândulas hepatoides, o que poderia ser justificada pelo uso de diferentes diretrizes, uma vez que ainda não foram determinados critérios histomorfológicos específicos preditivos de mau prognóstico para esses tumores. A reprodutibilidade é essencial no que tange à classificação anatomopatológica, e a ausência de concordância entre patologistas pode impedir uma avaliação mais precisa e confiável.

Diversos estudos indicam a utilização de marcadores imuno-histoquímicos para determinação da origem celular, sendo indicados nos casos de neoplasias pouco diferenciadas em região perianal, bem como fator prognóstico (PETERRINO, *et al.*, 2004; PEREIRA, *et al.*, 2013; PIEPER, *et al.*, 2015; BRODZKI, *et al.*, 2021).

Devido à baixa casuística dos carcinomas de glândula hepatoide quando comparados com o adenoma, torna-se necessário que mais estudos sejam desenvolvidos a fim de estabelecer algoritmos mais precisos para o diagnóstico, prognóstico e até mesmo fatores preditivos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Adenomas, epitelomas e adenocarcinomas hepatoides

A região perianal dos cães possui diversas estruturas das quais podem se originar tumores, dentre elas podemos citar as glândulas hepatoides, também conhecidas como glândulas hepatoides devido à sua semelhança com os hepatócitos (células funcionais do fígado) e também as glândulas do saco anal, que por sua vez são caracterizadas como apócrinas e secretoras (TUREK & LIPTAK, 2020).

As glândulas hepatoides ou hepatoides estão localizadas na região circum-anal, base de cauda, região medial de membros pélvicos, prepúcio e podem ser encontradas, esporadicamente, em região de tronco (SHABEEBA *et al*, 2021).

Segundo Withrow *et al.* (2020), os tumores de glândulas hepatoides mais comumente observados nessa região incluem: adenomas, epitelomas e carcinomas. Entretanto, neoplasias de diversas origens como sarcomas de tecidos moles, carcinomas de células escamosas e melanomas também podem ser identificadas.

Os adenomas representam cerca de 58 a 96% dos tumores hepatoides e seu desenvolvimento e crescimento parecem estar relacionados à influência hormonal, estimulados por andrógenos e inibidos por estrógenos (TUREK & LIPTAK, 2020).

Os epitelomas são considerados tumores de baixo grau de malignidade, com tendência a ser mais localmente invasivos que metastáticos, e portanto demandando cirurgias mais agressivas. Ainda há poucos estudos que suportam a diferenciação entre adenomas e epitelomas (BRODZKI *et al.*, 2014).

Os adenocarcinomas hepatoides são considerados tumores malignos devido ao seu potencial de metástase. Ocorrem com menor frequência quando comparados com os adenomas, chegando a representar de 3 a 21% das neoplasias da região. Podem acometer machos inteiros ou castrados, e também fêmeas, portanto são considerados hormônio-independentes (HILL *et al.*, 2005).

## 2.2 Comportamento biológico

Adenomas possuem características benignas, com crescimento e progressão lentas, apesar da possibilidade de lesões invasivas localmente, não provocam metástases (TUREK & LIPTAK, 2020).

Já os adenocarcinomas hepatoides são considerados neoplasias malignas, porém com baixa taxa de metástase; cerca de 15% no momento do diagnóstico, se tornando mais provável com o desenvolvimento da doença, quando há maior invasão local e volume tumoral. O sítio de predileção para metástase são os linfonodos regionais. Metástases à distância são raras, e podem ocorrer no fígado, pulmão, rim e ossos. Se diferenciam clinicamente dos adenomas, como tumores mais firmes, aderidos e de crescimento rápido (PEREIRA, *et al.*, 2013).

## 2.3 Diagnóstico

O exame físico da neoplasia em região perianal pode ser sugestivo quanto à sua natureza (maligno ou benigno), entretanto não deve ser considerado de forma isolada uma vez que adenomas podem ser facilmente confundidos com adenocarcinomas durante a avaliação macroscópica (TUREK & LIPTAK, 2020).

Segundo Sabbatini *et al.* (2019), o exame citopatológico através de punção por agulha fina possui limitações e vantagens. A principal limitação é a falta de padronização quanto aos critérios avaliados para determinar seu potencial de malignidade, bem como a impossibilidade de acessar tecidos mais profundos, ou avaliar arquitetura tecidual. Em contrapartida, a citologia se apresenta como exame de menor custo financeiro, menor invasividade e relativamente fácil realização. Portanto, Sabbatini *et al.* (2019) propuseram em seu estudo a aplicação de um possível algoritmo para resolução de tais limitações (figura 1). A biopsia incisional é indicada para obtenção de diagnóstico definitivo e planejamento terapêutico. Enquanto os adenomas apresentam células epiteliais dispostas em cordões e trabéculas anastomosantes com extensa diferenciação sebácea, uma camada de células

basalóides de reserva ao redor das ilhas celulares, e pequenos núcleos hipercromáticos e citoplasma estreito, os carcinomas possuem características de malignidade (WITHROW *et al.*, 2020).

Adenocarcinomas hepatoides apresentam marcado pleomorfismo celular, figuras de mitose, células com abundante citoplasma eosinofílico e vacuolizado. Células gigantes multinucleadas também são frequentemente observadas em tumores que sofreram metaplasia escamosa. O estroma de tecido conjuntivo que divide o crescimento tumoral em lobos pode ser visualizado utilizando-se a coloração

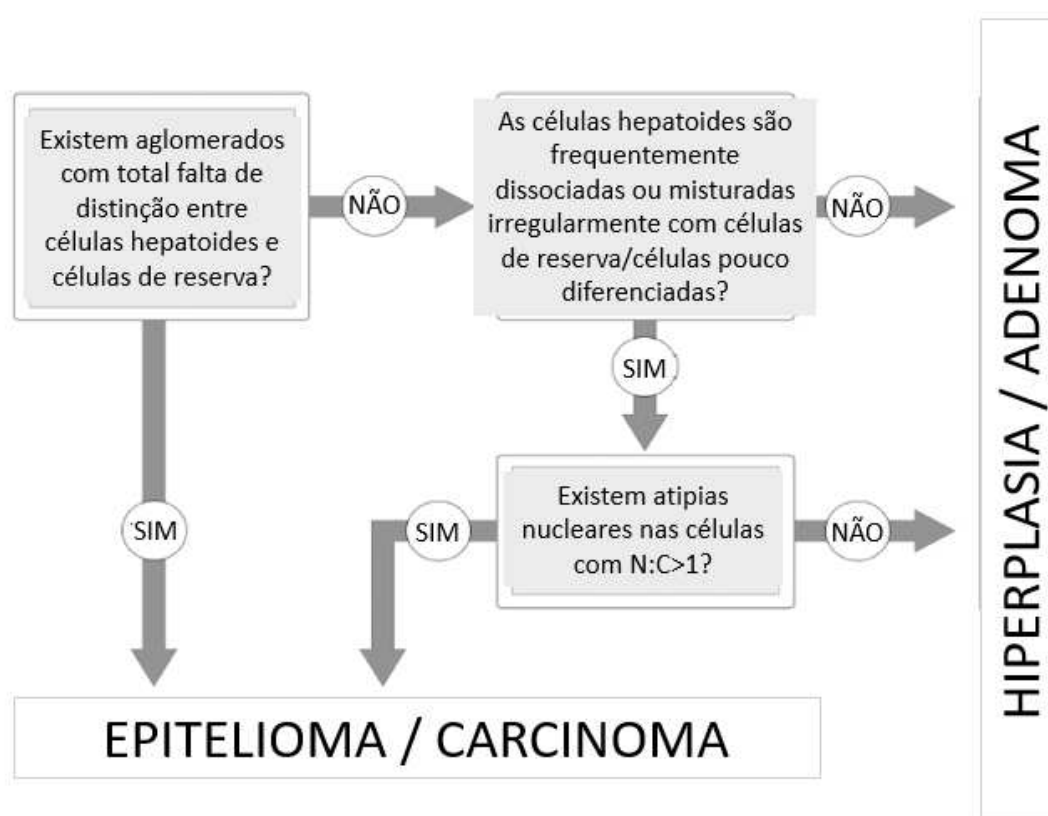


Figura 1 Algoritmo para diferenciar hiperplasia / adenoma / epiteloma / carcinoma de glândulas hepatoides em esfregaços de punção por agulha fina. Fonte: SABATTINI et al. Diferenciação citológica entre lesões proliferativas benignas e malignas da glândula hepatoide em cães: um estudo preliminar (2019).

Tricrômico de Masson. Esta coloração ajuda na diferenciação dos lóbulos de células neoplásicas do estroma adjacente, e a identificar nichos de células cancerosas invasoras (SHABEEBA *et al.*, 2021).

Em alguns casos, entretanto, a diferenciação entre adenomas e adenocarcinomas no estudo histopatológico pode ser difícil, sendo necessário

associar outras técnicas como a imuno-histoquímica. Estudos citam a utilização de marcadores como 1A10, 4A9, PCNA, ki67, vimentina, citoqueratina 7 e 14, EGFR, p63 e VEGF (PETERRINO, *et al.*, 2004; PEREIRA, *et al.*, 2013; PIEPER, *et al.*, 2015; BRODZKI, *et al.*, 2021).

Entretanto, de acordo com Turek & Liptak (2020), mais estudos sobre a eficácia da utilização da imuno-histoquímica na diferenciação de processos benignos e malignos da glândula hepatoide devem ser realizados.

## 2.4 Tratamento

A excisão cirúrgica é o tratamento de eleição para adenomas e carcinomas hepatoides, sendo recomendadas margens menores que 1cm para os primeiros, e ressecções mais amplas neste último, devido sua maior taxa de recorrência e invasão local (PEREIRA, *et al.*, 2013).

No caso de adenomas a orquiectomia também é recomendada devido a ação da testosterona sobre o desenvolvimento de tal neoplasia. Pacientes que possuem adenomas de grande volume, podem se beneficiar da castração em primeiro momento, com objetivo de diminuir o volume tumoral, para subsequente ressecção. Mais de 90% dos animais diagnosticados com adenomas obtém cura após ressecção e castração (KESSLER, 2014).

Adenocarcinomas hepatoides são localmente mais invasivos e não respondem à orquiectomia como os adenomas hepatoides. Para seu tratamento é indicada ressecção cirúrgica agressiva, com margens laterais de no mínimo 1cm. Por vezes é necessária a remoção de metade ou mais da circunferência do esfíncter anal, o que não necessariamente resulta em incontinência fecal (WITHROW *et al.*, 2020).

## 2.5 Prognóstico

Adenomas de glândula hepatoide possuem bom prognóstico, com chances de cura após ressecção cirúrgica completa associada a orquiectomia. Adenocarcinomas da glândula hepatoide, quando diagnosticados precocemente, em estágios iniciais, possuem sobrevida média de até 2 anos em 60% dos casos, demonstrando que o sucesso em relação ao controle local pode estar associado ao estadiamento da doença (VAIL *et al.*, 1990).

A presença de metástase no momento do diagnóstico, que representa 15% dos casos, é considerada um fator prognóstico negativo. No caso de metástase em linfonodos regionais, sua ressecção pode apresentar impacto na sobrevida do paciente (BLEY *et al.*, 2003).

### 3 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos a oncologia vem ganhando espaço como uma especialidade de grande rotina veterinária, seja pela possibilidade de mais métodos diagnósticos, maior especialização de profissionais, aumento da expectativa de vida dos animais e/ou maior proximidade com os humanos.

As neoplasias da região perianal compreendem uma parte significativa da casuística de tumores em cães. Portanto é de extrema importância a diferenciação entre processos malignos, benignos e da origem tumoral. Visto que esta diferenciação promove impacto nos fatores prognóstico e preditivo.

Devido à possibilidade de semelhanças entre os adenomas e adenocarcinomas das glândulas hepatoides no exame histopatológico, pode não ser possível o diagnóstico definitivo sem a associação de outros métodos diagnósticos.

Adenocarcinomas bem diferenciados podem apresentar arquitetura histológica semelhante aos adenomas, levando ao diagnóstico errôneo, que possui impacto na decisão terapêutica e consequente sobrevida do paciente.

O contrário também se mostra verdadeiro, podendo adenomas serem classificados como adenocarcinomas pela presença de características como pleomorfismo importante, o que culmina em abordagens mais mutiladoras durante o procedimento cirúrgico.

O presente trabalho faz-se necessário devido a variabilidade encontrada entre os diagnósticos de lesões de glândula hepatoides quando analisadas por mais de um patologista.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Aspectos éticos**

Este estudo foi desenvolvido após o consentimento do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa. No entanto, não foram utilizados animais vivos no estudo, somente amostras de tecidos fixados e parafinizados. O trabalho em questão foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Viçosa (sob o parecer 6.312.010). Sendo esta pesquisa considerada de risco mínimo.

O estudo foi executado pela médica veterinária Hellen Magela Barreto, registrada no Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro (CRMV-RJ) sob o número: 19000, que foi orientada e supervisionada pela médica veterinária Fabiana Azevedo Voorwald CRMV-SP 20-440, e coorientada pelo médico veterinário Carlos Eduardo Fonseca Alves CRMV-SP 47623.

### **4.2 Delineamento do estudo**

Foi conduzido um estudo retrospectivo de casos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa entre os anos de 2016-2022. O material de estudo foi composto por amostras de biópsias excisionais de diferentes cães, que foram fixadas em formalina tamponada a 10%, fixadas e processadas, sendo incluídas em blocos de parafina e seccionadas em uma espessura de 4-5 $\mu$ m, utilizando micrótomo manual. Em sequência, coradas com hematoxilina e eosina.

Os casos de tumores de glândula hepatoide de cães foram selecionados do banco de dados eletrônico e físico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa. Os critérios de inclusão utilizados: 1. casos com inequívoca diferenciação de glândula hepatoide; 2. casos sem excesso de artefatos (como autólise); 3. casos que o tutor forneceu meios de contato (como telefone, e-mail ou endereço).

Foram avaliadas 25 amostras de 23 animais, 16 machos (69,57%) e sete fêmeas (30,43%).

### 4.2.1 Análise Histopatológica

As lâminas coradas foram revistas por três patologistas experientes em diagnóstico patológico, com pré-requisito mínimo de residência em patologia. As mesmas lâminas foram avaliadas por todos os patologistas (figuras 2, 3 e 4).

