

JÉSSICA MIRANDA COTA

**AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DOS TUMORES  
SEBÁCEOS 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*.

VIÇOSA  
MINAS GÉRIAS – BRASIL  
2019

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

T

C843a Cota, Jéssica Miranda, 1992-  
2019 Avaliação epidemiológica e histopatológica dos tumores  
sebáceos em cães / Jéssica Miranda Cota. – Viçosa, MG, 2019.  
viii, 48 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Lissandro Gonçalves Conceição.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.22-24.

1. Imunohistoquímica. 2. Glândulas sebáceas - Tumores.  
3. Antígeno Ki-67. 4. Índice mitótico. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de  
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.70896994

JÉSSICA MIRANDA COTA


**AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DOS TUMORES  
SEBÁCEOS 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: 22 de fevereiro de 2019.

  
Tatiana Schmitz Duarte

  
Fabricia Hallack Loures  
(Coorientadora)

  
Lissandro Gonçalves Conceição  
(Orientador)

## **Dedicatória**

Aos meus pais, Ailton e Lucilea, pelo amor, apoio, incentivo e esforço, fundamentais para a minha formação pessoal e profissional.

À minha tia Lucimar Miranda Fonseca (*in memoriam*), que continua sendo um exemplo de responsabilidade e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar me guiando, abençoando e fortalecendo.

À Universidade Federal de Viçosa, através do Departamento de Veterinária e Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, pela bolsa de estudos e a FUNARBE, por todo apoio no convênio.

Aos meus pais Ailton Viana Cota e Lucilea Miranda Viana, que são os maiores incentivadores à minha educação e também pelo apoio incondicional em todos os momentos. Aos meus irmãos Izadora Miranda Cota e João Paulo Miranda Cota, pelo carinho e companheirismo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lissandro Gonçalves Conceição, que é também um segundo pai para mim e um grande exemplo. Agradeço pela orientação, ensinamentos, confiança, paciência e respeito que serviram de estímulo para a minha formação e crescimento.

À Dra. Fabrícia Hallack Loures, por toda a ajuda, paciência, incentivo e doação que foram fundamentais para a realização desse trabalho. Muito obrigada também pelo carinho e apoio no decorrer da minha formação.

À Profa. Simone Eliza Facioni Guimarães, que me apoiou nos momentos de dificuldade, disponibilizando laboratório e material para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Aos Prof. Dr. Paulo Roberto Cecon e ao Dr. Jurandy Mauro Penitente Filho, que se disponibilizaram a ajudar nas análises estatísticas desse estudo. Fica o meu reconhecimento, respeito e admiração pela gentileza e competência de ambos.

À Dra. Tatiana Schmitz Duarte por participar da minha banca de defesa e colaborar com o enriquecimento desse trabalho.

Aos meus amigos, pelo carinho, respeito, companheirismo, incentivo profissional, pelos inúmeros conselhos tão sinceros, pelos sorrisos e lágrimas compartilhadas.

Obrigada por me motivarem a ser melhor sempre. Em especial, agradeço a minha amiga Sirley Adriana Ortiz Bedoya, que ficou ao meu lado nos momentos mais difíceis e me impulsionou a ser melhor e superar as dificuldades. Agradeço a Deus pela sua amizade.

Ao laboratório Vetpat, pela colaboração e realização da imuno-histoquímica.

Ao Provet e a todos os médicos veterinários que colaboraram com a casuística desse trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Veterinária da UFV, por serem solícitos e gentis. Em especial, a Rosi pelo carinho, apoio e pela enorme eficiência e competência no seu trabalho.

Aos membros da banca que gentilmente aceitaram participar da minha banca de defesa, pelos conhecimentos transmitidos contribuindo com o meu crescimento acadêmico.

A todos os professores meus sinceros agradecimentos pelos conhecimentos transmitidos, contribuindo com o meu crescimento pessoal e profissional.

Gratidão imensurável a todos os envolvidos nessa caminhada de muito aprendizado, dedicação e crescimento pessoal.

## **BIOGRAFIA**

JÉSSICA MIRANDA COTA, filha de Ailton Viana Cota e Lucilea Miranda Viana, nasceu em Vila Velha, ES, em 14 de agosto de 1992.

Em fevereiro de 2015, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Vila Velha (UVV), Vila Velha – ES.