Os seguintes critérios morfológicos foram avaliados: grau de infiltração, atipia celular, polaridade celular, porcentagem de células de reserva, porcentagem de necrose tumoral, diferenciação sebácea, diferenciação escamosa, índice mitótico, presença de mitose atípica, presença de figuras mitóticas em células hepatóides e invasão vascular.

A fim de melhorar a detecção de *hotspots*, várias contagens mitóticas foram sugeridas para cada caso, e a maior contagem mitótica foi considerada.

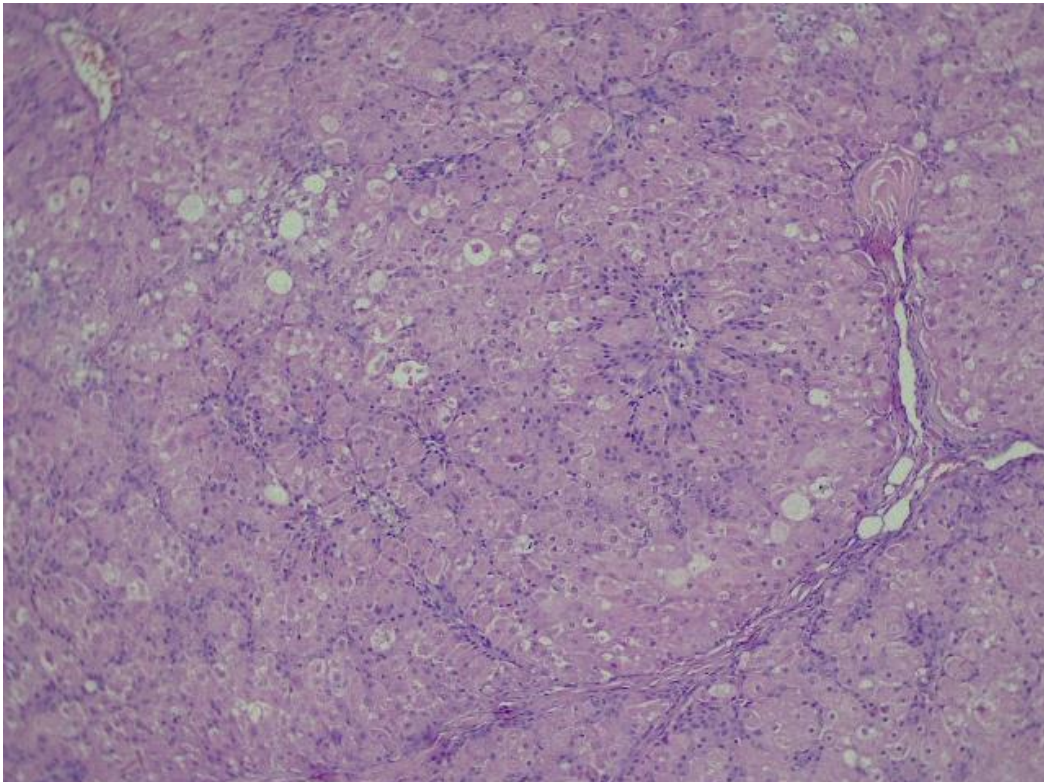


Figura 2 Fotomicrografia de Adenoma de glândula hepatóide de cão. Nota-se baixa atipia e arquitetura lobular preservada. H.E. 10x.

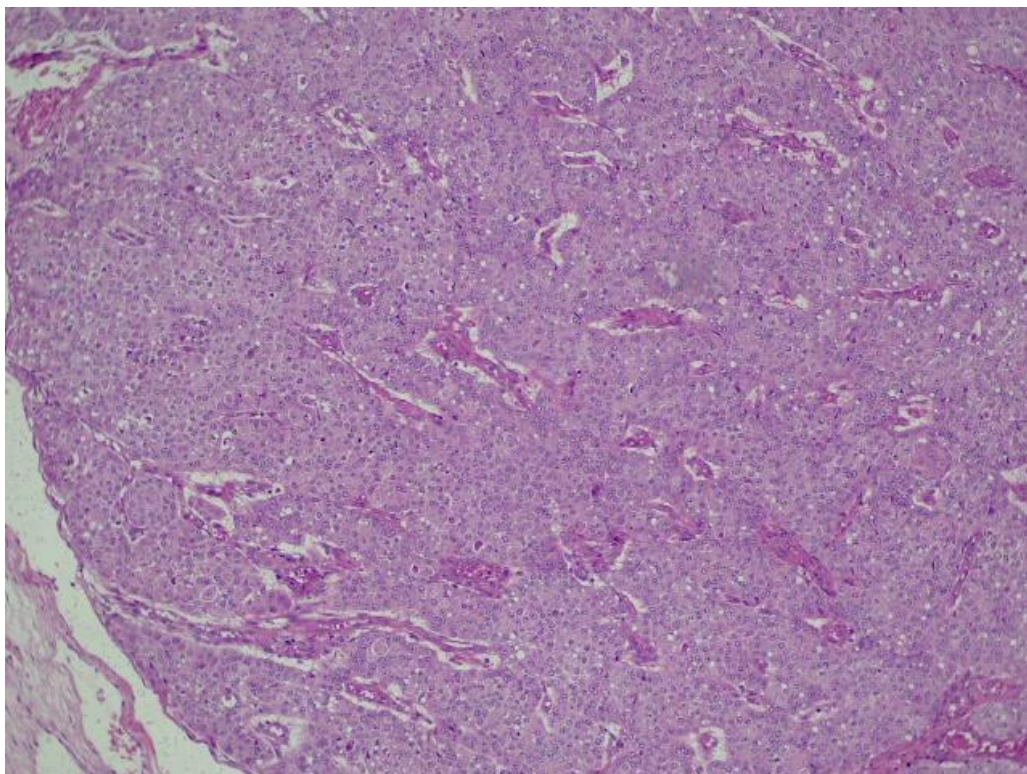


Figura 3 Fotomicrografia de Epitelioma de glândula hepatóide de cão. Nota-se padrão lobular distorcido, maior celularidade e discreta atipia. H.E. 10x.

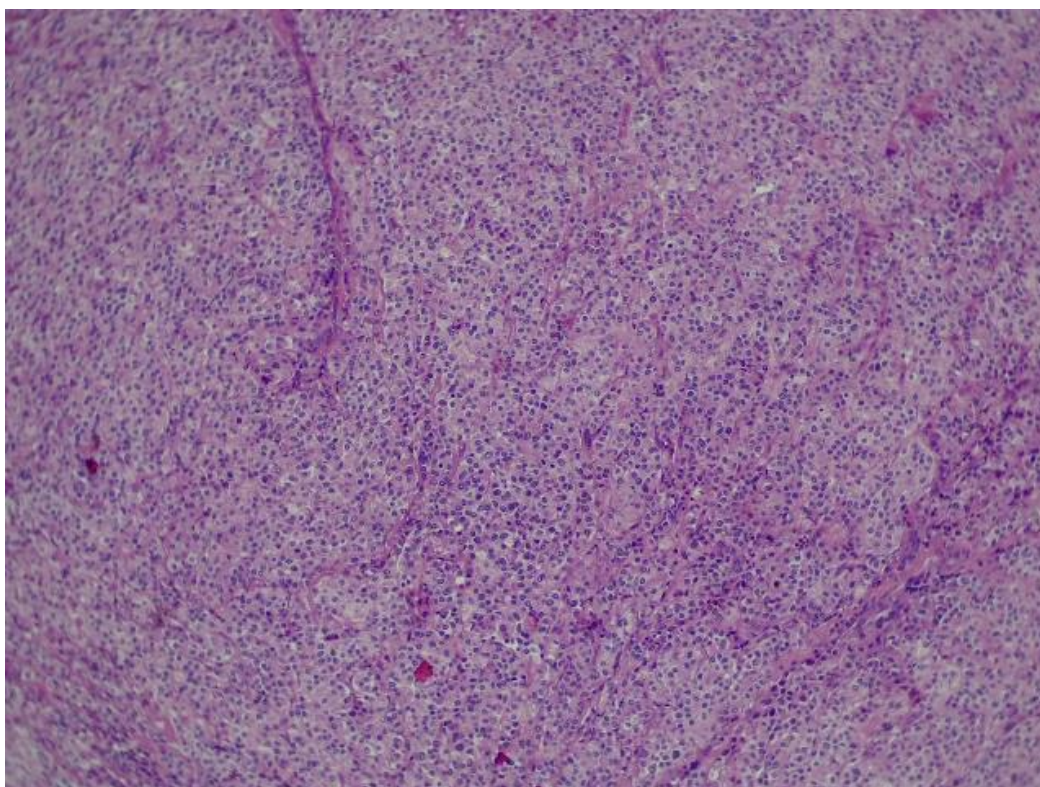


Figura 4 Fotomicrografia de Carcinoma de glândula hepatóide de cão. Nota-se desorganização arquitetural acentuada, com atípicas frequentes e alta densidade celular. H.E. 10x.

## 4.2.2 Análise Imuno-Histoquímica

Para realização do exame de imuno-histoquímica o material foi seccionado em seções de 5  $\mu\text{m}$ , montados em lâminas de vidro silanizadas e desparafinizadas em xilol a 60°C por 30 minutos. A etapa de reidratação consistiu em 2 banhos consecutivos de álcool absoluto (5 minutos cada) seguido de banhos de álcool 95% e 70% e 5 minutos finais banho de PBS por minuto. Para bloqueio de ligações inespecíficas foi aplicada solução de leite em pó desnatado a 3% por 30 minutos.

Para localização da proteína Ki67 utilizou-se o método imunohistoquímico da streptoavidina-biotina-peroxidase. A recuperação antigênica foi realizada em solução de ácido cítrico (10 mM, pH 6,0) em panela de pressão. Após bloqueio com 6% solução de peróxido de hidrogênio, as lâminas foram incubadas com anticorpos primários, anti-Ki-67 MIB-1 Novocastra® (Ki67: 1:300), anticorpo monoclonal de camundongo anti-VEGF Abcam®, ab1316 (VEGF 1:100), durante a noite em câmara úmida a 4°C. Os slides foram em seguida, incubados com polímero conjugado Super Picture Poly HRP em 37 °C por 30 minutos, reelaborado em solução de diaminobenzidina e contrastada com hematoxilina de Harris.

A contagem de Ki67 foi realizada em microscopia ótica convencional, contando-se 500 células totais e destas as positivas para Ki67 (padrão nuclear). A contagem foi realizada com objetiva de 40x, sempre priorizando as áreas de *hot spot* (figura 5 e 6).

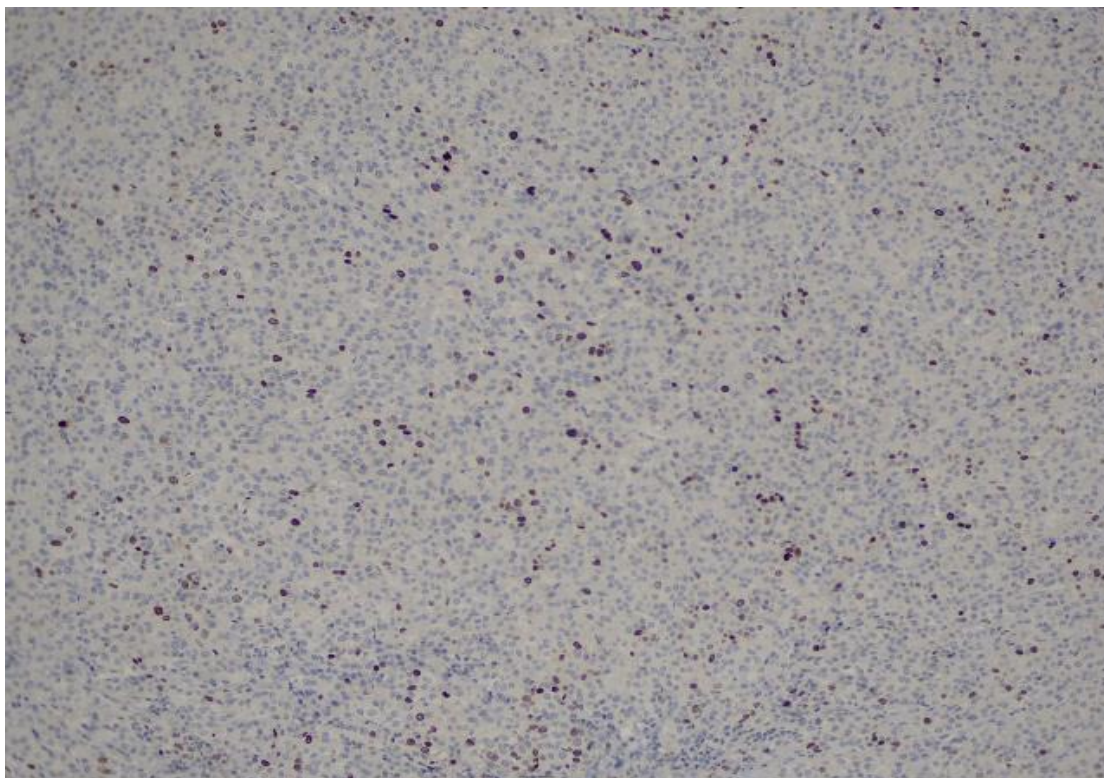


Figura 5 Imunoistoquímica para Ki67 de glândula hepatóide. Nota-se marcação nuclear esparsa. 10x.

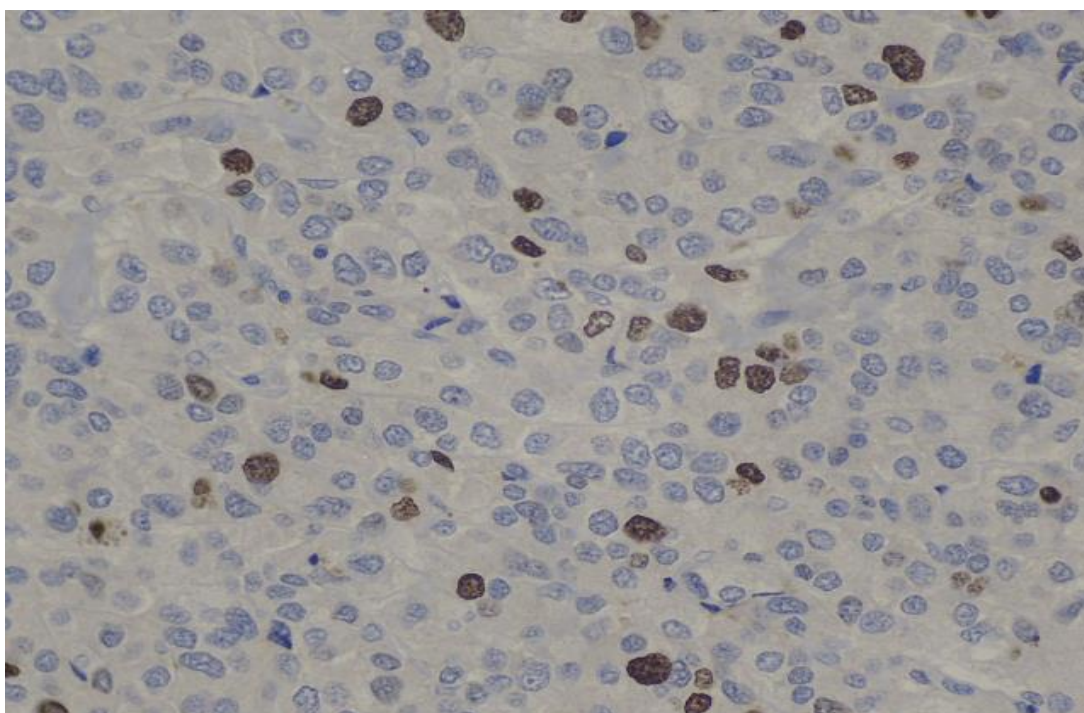


Figura 6 Imunoistoquímica para Ki67 de glândula hepatóide. Marcação nuclear realçando discreto pleomorfismo nuclear. 40x.

A avaliação de VEGF (figura 7 e 8) considerou uma amostra positiva quando mais de 50% das células tumorais apresentaram marcação citoplasmática intensa (+++) seguindo adaptação da metodologia do trabalho de Melo *et. al* (2021).

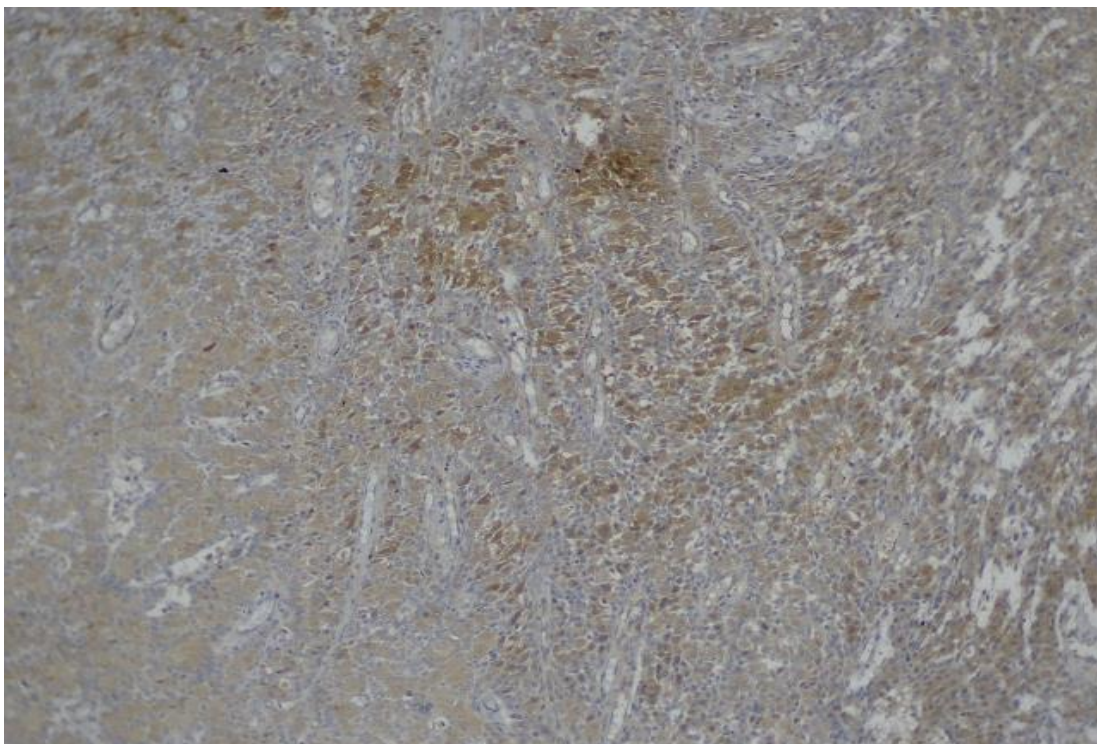


Figura 7 Imunoistoquímica para VEGF em glândula hepatóide de cão. Nota-se marcação heterogênea. 10x.

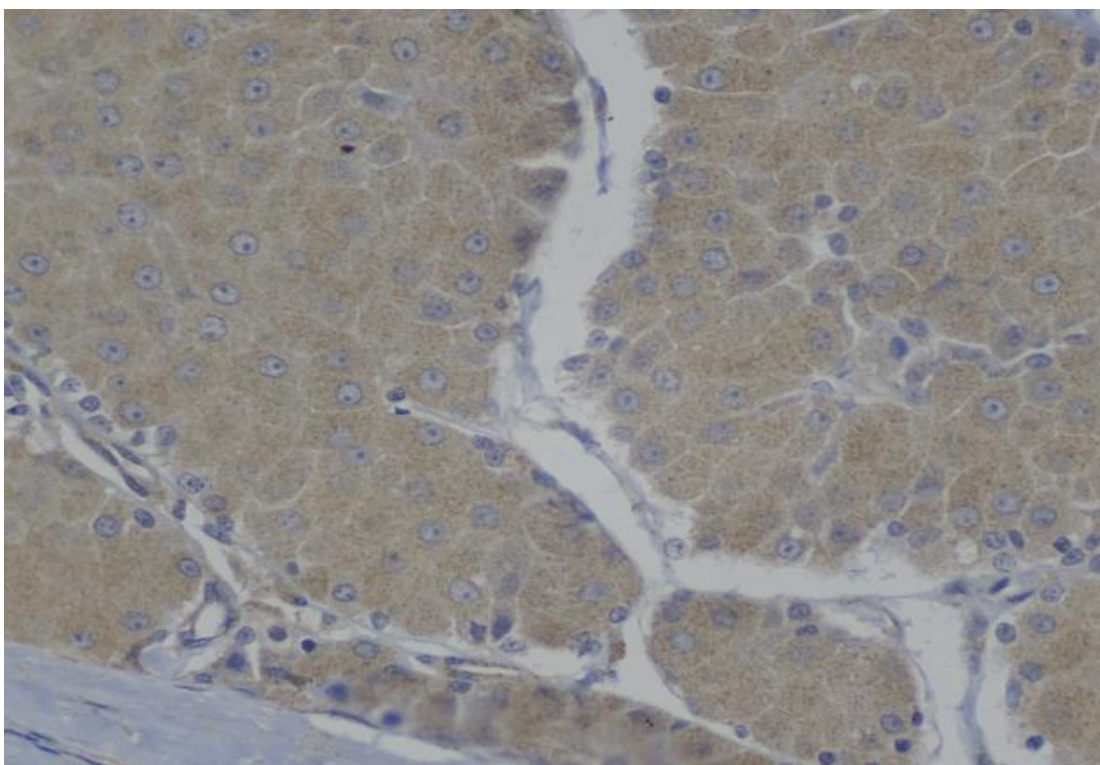


Figura 8 Imunoistoquímica para VEGF em glândula hepatóide de cão. Nota-se marcação citoplasmática difusa intensa. 40x

Para o banco de dados foi criada uma planilha estruturada em seções referentes aos dados de identificação individual dos animais, diagnóstico histopatológico, características histológicas e positividade e/ou porcentagem de marcadores imuno-histoquímicos.

### 4.2.3 Análises estatísticas

Para análise dos dados foi utilizado os *Statistical Analysis System* (SAS OnDemand). As concordâncias entre os patologistas com respeito ao diagnóstico e às características avaliadas foram analisadas pelo coeficiente de concordância *kappa* (*Freq Procedure*). As associações entre os diagnósticos e as características avaliadas, para cada patologista, foram analisadas pelo teste de Freeman-Halton (*Freq Procedure*). O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

O tempo de sobrevida, em meses, foi analisado por meio de análise de sobrevivência (*Lifetest Procedure*) e a comparação entre os diagnósticos foi realizada pelo teste de Log-Rank. As frequências de óbitos até 12 meses (sim ou não) de acordo com os diagnósticos e com a avaliação de VEGF foram arranjadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste exato de Fisher (*Freq Procedure*).

Os dados de Ki67 foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e de Bartlett, para verificação da normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias, respectivamente. Os dados foram submetidos à transformação logarítmica ( $y' = \log(y)$ ) e analisados por ANOVA (*GLM Procedure*). Para maior clareza, os resultados foram apresentados na escala original. O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

## 4.3 Resultados

### 4.3.1 Caracterização dos animais

Foram avaliadas 25 amostras de 23 animais, 16 machos (69,57%) e sete fêmeas (30,43%). Um animal não possuía a informação de raça, dos 22 restantes, a maior parte era SRD (50%; Figura 2). A idade média dos animais foi de 11,18 anos (d.p. 2,82), variando de cinco a 17 anos.

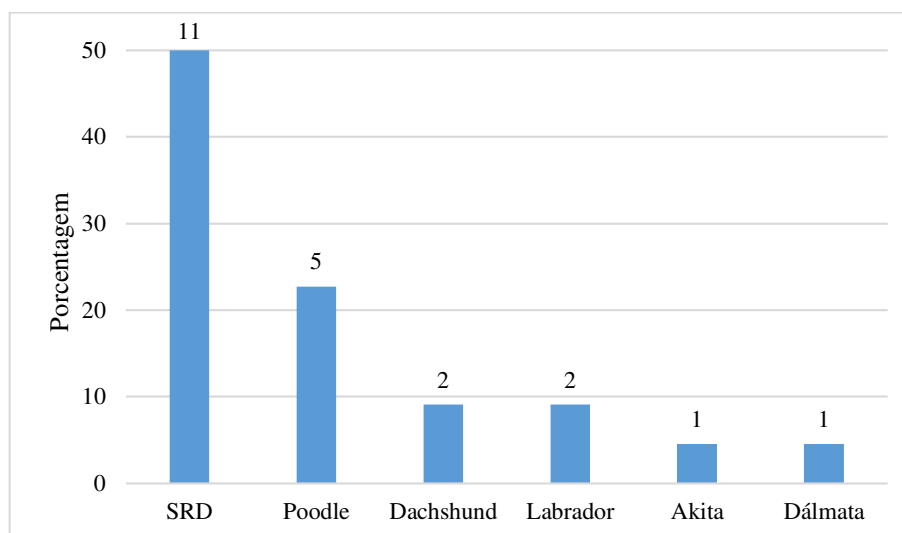


Figura 9 Prevalência das raças entre os animais do estudo.

### 4.3.2 Concordâncias entre patologistas

A concordância exata entre os três patologistas foi de 44% (11/25). Em 48% (12/25) das amostras, houve concordância entre dois patologistas, e em 8% (2/25) dos casos os três patologistas discordaram no diagnóstico.

Tabela 1 Coeficientes de concordância kappa ( $\pm$  e.p.)

Variável	Pat.1 vs Pat. 2	Pat.1 vs Pat. 3	Pat.2 vs Pat. 3
Diagnóstico	0,3341 $\pm$ 0,1255 *	0,3309 $\pm$ 0,1354 *	0,5283 $\pm$ 0,1201 *
Infiltração	0,5253 $\pm$ 0,1604 *	0,6753 $\pm$ 0,1407 *	0,4186 $\pm$ 0,1379 *
Perda de polaridade	0,0741 $\pm$ 0,1708	0,2604 $\pm$ 0,1219	0,6875 $\pm$ 0,1360 *
Necrose	0,1522 $\pm$ 0,1289	0,0057 $\pm$ 0,1164	0,2938 $\pm$ 0,2017
Índice mitótico	0,0654 $\pm$ 0,0499	0,0326 $\pm$ 0,0275	0,4292 $\pm$ 0,2048 *
Mitose atípica	0,3590 $\pm$ 0,2665 *	0,6533 $\pm$ 0,3172 *	0,0000 #
Diferenciação sebácea	0,1935 $\pm$ 0,0993	0,3034 $\pm$ 0,1730	0,3902 $\pm$ 0,1550 *
Diferenciação escamosa	0,4813 $\pm$ 0,1985 *	0,2470 $\pm$ 0,1497	0,4681 $\pm$ 0,1445 *

Invasão vascular	0,0000 #	-	0,0000 #
Presença de atipia celular	0,6528 ± 0,1582 *	0,3323 ± 0,1544	0,4807 ± 0,1423 *
Grau de atipia celular	0,1987 ± 0,2345	0,0179 ± 0,1434	0,0909 ± 0,1296
Grau de inflamação	0,1857 ± 0,1053	0,5054 ± 0,2066 *	0,2862 ± 0,1516 *

Pat., Patologista; \* P < 0,05. # sem concordância.

Tabela 2 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 1 e Patologista 2.

Patologista 1	Patologista 2				Total
	Adenoma	Carcinoma	Epitelioma	Não Hepatoide	
Adenoma	<b>9</b>	0	1	1	11
Carcinoma	3	<b>4</b>	3	0	10
Epitelioma	1	1	<b>1</b>	0	3
Não Hepatoide	0	0	1	<b>0</b>	1
Total	13	5	6	1	25

Concordância = (9 + 4 + 1 + 0) / 25 = 56%.

Tabela 3 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 1 e Patologista 3.

Patologista 1	Patologista 3				Total
	Adenoma	Carcinoma	Epitelioma	Não Hepatoide	
Adenoma	<b>7</b>	1	1	2	11
Carcinoma	2	<b>6</b>	2	0	10
Epitelioma	1	1	<b>1</b>	0	3
Não Hepatoide	0	1	0	<b>0</b>	1
Total	10	9	4	2	25

Concordância = (7 + 6 + 1 + 0) / 25 = 56%.

Tabela 4 Concordância entre os diagnósticos do Patologista 2 e Patologista 3.