Em fevereiro de 2017, concluiu o curso de Residência em Medicina Veterinária – Área de Concentração em “Clínica e Cirurgia de Cães e Gatos”, no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Em março de 2017, ingressou no Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, no Departamento de Veterinária – UFV, submetendo-se a defesa da dissertação em fevereiro de 2019.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	4
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	8
4. CONCLUSÕES .....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22

## RESUMO

COTA, Jéssica Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019.  
**Avaliação epidemiológica e histopatológica dos tumores sebáceos em cães.**  
Orientador: Lissandro Gonçalves Conceição. Coorientadora: Fabrícia Hallack Loures.

Foram analisados os aspectos clínicos de 482 tumores das glândulas sebáceas em cães, diagnosticados no período de 2009 a 2018. No estudo, 36,7% (177/482) dos casos foram diagnosticados como hiperplasia nodular sebácea (HNS), 32,6% (157/482) como epitelioma sebáceo (ES), 17,6% (85/482) adenomas sebáceos (AS), 11,4% (55/482) carcinoma sebáceo epiteliomatoso (CSE) e 1,7% (8/482) carcinomas sebáceos (CS). Não houve predileção sexual. Os animais com idade entre oito e 13 anos foram os mais acometidos. As raças Cocker Spaniel, Poodle, Shih Tzu, Lhasa Apso e Labrador foram as mais prevalentes. Clinicamente, a maioria das lesões apresentou-se solitária e localizada na região da cabeça. Dos casos de CSE, com seguimento clínico conhecido, em 13,8% (5/36) foram observados recorrência local, associada à margem cirúrgica incompleta. Destes, o tempo médio de recorrência pós-cirúrgica foi de 120 dias. O comprometimento do linfonodo regional foi observado em 5,5% (2/36) casos de CSE e um animal apresentou metástase pulmonar. O tempo médio de sobrevida após a excisão cirúrgica foi de dois anos para os casos de CSE caninos. Além disso, foram utilizados critérios histológicos e imunohistoquímica (IHQ) como métodos auxiliares para incluir os tumores com predomínio de células basalóides de reserva na categoria ES (n=14) ou CSE (n=14) em cães. Os critérios histológicos utilizados foram assimetria e necrose e a IHQ para verificar a expressão do receptor para o anticorpo Ki-67 (clone MIB1, código M7240). Após o diagnóstico, os tumores foram avaliados na histologia quanto a assimetria, infiltração do estroma, percentual de necrose e IM. As lesões diagnosticadas como CSE eram multilobulares e assimétricas. A presença de infiltração do estroma não foi um achado histológico frequente nos tumores diagnosticados como CSE. O IM e o percentual de necrose foram maiores nos tumores diagnosticados como CSE quando comparado aos ES ( $p < 0,05$ ). Na avaliação macroscópica os CSE eram frequentemente maiores que os ES ( $p < 0,05$ ). Além disso, houve associação significativa no número de mitoses de acordo com o tamanho do tumor ( $p < 0,01$ ). Este estudo sugere que a assimetria, o percentual de necrose e índice mitótico podem ser consideradas variáveis úteis na diferenciação entre o ES e CSE.

## ABSTRACT

COTA, Jéssica Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019.  
**Epidemiological and histopathological evaluation of sebaceous tumors in dogs.**  
Advisor: Lissandro Gonçalves Conceição. Co-adviser: Fabrícia Hallack Loures.

The clinical aspects of 482 sebaceous gland tumors in dogs, diagnosed from 2009 to 2018, were analyzed. In the study, 36.7% (177/482) of the cases were diagnosed as sebaceous nodular hyperplasia (HNS), 32.6% (157/482) as sebaceous epithelioma (ES), 17.6% (85/482) sebaceous adenomas (AS), 11.4% (55/482) epitheliomatous sebaceous carcinoma (CSE) and 1.7% (8 / 482) sebaceous carcinomas (CS). There was no sexual predilection. Animals aged between eight and 13 years were the most affected. The breeds Cocker Spaniel, Poodle, Shih Tzu, Lhasa Apso and Labrador were the most prevalent. Clinically, most injuries were solitary and located in the head region. Of the cases of CSE, with known clinical follow-up, in 13.8% (5/36) local recurrence was observed, associated with the incomplete surgical margin. Of these, the average postoperative recurrence time was 120 days. Regional lymph node involvement was observed in 5.5% (2/36) cases of CSE and one animal presented pulmonary metastasis. The median survival time after surgical excision was two years for canine CSE cases. In addition, histological and immunohistochemistry (IHC) criteria were used as auxiliary methods to include tumors with a predominance of reserve basaloid cells in the category ES (n = 14) or CSE (n = 14) in dogs. The histological criteria used were asymmetry and necrosis and IHC to check the expression of the receptor for the Ki-67 antibody (clone MIB1, code M7240). After diagnosis, tumors were evaluated in histology for asymmetry, stroma infiltration, percentage of necrosis and MI. The lesions diagnosed as CSE were multilobular and asymmetric. The presence of stromal infiltration was not a frequent histological finding in tumors diagnosed as CSE. The MI and the percentage of necrosis were higher in tumors diagnosed as CSE when compared to ES ( $p < 0.05$ ). In the macroscopic evaluation, the CSE were often greater than the ES ( $p < 0.05$ ). In addition, there was a significant association in the number of mitoses according to the size of the tumor ( $p < 0.01$ ). This study suggests that asymmetry, the percentage of necrosis and mitotic index can be considered useful variables in the differentiation between ES and CSE.