Patologista 2	Patologista 3				Total
	Adenoma	Carcinoma	Epitelioma	Não Hepatoide	
Adenoma	<b>10</b>	1	0	2	13
Carcinoma	0	<b>4</b>	1	0	5
Epitelioma	0	3	<b>3</b>	0	6
Não Hepatoide	0	1	0	<b>0</b>	1
Total	10	9	4	2	25

Concordância =  $(10 + 4 + 3 + 0) / 25 = 68\%$ .

Tabela 5 Diagnóstico dos três patologista para cada amostra.

ID	Patologista 1	Patologista 2	Patologista 3	Concordância exata *
9033_2	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
9008_3	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
8940	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
9007_2	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
9739	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
9352	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
8682	Adenoma	Adenoma	Adenoma	Sim
10014	Carcinoma	Carcinoma	Carcinoma	Sim
9068	Carcinoma	Carcinoma	Carcinoma	Sim
9686	Carcinoma	Carcinoma	Carcinoma	Sim
8732_2	Epitelioma	Epitelioma	Epitelioma	Sim
9272_3	Adenoma	Epitelioma	Epitelioma	Não
9095_1	Adenoma	Não Hepatoide	Carcinoma	Não
9029_2	Adenoma	Adenoma	Não Hepatoide	Não
9464	Adenoma	Adenoma	Não Hepatoide	Não
9726	Carcinoma	Adenoma	Adenoma	Não
9052_1_2	Carcinoma	Adenoma	Adenoma	Não

8548	Carcinoma	Carcinoma	Epitelioma	Não
9744_3	Carcinoma	Adenoma	Carcinoma	Não
9213	Carcinoma	Epitelioma	Carcinoma	Não
8682_1	Carcinoma	Epitelioma	Epitelioma	Não
9160_1	Carcinoma	Epitelioma	Carcinoma	Não
8831	Epitelioma	Carcinoma	Carcinoma	Não
9092	Epitelioma	Adenoma	Adenoma	Não
9281_3	Não Hepatoide	Epitelioma	Carcinoma	Não

\* Concordância exata entre os três patologistas.

### 4.3.3 Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 1)

Na análise do patologista 1, não houve associação significativa ( $p > 0,05$ ) entre o Diagnóstico e o sexo ( $p = 0,6723$ ), perda de polaridade ( $p = 0,0933$ ), necrose ( $p = 0,2587$ ), índice mitótico  $> 7$  ( $p = 1,0000$ ), mitose atípica ( $p = 0,5600$ ), diferenciação sebácea ( $p = 0,4156$ ), diferenciação escamosa ( $p = 1,0000$ ), grau de atipia celular ( $p = 0,2037$ ), grau de inflamação ( $p = 0,2000$ ), e VEGF ( $p = 0,0736$ ). Nenhuma das amostras apresentou invasão vascular.

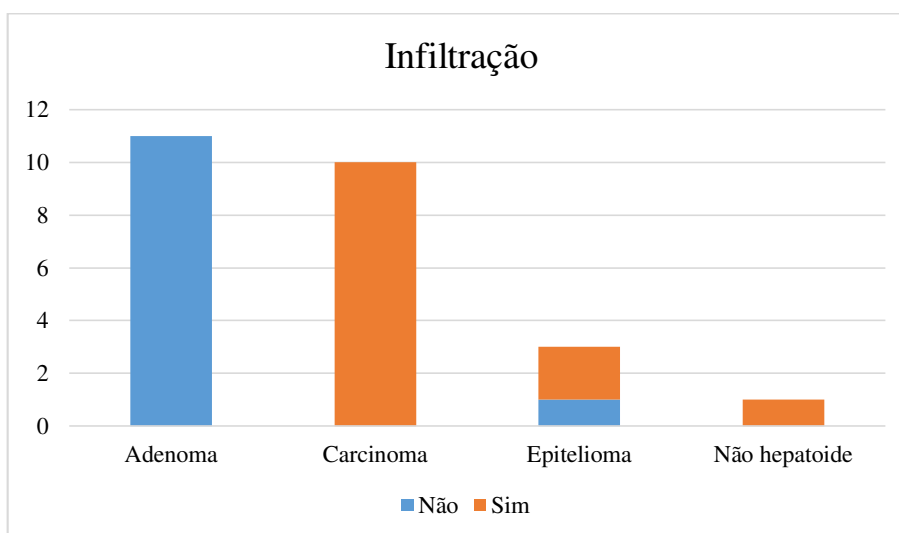


Figura 10 Infiltração  $P < 0,0001$  pelo teste de Freeman-Halton.

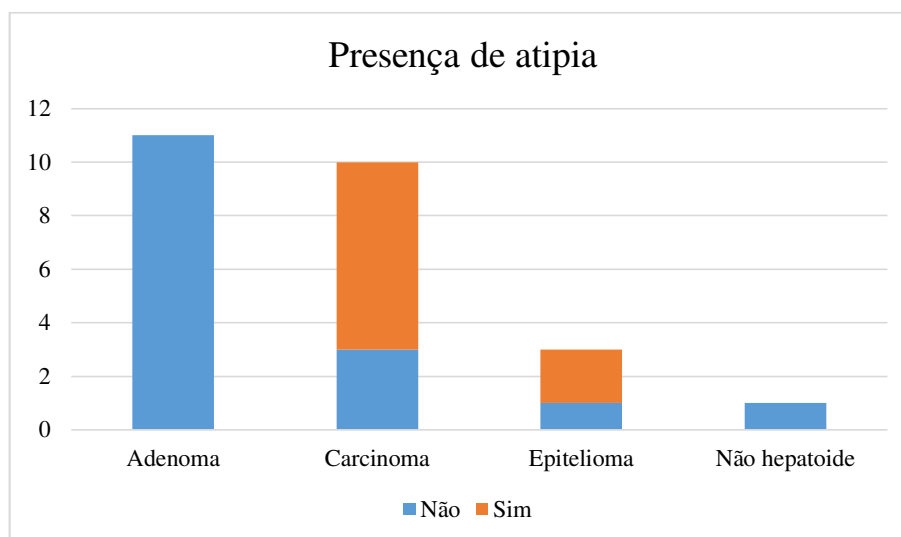


Figura 11 Atipia P = 0,0008 pelo teste de Freeman-Halton.

Tabela 6 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	n	Média	D.P.	Mínimo	Máximo
Adenoma	11	0.034	0.025	0.020	0.100
Carcinoma	10	0.148	0.056	0.050	0.250
Epitelioma	3	0.033	0.015	0.020	0.050
Não hepatoide	1	0.200	.	0.200	0.200

#### 4.3.4 Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 2)

Na análise do patologista 2, não houve associação significativa ( $p > 0,05$ ) entre o Diagnóstico e o sexo ( $p = 0,9008$ ), necrose ( $p = 0,5591$ ), mitose atípica ( $p = 0,0597$ ), diferenciação escamosa ( $p = 0,1880$ ), invasão vascular ( $p = 0,2400$ ), grau de inflamação ( $p = 0,1636$ ), e VEGF ( $p = 0,2361$ ).

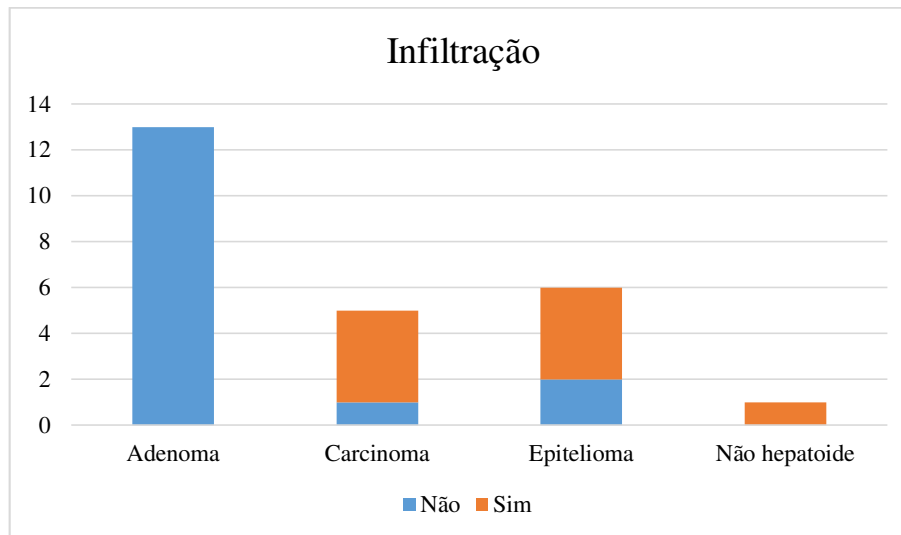


Figura 12 Infiltração P = 0,0001 pelo teste de Freeman-Halton.

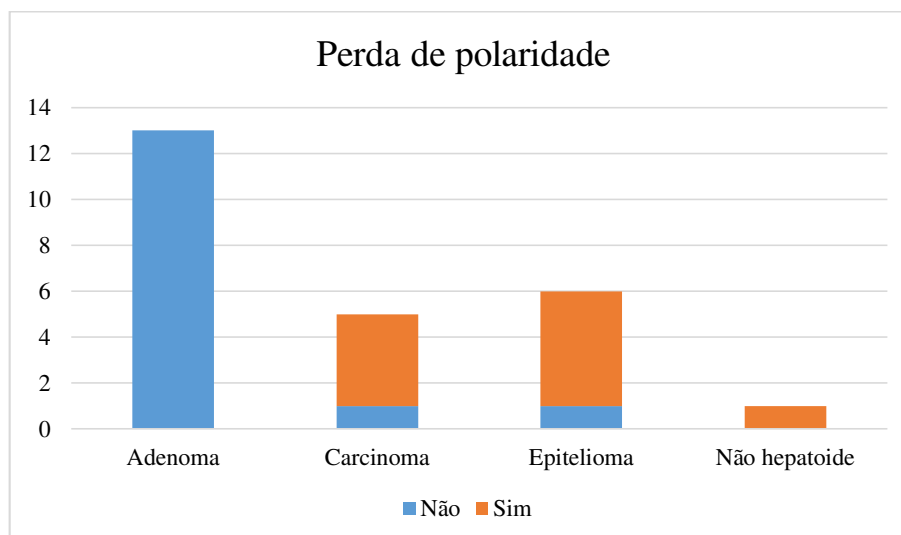


Figura 13 Perda de polaridade P < 0,0001 pelo teste de Freeman-Halton.

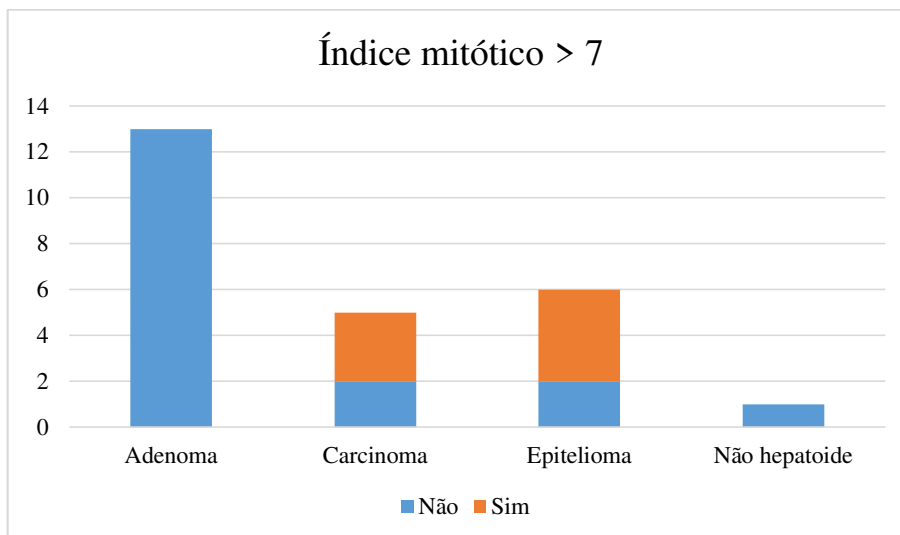


Figura 14 Índice mitótico >7, P = 0,0018 pelo teste de Freeman-Halton.

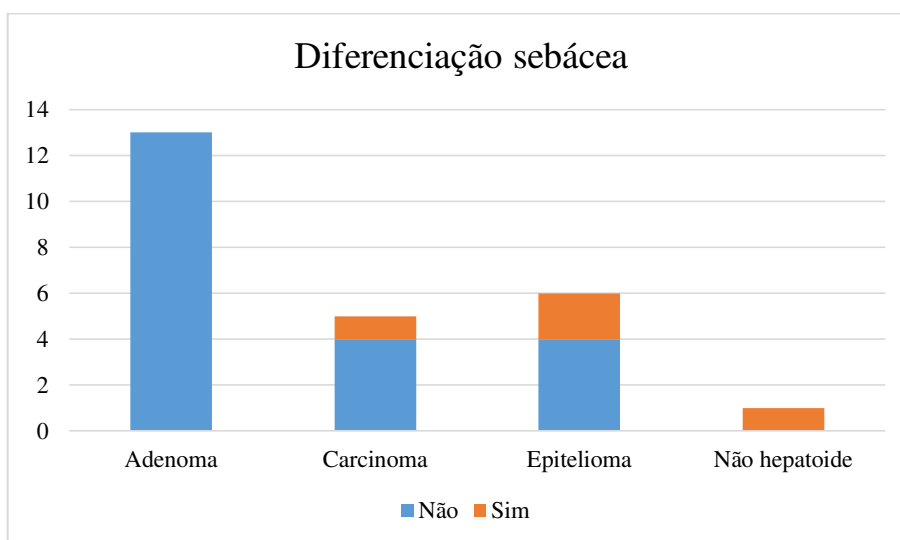


Figura 15 Diferenciação sebácea P = 0,0194 pelo teste de Freeman-Halton.

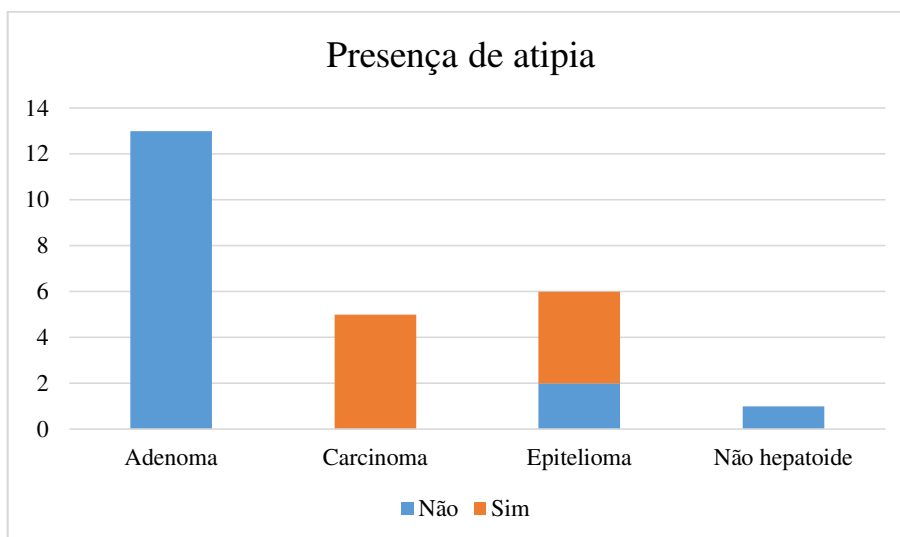


Figura 16 Presença de atipia  $P < 0,0001$  pelo teste de Freeman-Halton.

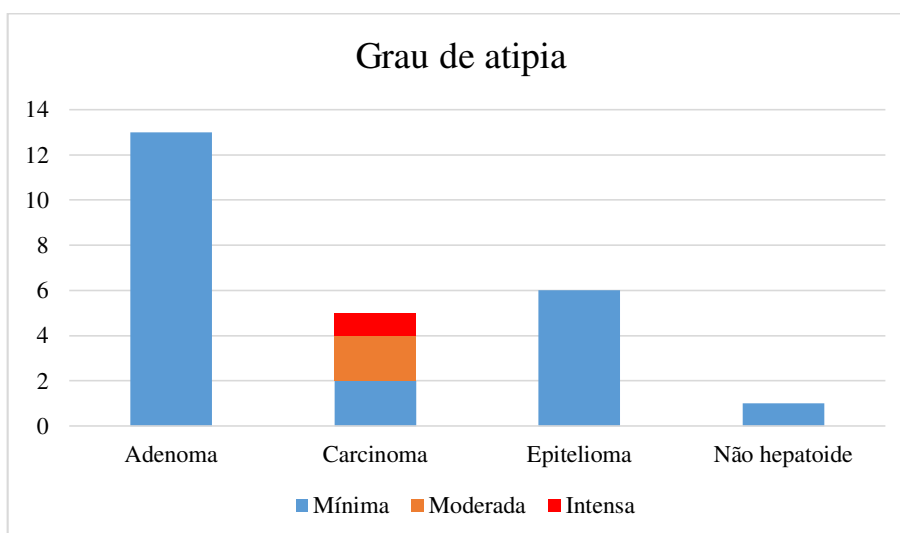


Figura 17 Grau de atipia  $P = 0,0283$  pelo teste de Freeman-Halton.

Tabela 7 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	n	Média	D.P.	Mínimo	Máximo
Adenoma	13	0.042	0.029	0.020	0.100
Carcinoma	5	0.160	0.074	0.050	0.250
Epitelioma	6	0.133	0.065	0.020	0.200
Não hepatoide	1	0.020	.	0.020	0.020

### 4.3.5 Associação entre as características avaliadas e os diagnósticos (Patologista 3)

Na análise do patologista 3, não houve associação significativa ( $p > 0,05$ ) entre o diagnóstico e o sexo ( $p = 0,1857$ ), necrose ( $p = 0,3062$ ), índice mitótico  $> 7$  ( $p = 0,5447$ ), diferenciação escamosa ( $p = 0,2026$ ), grau de inflamação ( $p = 1,0000$ ), e VEGF ( $p = 0,1566$ ). Nenhuma das amostras apresentou mitose atípica nem invasão vascular.

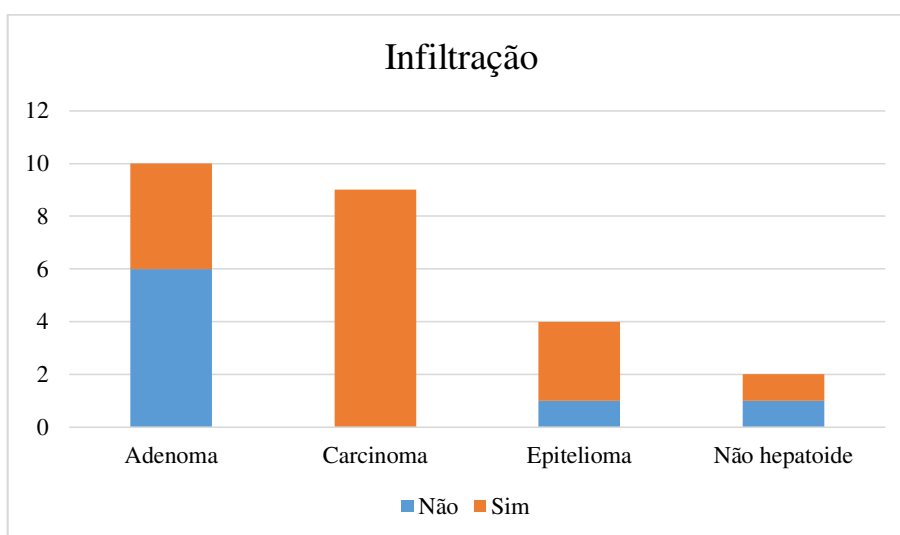


Figura 18 Infiltração  $P = 0,0267$  pelo teste de Freeman-Halton.

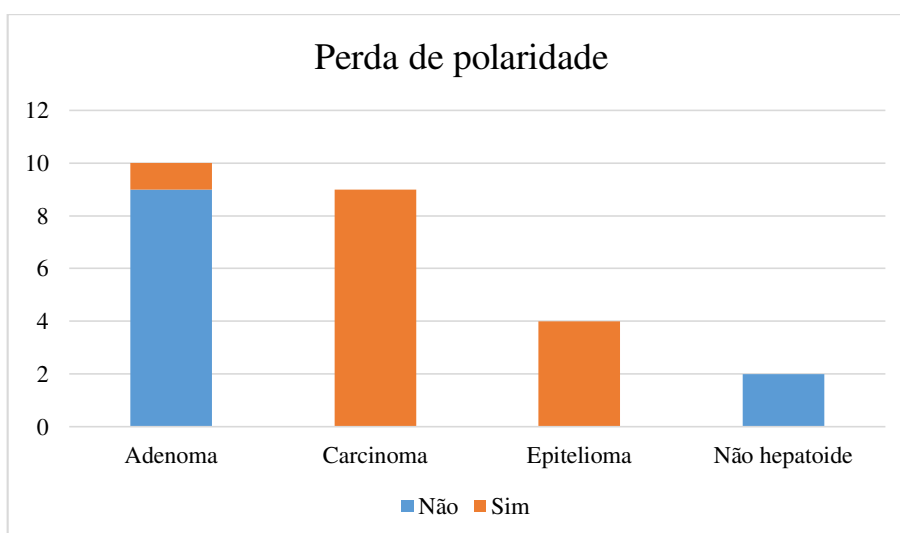


Figura 19 Perda de polaridade  $P < 0,0001$  pelo teste de Freeman-Halton.

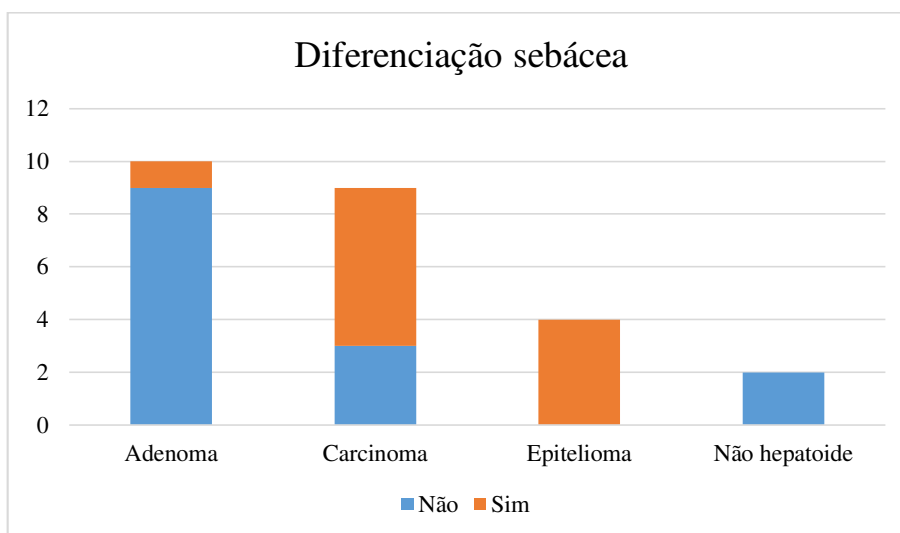


Figura 20 Diferenciação sebácea  $P = 0,0021$  pelo teste de Freeman-Halton.

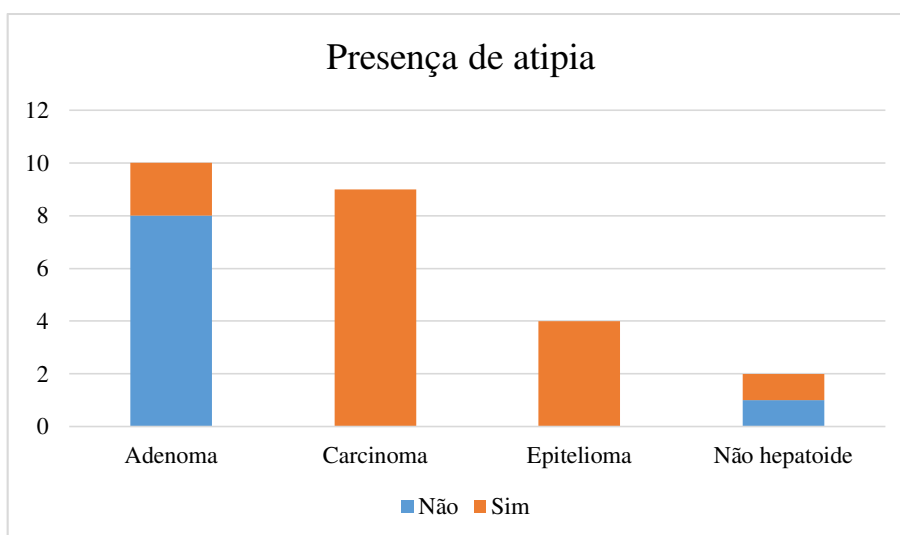


Figura 21 Presença de atipia  $P = 0,0002$  pelo teste de Freeman-Halton.

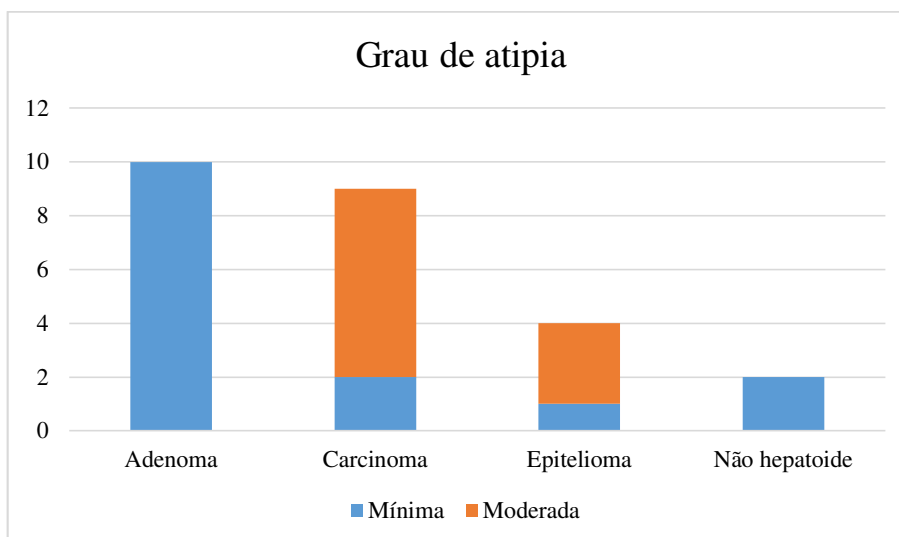


Figura 22 Grau de atipia P = 0,0003 pelo teste de Freeman-Halton.

Tabela 8 Descrição do Ki67 de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	n	Média	D.P.	Mínimo	Máximo
Adenoma	10	0.037	0.025	0.020	0.100
Carcinoma	9	0.144	0.075	0.050	0.250
Epitelioma	4	0.105	0.061	0.020	0.150
Não hepatoide	2	0.030	.	0.030	0.030

#### 4.3.6 Análise de sobrevivência (Patologista 1)

Na análise de sobrevivência do patologista 1, foram avaliados 13 animais. A curva de sobrevivência geral está apresentada na Figura 16. O tempo de sobrevivência foi, em média,  $25,23 \pm 6,16$  meses, com mediana de 12 meses.

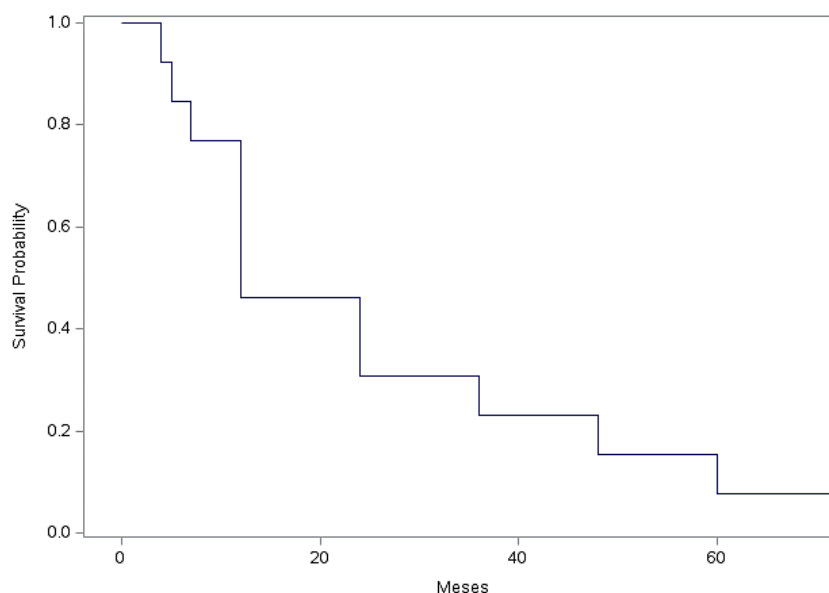


Figura 23 Curva de sobrevivência geral.