## 1. INTRODUÇÃO

As glândulas sebáceas são anexos cutâneos localizados na derme, responsáveis pela produção e secreção de sebo (Miller et al., 2013). São glândulas alveolares ramificadas, com secreção do tipo holócrina (Gross et al., 2005). Estão presentes em toda a superfície cutânea hirsuta e ausentes nos coxins e plano nasal de cães e gatos. Nos carnívoros, são observadas em maior quantidade nas junções mucocutâneas, no espaço interdigital, nas regiões dorsal do pescoço, mentoniana e dorsal da cauda (Conceição & Loures, 2016). Os lóbulos sebáceos são circundados pela membrana basal e por uma única camada de células basalóides de reserva e que se diferenciam em sebócitos maduros; estes produzem o material lipídico conforme migram ao centro acinar (Ginn et al., 2007; Conceição & Loures, 2016).

Os tumores das glândulas sebáceas são comuns em cães, representando de 6,8 a 21% dos tumores epiteliais na espécie (Strafuss, 1976; Rothwell et al., 1987; Mukaratirwa et al., 2005). Esses são incomuns em gatos, representando cerca de 3% de todos os tumores cutâneos nos felinos (Strafuss, 1985; Miller et al., 2013). Os tumores sebáceos são originados da proliferação do tecido glandular, podendo se apresentar como lesões de crescimento endofítico ou exofítico, serem únicas ou múltiplas, alopecicas, ulceradas ou pigmentadas (Miller et al., 2013; Goldschmidt & Hendrick, 2002). Devido a ampla distribuição das glândulas sebáceas na superfície corpórea, as lesões podem surgir em diversos sítios anatômicos (Miller et al., 2013). Entretanto, os locais mais acometidos são cabeça, membros e pescoço (Goldschmidt et al., 1998). O prognóstico é favorável na maioria dos casos de tumores sebáceos em cães, após ampla excisão cirúrgica (Gross et al., 2005).

A classificação histológica desses tumores é feita de acordo com o grau de diferenciação celular, padrões arquiteturais e características citológicas (Gross et al., 2005). São divididos histologicamente em hiperplasia nodular sebácea (HNS) e adenoma sebáceo (AS) entre as formas benignas e o epitelioma sebáceo (ES) (com baixo grau de malignidade) e o carcinoma sebáceo (CS) entre os malignos (Marconato, 2005). Embora sem comprovação científica, o termo carcinoma sebáceo epiteliomatoso (CSE) foi proposto com o objetivo de classificar os tumores sebáceos basalóides com maior potencial de malignidade (Gross et al., 2005; Bettini et al., 2009).

Histologicamente, a HNS é caracterizada por aglomerados de lóbulos de glândulas sebáceas, localizados na derme superficial, com sebócitos bem diferenciados, ao redor de

ductos escamosos dilatados e frequentemente hiperkeratóticos (Gross et al., 2005). Ao redor dos lóbulos, uma camada de células de reserva é identificada (Ginn et al., 2007).

Os AS se caracterizam pela proliferação de lóbulos de células sebáceas, separados por trabéculas de tecido conjuntivo. As células sebáceas bem diferenciadas (sebócitos) apresentam citoplasma repleto de vacúolos, carregados de lipídeos, representando a população prevalente (Goldschmidt et al., 1998). As células de reserva se apresentam com citoplasma escasso, eosinofílico e com núcleos ovoides, com baixa atividade mitótica, que é restrita a essas células (Gross et al., 2005).

Os ES são predominantemente compostos por 90% ou mais de células basalóides de reserva e 10% ou menos de sebócitos intermediários e maduros (Goldschmidt et al., 1998; Gross et al., 2005). Ainda, são caracterizados pela presença de numerosas mitoses nas células de reserva (Ginn et al., 2007). A degeneração cística e necrose podem estar presentes em focos maiores de sebócitos bem diferenciados (Gross et al., 2005).