A comparação entre os diagnósticos está na Figura 17. Houve associação significativa entre os diagnósticos e as curvas de sobrevivência ( $p = 0,0199$ ). Animais diagnosticados com carcinoma apresentaram menor tempo de sobrevida, já os animais diagnosticados com Adenoma apresentaram maior sobrevida, e os animais com Epitelioma apresentaram resultados intermediários (Tabela 9).

Tabela 9 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	Média $\pm$ EP	Mediana
Adenoma	43,75 $\pm$ 14,35	48
Carcinoma	9,50 $\pm$ 1,59	12
Epitelioma	32,00 $\pm$ 8,00	24

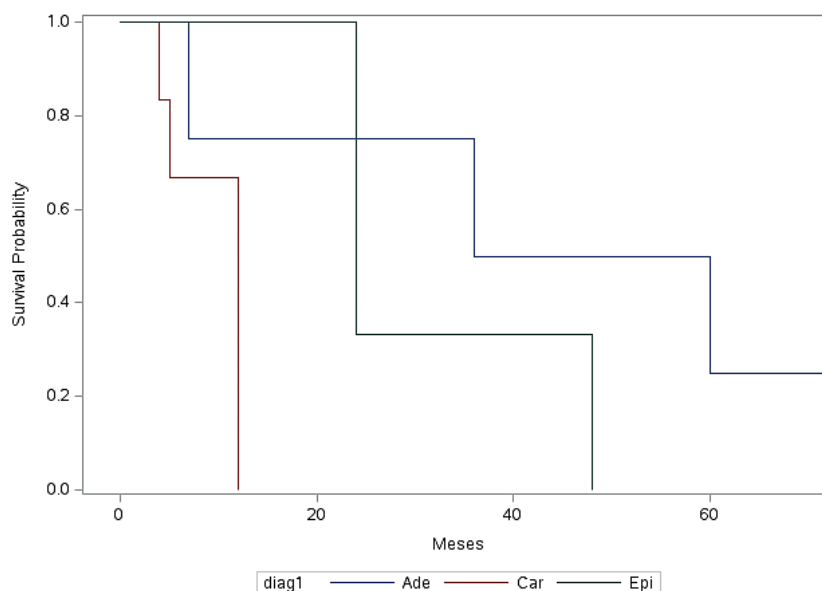


Figura 24 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma;  $p = 0,0199$  pelo teste de Log-Rank.

Houve associação significativa ( $p = 0,0047$ ) entre os diagnósticos e a porcentagem de animais com óbito até 12 meses (Figura 18), de modo que animais diagnosticados com carcinoma apresentaram frequência de óbitos mais elevada que os demais diagnósticos.

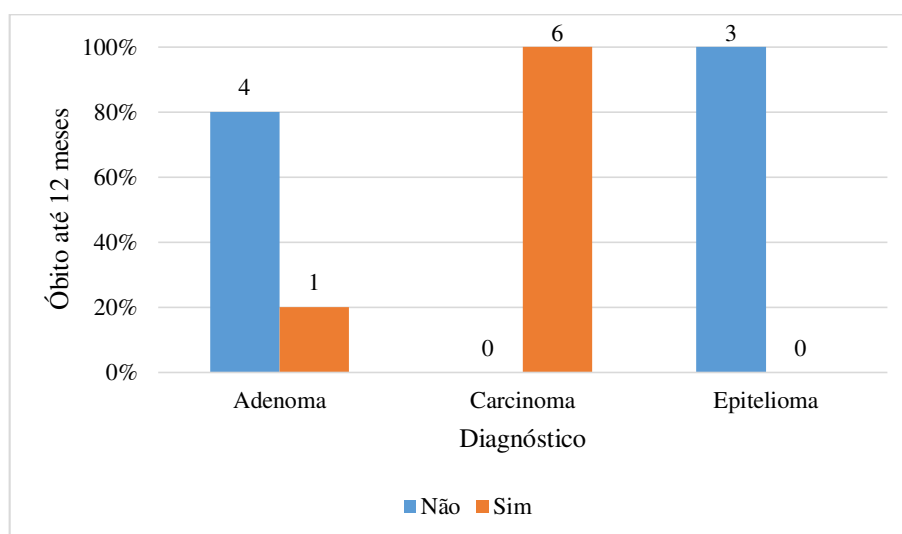


Figura 25 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico;  $p = 0,0047$  pelo teste exato de Fisher.

### 4.3.7 Análise de sobrevivência (Patologista 2)

Para análise de sobrevivência do patologista 2, foram avaliados 14 animais. A curva de sobrevivência geral está apresentada na Figura 19. O tempo de sobrevida foi, em média,  $24,29 \pm 5,78$  meses, com mediana de 12 meses.

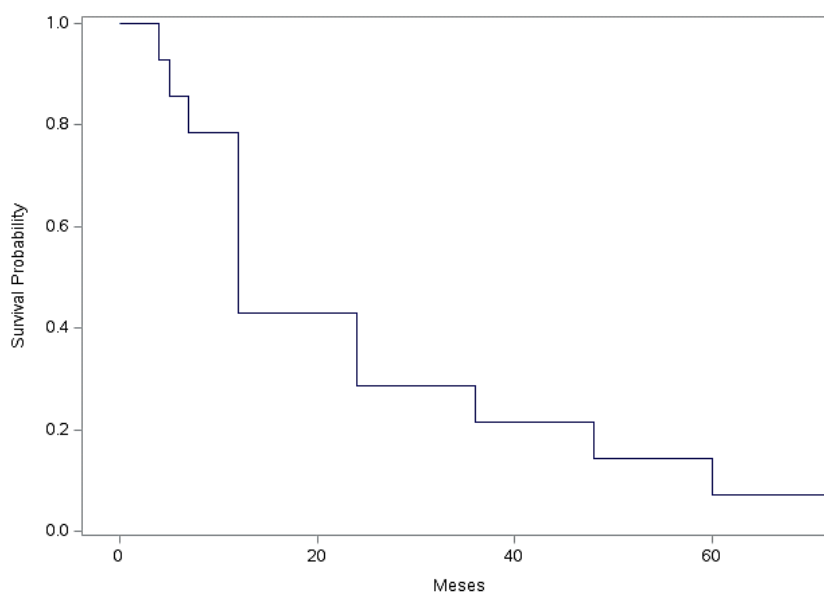


Figura 26 Curva de sobrevivência geral.

A comparação entre os diagnósticos está apresentada na Figura 20. Não houve associação significativa entre os diagnósticos e as curvas de sobrevivência ( $p = 0,3437$ ). Os valores de média e mediana encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	Média $\pm$ EP	Mediana
Adenoma	$31,86 \pm 9,62$	24
Carcinoma	$16,20 \pm 8,13$	12
Epitelioma	$18,00 \pm 6,00$	18

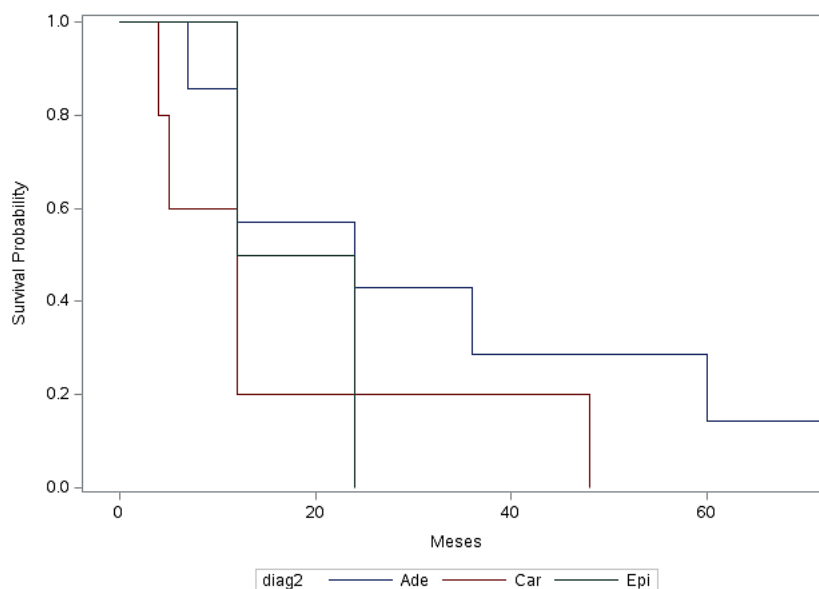


Figura 27 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma;  $p = 0,3437$  pelo teste de Log-Rank.

Não houve associação significativa ( $p = 0,4996$ ) entre os diagnósticos e a porcentagem de animais com óbito até 12 meses (Figura 21).

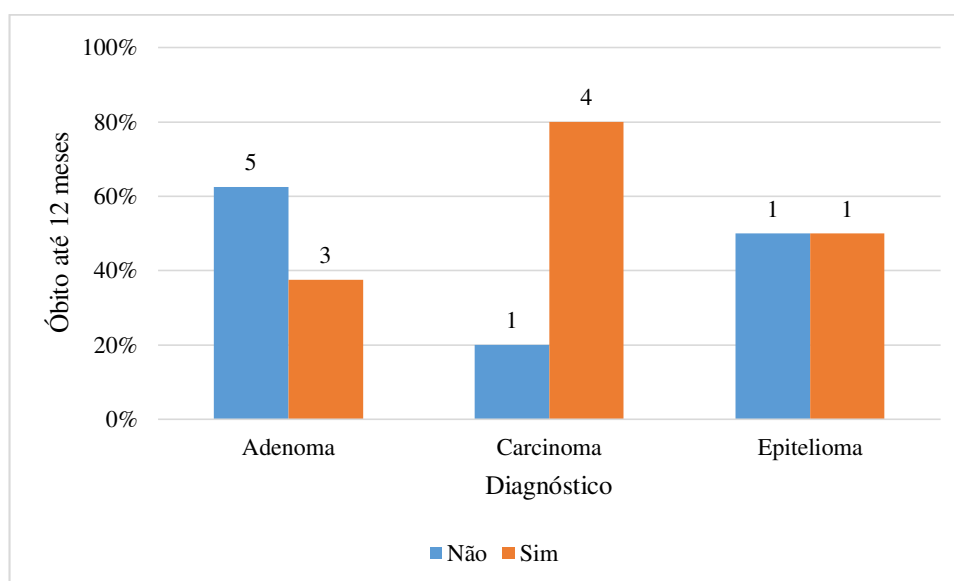


Figura 28 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico;  $p = 0,4996$  pelo teste exato de Fisher.

### 4.3.8 Análise de sobrevivência (Patologista 3)

Na análise de sobrevivência do patologista 3, foram avaliados 13 animais. A curva de sobrevivência geral está apresentada na Figura 22. O tempo de sobrevida foi, em média,  $25,62 \pm 6,08$  meses, com mediana de 12 meses.

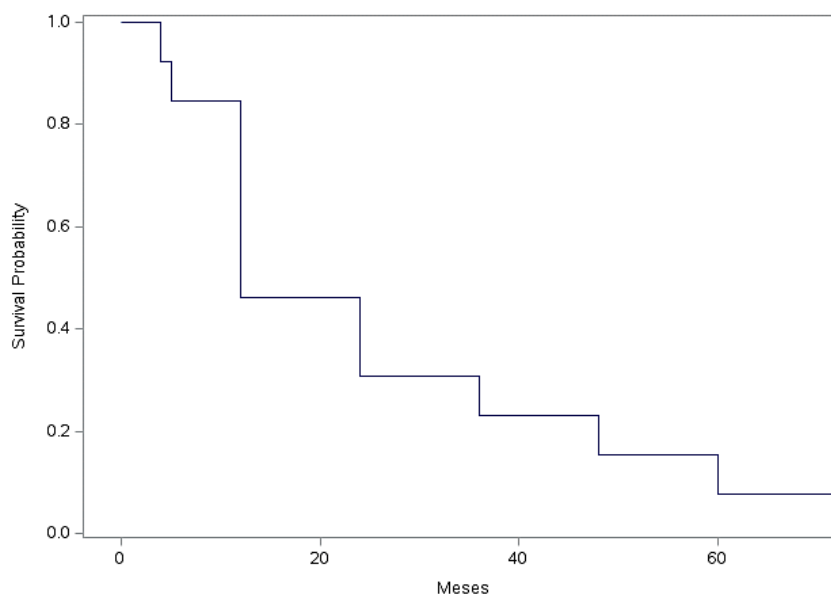


Figura 29 Curva de sobrevivência geral.

A comparação entre os diagnósticos está na Figura 23. Não houve associação significativa entre os diagnósticos e as curvas de sobrevivência ( $p = 0,2114$ ). Os valores de média e mediana encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 Médias e medianas do tempo de sobrevida, em meses, de acordo com o diagnóstico.

Diagnóstico	Média $\pm$ EP	Mediana
Adenoma	$36,00 \pm 10,28$	30
Carcinoma	$16,20 \pm 8,13$	12
Epitelioma	$18,00 \pm 6,00$	18

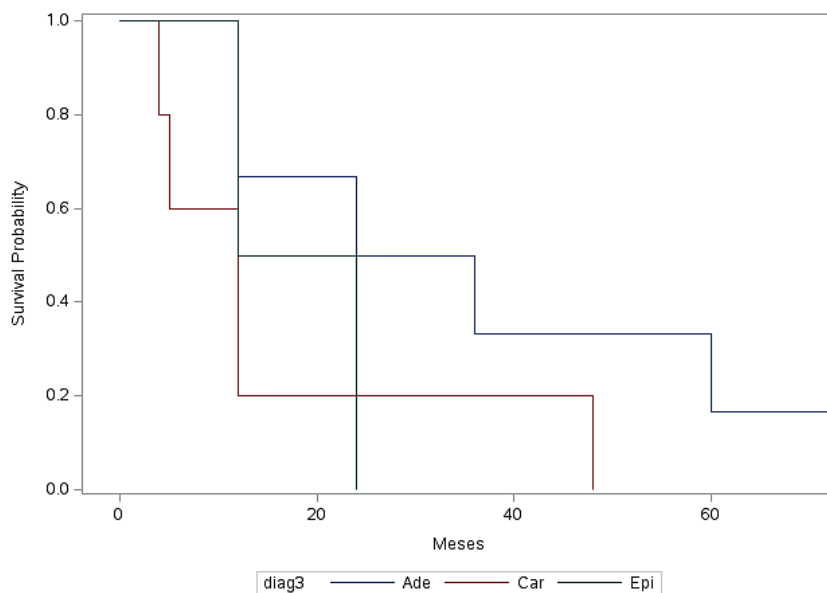


Figura 30 Curva de sobrevivência de acordo com os diagnósticos; Ade, Adenoma; Car, Carcinoma; Epi, Epitelioma;  $p = 0,2114$  pelo teste de Log-Rank.

Não houve associação significativa ( $p = 0,3881$ ) entre os diagnósticos e a porcentagem de animais com óbito até 12 meses (Figura 24).

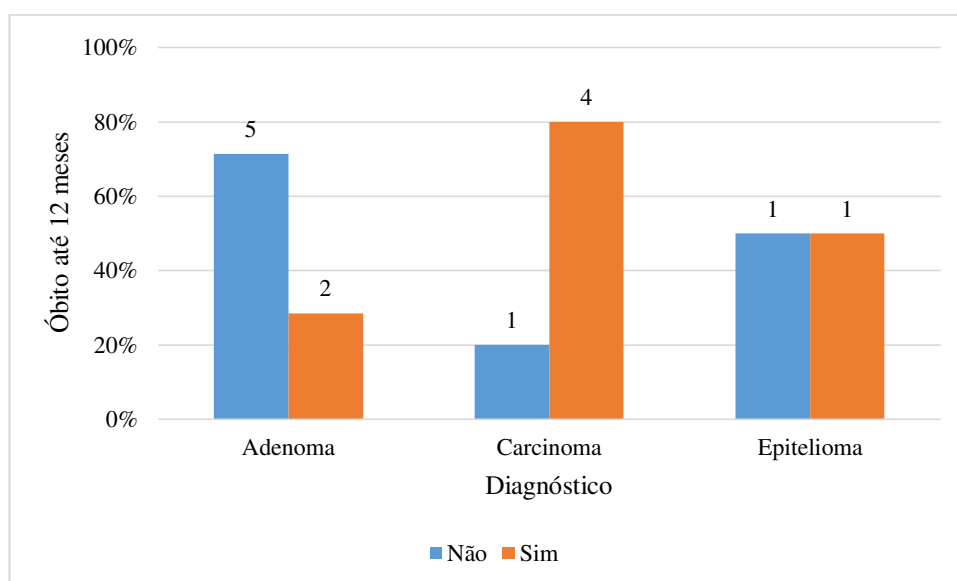


Figura 31 Óbitos até 12 meses de acordo com o diagnóstico;  $p = 0,3881$  pelo teste exato de Fisher.

### 4.3.9 Associação entre sobrevida e VEGF

O tempo de sobrevida, em meses, foi analisado por meio de análise de sobrevivência (*Lifetest Procedure*) e a comparação entre os diagnósticos foi realizada pelo teste de Log-Rank. As frequências de óbitos até 12 meses (sim ou não) de acordo com os diagnósticos e com a avaliação de VEGF foram arranjadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste exato de Fisher (*Freq Procedure*).

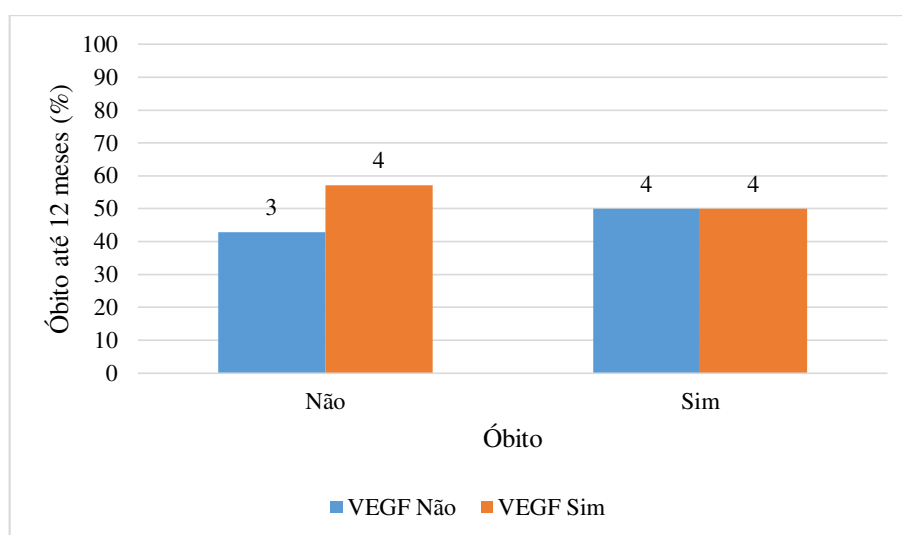


Figura 32 Óbitos até 12 meses de acordo com a presença de VEGF;  $p = 1,0000$  pelo teste exato de Fisher.

### 4.3.10 Associação entre diagnósticos e marcação do Ki67

Os dados de Ki67 foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e de Bartlett, para verificação da normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias, respectivamente. Os dados foram submetidos à transformação logarítmica ( $y' = \log(y)$ ) e analisados por ANOVA (*GLM Procedure*). Para maior clareza, os resultados foram apresentados na escala original. O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

Tabela 12 Valores do Ki67 (média  $\pm$  e.p.) de acordo com o diagnóstico para cada patologista.

Diagnóstico	Patologista 1		Patologista 2		Patologista 3	
	n	Ki67	n	Ki67	n	Ki67
Adenoma	10	0,034 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>	12	0,042 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>	10	0,037 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>
Carcinoma	10	0,148 $\pm$ 0,018 <sup>a</sup>	5	0,160 $\pm$ 0,033 <sup>a</sup>	9	0,144 $\pm$ 0,025 <sup>a</sup>
Epitelioma	3	0,033 $\pm$ 0,009 <sup>b</sup>	6	0,133 $\pm$ 0,027 <sup>a</sup>	4	0,105 $\pm$ 0,031 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

Concordando com Shabeeba *et al.* (2021), foi demonstrado neste trabalho que os tumores de glândula hepatoide são mais comuns em cães machos.

O desenvolvimento e crescimento dos adenomas foram relacionados à influência hormonal, através da estimulação por andrógenos e inibidos por estrógenos (TUREK & LIPTAK, 2020), o que pode ser observado no presente estudo, uma vez que os machos diagnosticados com adenomas em sua maioria, eram inteiros e as fêmeas castradas. Um fator de risco para tumores da glândula hepatoide são os hormônios, especificamente a testosterona e o estrogênio. Ambos estão associados ao desenvolvimento e crescimento do tumor. Como a testosterona promove esses tumores, os adenomas hepatoides são muito mais comuns em cães machos não castrados, do que em fêmeas, e são raros em machos castrados. Como o estrogênio inibe esses tumores, eles são mais comuns em cadelas esterilizadas do que nas inteiras (WASQUES *et al.*, 2022),

Houve concordância com os estudos de Brodzki *et al.* (2021) quanto a idade dos cães acometidos, sendo em sua maioria pacientes idosos, com idades superiores a 8 anos, com média de 11,18 anos (5 – 17 anos).

Quanto à predisposição racial, neste trabalho evidenciou-se prevalência de animais sem raça definida (SRD), diferente do relatado previamente por Gross *et al.* (2005), que colocam a raça cocker spainel como a mais acometida. Este dado pode ser justificado pela casuística apresentada ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, devido às características econômicas e socioculturais da região a qual o hospital está inserido.

Segundo informações fornecidas pelos proprietários em *follow-up* nenhum paciente apresentou quadro de recidiva local. Apesar de não serem totalmente confiáveis, estes dados foram levados em consideração para confecção do trabalho.

No presente estudo, a concordância completa entre os diagnósticos das neoplasias hepatóides entre os patologistas foi de 44%, o que sugere que a variação relatada possa ser explicada pela discordância e variabilidade entre os observadores. A mesma questão foi relatada no trabalho de Wasques *et al.* (2022), ressaltando que

alguns casos podem apresentar diagnósticos abertos a um grau de incerteza, uma situação também destacada no presente estudo que demonstrou discordância completa entre os três patologistas em 8% dos casos.

Levanta-se a hipótese que as inconsistências descritas neste estudo possam ser resultado da presença de marcado pleomorfismo celular em adenomas de glândula hepatoide, ou ainda presença de figuras de mitose nessas lesões benignas, o que poderia levar a diagnóstico de neoformação maligna, de acordo com esses critérios. Tais questionamentos também foram discutidos no trabalho de Pereira *et al.* (2013).

Importante salientar que os patologistas envolvidos neste trabalho não tiveram acesso a informações clínicas dos pacientes além de espécie, raça, gênero e idade. Não foram fornecidas informações quanto a características macroscópicas, histórico, anamnese ou suspeitas clínicas. Portanto, é provável que as taxas de concordância obtidas não correspondam exatamente à variação esperada em um ambiente de diagnóstico “real”. Uma vez que patologistas podem utilizar informações dos pacientes e históricos, como alguns dos fatores determinantes para o diagnóstico quando cientes do impacto da sua decisão sobre o manejo clínico, principalmente no que tange casos limítrofes.

Houve concordância entre os três patologistas quanto a associação significativa do diagnóstico e os seguintes critérios histopatológicos: infiltração local e presença de atipia celular. Entre duas patologistas, também foram significativas as associações entre diagnóstico e perda de polaridade, diferenciação sebácea e grau de atipia celular. Discordando do trabalho de Wasques *et al.*(2022), que propõe a utilização de dois algoritmos, partindo do número de mitoses, porcentagem de necrose e grau de atipia, para determinação de neoplasias benignas ou malignas.

O trabalho de Wasques *et al.*(2022) foi utilizado como base para determinação dos critérios histopatológicos a serem avaliados neste estudo. Entretanto, as patologistas não foram condicionadas a seguir os algoritmos apresentados por Wasques *et al.* (2022). Entende-se que caso as patologistas fossem condicionadas a seguir tais algoritmos, o desfecho das análises estatísticas poderia ter sido diferente, principalmente em relação à concordância no diagnóstico.

O marcador Ki67 apresentou associação significativa com os diagnósticos para as três patologistas, concordando com os resultados de Pereira *et al.* (2013), no qual carcinomas apresentaram contagens significativamente maiores no número de núcleos positivos para Ki-67. Este marcador deve ser considerado no auxílio diagnóstico e prognóstico de neoplasias das glândulas hepatoides, principalmente em amostras com alta variação na morfologia celular.

Já o marcador VEGF não apresentou associação significativa entre os diagnósticos. Porém, além da proposta de auxílio diagnóstico ou prognóstico, tal marcador também poderia configurar como fator preditivo. Mesmo que sua marcação positiva não signifique que o tumor responderá a terapias alvo atualmente disponíveis, é válida a proposição de mais estudos para determinação da eficácia de tais terapias. Não foram encontrados estudos que avaliem especificamente a positividade do VEGF em neoplasias de glândula hepatoide ou o uso de terapias antiangiogênicas.

Os animais diagnosticados com carcinoma de glândula hepatoide apresentaram menor tempo de sobrevida quando comparados com os adenomas. E pacientes diagnosticados com epiteloma apresentaram tempos de sobrevida intermediários. Esta última informação pode estar relacionada com o que propuseram Walder e Gross (1992), de que os epiteliomas podem ser classificados como carcinomas de baixo grau. Sendo assim, eles seriam enquadrados como neoplasias malignas, e por baixo grau entendemos um comportamento mais brando, com menores taxas de metástase e menores complicações relacionadas ao óbito. Entretanto, ainda configuram-se como neoplasias de invasão local, e portanto devem receber atenção quanto a possibilidade de recidivas.

Faz-se necessário destacar que alguns tutores não possuíam conhecimento de todas as informações solicitadas, incluindo intervalo entre o diagnóstico e óbito do paciente, ou ainda se havia relação entre a doença e a morte. Portanto, as estatísticas de sobrevida aqui descritas possuem um viés que deve ser levado em consideração quando avaliamos a não associação significativa entre este dado e o diagnóstico da maioria das patologistas envolvidas neste estudo.

## 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi demonstrado que a discordância entre diagnósticos por patologistas em relação as neoplasias de glândula hepatoide configuram uma significativa problemática a ser resolvida. Com discordâncias totais chegando a 8% dos casos, pacientes podem não receber a terapia mais adequada frente a realidade diagnóstica de suas doenças. Faz-se necessária a padronização de diagnósticos, seja através de algoritmos pré-estabelecidos ou ainda mais estudos sobre possíveis marcadores imuno-histoquímicos para diferenciação de formações malignas e benignas.

Crítérios como a invasão local e presença de atipias celulares foram as mais impactantes em relação ao diagnóstico de neoplasias malignas hepatoides (tabela 13). Sendo portanto dados importantes na descrição histopatológica de amostras da região perianal. Outros critérios como perda de polaridade, diferenciação sebácea e grau de atipia celular também devem ser considerados.

Tabela 13 Descrição histopatológica dos casos em que houve concordância de diagnósticos entre os patologistas.

ID	Patologista	Diagnóstico	Infiltração (S/N)	Perda polaridade (S/N)	Necrose tumoral (%)	Índice mitótico >7 (S/N)	Mitose atípica (S/N)	Diferenc. sebácea (S/N)	Diferenc. escamosa (S/N)	Invasão vascular (S/N)	Atipia (S/N)	Atipia (class)	Inflamação (class)
9068	1	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	N	N	N	S	Moderada	Moderada
	2		S	S	0_25	N	N	N	S	N	S	Moderada	Acentuada
	3		S	S	25_50	N	N	N	S	N	S	Mínima	Moderada
9686	1	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	S	S	N	S	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	S	N	S	N	N	S	Mínima	Discreta
	3		S	S	0_25	N	N	S	N	N	S	Moderada	Discreta
10014	1	Carcinoma	S	N	0_25	S	S	S	N	N	S	Mínima	Discreta
	2		S	S	0_25	S	S	N	S	N	S	Mínima	Discreta
	3		S	S	25_50	S	N	S	N	N	S	Moderada	Discreta
8732_2	1	Epitelioma	S	N	0_25	S	N	S	S	N	S	Mínima	Moderada
	2		S	S	0_25	S	S	N	S	N	N	Mínima	Acentuada
	3		S	S	25_50	N	N	S	S	N	S	Moderada	Moderada
9007_2	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	25_50	N	N	N	N	N	N	Mínima	Acentuada
	3		S	N	50_100	N	N	N	N	N	N	Mínima	Acentuada
9739	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
	3		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8940	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
	3		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9008_3	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
	3		N	N	0_25	N	N	S	S	N	S	Mínima	Discreta
9352	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
	3		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8682	1	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
	3		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9033_2	1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
	2		N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
	3		N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada

O marcador ki67 foi importante na diferenciação de carcinomas e adenomas, visto que houve variação significativa quanto a sua porcentagem nas lesões malignas e benignas, nas três avaliações histopatológicas.

Epiteliomas devem ser melhor categorizados quanto a sua agressividade e potencial malignidade, principalmente por se colocarem como alterações que promovem sobrevidas e marcações de ki67 intermediárias.

Não foi possível a associação da marcação positiva para VEGF com diagnóstico das lesões, ou prognóstico da doença. Porém, mais estudos devem ser realizados para avaliação, *in vitro* e/ou *in vivo* da resposta ao tratamento com inibidores de VEGF no casos de neoplasias de glândula hepatoide, uma vez que foram observadas amostras positivas para este marcador.

## 7 PERSPECTIVAS

Este trabalho propõe uma nova abordagem histopatológica pautada nos critérios de invasão local, presença de atipias celulares, perda de polaridade, diferenciação sebácea e grau de atipia celular. Associada a avaliação do marcador imuno-histoquímico ki67, para determinação de neoplasias malignas. Visando diminuir a discordância quanto ao diagnóstico e consequentemente terapêutica.

Diante dos resultados, o próximo passo seria a padronização do algoritmo (figura 33) utilizando como base os critérios histopatológicos mencionados anteriormente, em novos casos de neoplasias de glândula hepatoide, com informações clínicas completas em prontuário, bem como follow-up previamente definido com os proprietários dos pacientes em estudo. A associação de tais informações com os marcadores imuno-histoquímicos ki67, VEGF e marcadores de andrógenos (visando o estudo da participação de tais hormônios na progressão ou regressão da doença).

Objetiva-se também o estudo *in vitro* e/ou *in vivo* da resposta ao tratamento com inibidores de VEGF no casos de neoplasias de glândula hepatoide, utilizando terapias antiangiogênicas.

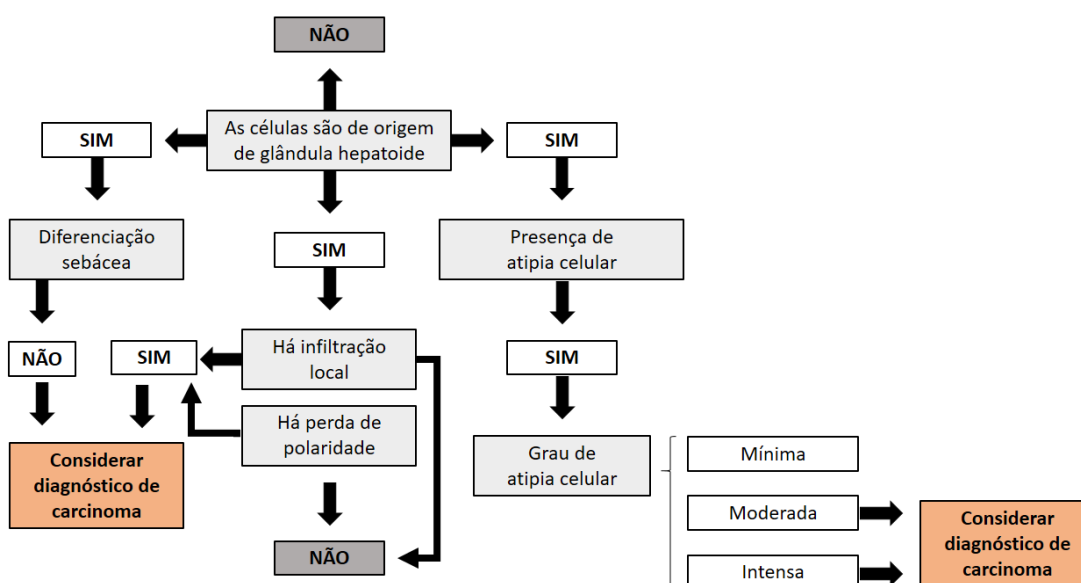


Figura 33 Mapa mental para diagnóstico de neoplasias de glândula hepatoide.

## 8 REFERÊNCIAS

BLEY, C.R.; STANKEOVA, S.; SUMOVA, A. **Metastases of perianal gland carcinoma in a dog: palliative tumor therapy**, Schweiz Arch Tierheilkd 145:89–94, 2003.

BRODZKI, A.; ŁOPUSZYŃSKI, W.; MILLAN, Y.; TATARA, M.R.; BRODZKI, P.; KULPA, K.; MINAKOW, N. **Androgen and Estrogen Receptor Expression in Different Types of Perianal Gland Tumors in Male Dogs**. Animals (Basel). Mar 19;11(3):875. 2021.

BRODZKI, A.; LOPUSZYŃSKI, W.; BRODZKI, P. **Diagnostic and prognostic value of cellular proliferation assessment with Ki-67 protein in dogs suffering from benign and malignant perianal tumors**, Folia Biol 62:235–241, 2014.

GROSS, T. L.; IHRKE, P.; WALDER, E. J.; AFFOLTER, V. K. Epithelial Neoplasms and other Tumors. Epithelial Neoplasms and other Tumors. Sebaceous Tumors. Sweat Gland Tumors. In: Skin diseases of the Dog and Cat. **Clinical and Histopathologic Diagnosis**, 2nd ed., p. 641-689. Blackwell Publishing, Oxford, 2005.

HILL, K.E.; SCOTT-MONTRIEFF, C.R.; KOSHKO, M.A. **Secretion of sex hormones in dogs with adrenal dysfunction**, J Am Vet Med Assoc 226:556–561, 2005.

KESSLER, M. **Perianal Tumors [Paper presentation]**. Congress of the World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings Online, Cape Town, South Africa. ;39. 2014.

PEREIRA, R.S.; SCHWEIGERT, A.; DIAS DE MELO, G.; FERNANDES, F.V.; SUEIRO, F.A.; MACHADO, G.F. **Ki-67 labeling in canine perianal glands neoplasms: a novel approach for immunohistological diagnostic and prognostic**. BMC Vet Res. Apr 20;9:83. 2013.

PETTERINO, C.; MARTINI, M.; CASTAGNARO, M. **Immunohistochemical detection of growth hormone (GH) in canine hepatoid gland tumors**. Journal Vet. Med. Sci.66(5): 569-572. 2004.

PIEPER, J.B.; STERN, A.W.; LECLERC, S.M.; CAMPBELL, K.L. **Coordinate expression of cytokeratins 7 and 14, vimentin, and Bcl-2 in canine cutaneous epithelial tumors and cysts.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Vol. 27(4) 497– 503. 2015.

SABATTINI, S.; RENZI, A.; RIGILLO, A.; SCARPA, F.; CAPITANI, O.; TINTO, D.; BRENDA, A.; BETTINI, G. **Cytological differentiation between benign and malignant perianal gland proliferative lesions in dogs: a preliminary study.** J Small Anim Pract. Oct;60(10):616-622. 2019.

SHABEEBA, P.M.; SAJITHA, I.S.; DEVI, S. S.; DIVYA, C.; SUDHEESH, S.N. **Histopathological study of canine hepatoid gland tumours.** J. Vet. Anim. Sci. 52(3): 277-280. 2021.

VAIL, D.M.; WITHROW, S.J.; SCHWARZ, P.D. **Perianal adenocarcinoma in the canine male: a retrospective study of 41 cases,** J Am Anim Hosp Assoc 26:329–334, 1990.

WALDER EJ, GROSS TL: **Epithelial tumors. In Veterinary Dermatopathology: A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease.** Edited by Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ. Boston: Mosby; 1992:329–520.

WASQUES, D.G.; GUERRA, J.M.; FERNANDES, NATÁLIA, N.C.C.A.; MARTINS, M.B.; MOTA, E.F.F.; COGLIATI, B. **Interobserver variability in the diagnosis of canine hepatoid gland tumors.** Braz. j. vet. pathol ; 15(2): 73-82, jul. 2022.

TUREK, M.; LIPTAK, J.M. **Specific Malignancies in the Small Animal Patient - Section H: perianal tumors in: Small Animal Clinical Oncology.** 6th ed, Elsevier, 2020.

## APÊNDICE A – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 1

ID	Diagnóstico	Infiltração (S/N)	Perda polaridade normal (S/N)	Necrose tumoral (%)	Índice mitótico >7 (S/N)	Mitose atípica (S/N)	Diferenc. sebácea (S/N)	Diferenc. escamosa (S/N)	Invasão vascular (S/N)	Atipia (S/N)	Atipia (class)	Inflamação (class)
9726	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Moderada
9033_2	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
9052_1_2	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Acentuada
8831	Carcinoma	S	S	0_25	S	S	N	S	N	S	Moderada	Discreta
9008_3	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
9281_3	Epitelioma	N	S	0_25	S	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
8940	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
8548	Carcinoma	S	S	25_50	N	N	N	S	S	S	Intensa	Acentuada
10014	Carcinoma	S	S	0_25	S	S	N	S	N	S	Mínima	Discreta
9007_2	Adenoma	N	N	25_50	N	N	N	N	N	N	Mínima	Acentuada
9739	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
9068	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	N	S	N	S	Moderada	Acentuada
9352	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
9272_3	Epitelioma	N	N	0_25	N	N	S	S	N	S	Mínima	Discreta
9092	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8732_2	Epitelioma	S	S	0_25	S	S	N	S	N	N	Mínima	Acentuada
9744_3	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Moderada
9095_1	Não hepatóide	S	S	0_25	N	N	S	S	N	N	Mínima	Moderada
9213	Epitelioma	S	S	0_25	S	S	S	S	N	S	Mínima	Discreta
8682	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8682_1	Epitelioma	S	S	50_100	N	N	N	S	N	S	Mínima	Discreta
9686	Carcinoma	N	N	0_25	S	N	S	N	N	S	Mínima	Discreta
9029_2	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
9464	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
9160_1	Epitelioma	S	S	0_25	S	N	N	S	N	S	Mínima	Discreta

## A PÊNDE B – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 2

ID	Diagnóstico	Infiltração (S/N)	Perda polaridade (S/N)	Necrose tumoral (%)	Índice mitótico >7 (S/N)	Mitose atípica (S/N)	Diferenc. sebácea (S/N)	Diferenc. escamosa (S/N)	Invasão vascular (S/N)	Atipia (S/N)	Atipia (class)	Inflamação (class)
9726	Adenoma	S	S	0_25	N	N	N	N	N	S	Mínima	Moderada
9033_2	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Moderada
9052_1_2	Adenoma	S	N	0_25	N	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
8831	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	S	S	N	S	Moderada	Moderada
9008_3	Adenoma	N	N	0_25	N	N	S	S	N	S	Mínima	Discreta
9281_3	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	N	S	N	S	Mínima	Discreta
8940	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8548	Epitelioma	S	S	0_25	N	N	S	S	N	S	Moderada	Discreta
10014	Carcinoma	S	S	25_50	S	N	S	N	N	S	Moderada	Discreta
9007_2	Adenoma	S	N	50_100	N	N	N	N	N	N	Mínima	Acentuada
9739	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9068	Carcinoma	S	S	25_50	N	N	N	S	N	S	Mínima	Moderada
9352	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9272_3	Epitelioma	N	S	0_25	N	N	S	N	N	S	Mínima	Discreta
9092	Adenoma	S	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8732_2	Epitelioma	S	S	25_50	N	N	S	S	N	S	Moderada	Moderada
9744_3	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	N	S	N	S	Moderada	Discreta
9095_1	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	S	S	N	S	Moderada	Discreta
9213	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	S	N	N	S	Moderada	Discreta
8682	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8682_1	Epitelioma	S	S	50_100	N	N	S	S	N	S	Moderada	Discreta
9686	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	S	N	N	S	Moderada	Discreta
9029_2	Não hepatóide	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9464	Não hepatóide	S	N	0_25	N	N	N	S	N	S	Mínima	
9160_1	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	S	N	N	S	Moderada	

## APÊNDICE C – TABELA DE CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS PATOLOGISTA 3

ID	Diagnóstico	Infiltração (S/N)	Perda polaridade (S/N)	Necrose tumoral (%)	Índice mitótico >7 (S/N)	Mitose atípica (S/N)	Diferenc. sebácea (S/N)	Diferenc. escamosa (S/N)	Invasão vascular (S/N)	Atipia (S/N)	Atipia (class)	Inflamação (class)
9726	Carcinoma	S	S	0_25	N	N	S	S	N	N	Mínima	Moderada
9033_2	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9052_1_2	Carcinoma	S	N	25_50	S	N	S	S	N	S	Moderada	Moderada
8831	Epitelioma	S	N	25_50	S	N	N	S	N	S	Mínima	Discreta
9008_3	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9281_3	Não hepatóide	S	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
8940	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
8548	Carcinoma	S	N	0_25	S	N	N	S	N	S	Mínima	Discreta
10014	Carcinoma	S	N	0_25	S	S	S	N	N	S	Mínima	Discreta
9007_2	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9739	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
9068	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	N	S	N	S	Moderada	Moderada
9352	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
9272_3	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9092	Epitelioma	N	N	0_25	S	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8732_2	Epitelioma	S	N	0_25	S	N	S	S	N	S	Mínima	Moderada
9744_3	Carcinoma	S	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9095_1	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9213	Carcinoma	S	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
8682	Adenoma	N	N	0_25	N	N	N	N	N	N	Mínima	Discreta
8682_1	Carcinoma	S	N	25_50	S	N	S	S	N	S	Moderada	Discreta
9686	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	S	S	N	S	Mínima	Discreta
9029_2	Adenoma	N	N	0_25	S	N	N	S	N	N	Mínima	Discreta
9464	Adenoma	N	N	0_25	S	N	S	S	N	N	Mínima	Discreta
9160_1	Carcinoma	S	S	0_25	S	N	S	S	N	S	Intensa	Discreta