Os ES podem eventualmente apresentar comportamento localmente agressivo, com recorrência local e raramente metástase nos linfonodos regionais (Scott & Anderson, 1990; Bettini et al., 2009). Apesar de incomuns, as metástases à distância já foram relatadas (Bettini et al., 2009). Por essa razão, foi então proposto o termo CSE para classificar os epiteliomas com critérios de maior malignidade (Gross et al., 2005). Entretanto, esses critérios histológicos são controversos, sendo necessários estudos correlacionando às implicações clínicas do tumor (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015).

Os CSE são definidos pela presença de mitoses em células completamente lipidizadas ou intermediárias, justificando assim o diagnóstico. A atividade mitótica das células basalóides de reserva é moderada a alta (Gross et al., 2005). Apesar de ser considerada um indicativo de malignidade por alguns autores, a identificação de mitoses em sebócitos maduros é controversa (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015). Além disso, comparando aos ES, os CSE são frequentemente maiores, com agregados celulares mais pleomórficos e maior invasão periférica (Gross et al., 2005). Focos de necrose e degeneração cística são comuns e raramente o comprometimento linfático é identificado (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015).

Os CS são caracterizados por formarem nódulos dérmicos, pouco circunscritos, compostos por trabéculas irregulares de células poligonais pleomórficas e atípicas com graus variáveis de lipidização citoplasmática (Gross et al., 2005). Esses tumores

geralmente não possuem números significativos de células de reserva (Goldschmidt et al., 1998).

Os tumores sebáceos apresentam em sua maioria, comportamento clínico benigno. Entretanto, mesmo com o prognóstico favorável, alguns tumores classificados como ES podem ulcerar e inflamar, ocorrer como múltiplas lesões, recorrer localmente e raramente metastatizar. Além disso, esses tumores podem levar a problemas funcionais devido a sua localização, como na pálpebra, membro ou lábio (Scott & Anderson, 1990; Gross et al., 2005; Bettini et al., 2009; Sabattini et al., 2015).

A dificuldade no diagnóstico dos tumores com predomínio de células basalóides de reserva pode em parte ser explicada pelas semelhanças histológicas entre os ES e CSE (Gross et al., 2005). Além disso, são pouco definidos os critérios de malignidade na diferenciação dos dois grupos tumorais (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015). A classificação de um tumor sebáceo de acordo com a porcentagem de células de reserva não parece permitir uma boa estratificação em termos de comportamento biológico do tumor. Assim, o refinamento dos critérios diagnósticos entre os ES e CSE pode ser útil na avaliação do comportamento do tumor e para determinar decisões terapêuticas (Sabattini et al., 2015).

Em razão da considerável prevalência dos tumores sebáceos na espécie canina e de poucos trabalhos com dados epidemiológicos nacionais, fazem-se necessários novos estudos, incluindo os casos diagnosticados como CSE. Ainda, apesar de definidas as particularidades histológicas em cada grupo, a distinção entre os ES e CSE ainda é pouco precisa, com escassos dados publicados sobre as características e comportamento biológico dos CSE (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015). Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram realizar um estudo retrospectivo dos tumores sebáceos em cães, abordando aspectos epidemiológicos e clínicos; investigar o comportamento clínico dos tumores diagnosticados como CSE através do seguimento clínico dos casos; realizar uma análise histológica e imunohistoquímica (IHQ) de tumores previamente classificados como ES e CSE.

## 1. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Dos dados clínicos e epidemiológicos

Foram avaliados retrospectivamente 6579 registros de biópsias cutâneas de cães (tumores benignos e malignos), encaminhadas ao setor de patologia no período de 2009 a 2018. Os espécimes cutâneos, enviados pelos veterinários solicitantes, foram coletados por biópsia (*punch*, incisional ou excisional), fixados em formalina 10%, processados de maneira habitual e incluídos em parafina. Os cortes histológicos foram realizados com espessura de 3 a 5 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina (HE). Foram selecionadas 482 lesões para este estudo, diagnosticadas de acordo com as características histológicas como HNS, AS, ES, CSE e CS.

As informações clínicas referentes ao sexo, idade, raça, localização e tamanho das lesões foram obtidas através dos formulários de requisição do exame histopatológico. Para a localização anatômica, os locais foram divididos em: cabeça, pescoço, tronco, membros, dígito/interdígito, períneo e cauda. Quando mais de um tumor da mesma classificação histológica ocorreu em diferentes localizações anatômicas de um mesmo cão (multicêntrico), apenas os locais e tamanhos foram incluídos no estudo. Os cães que apresentavam mais de um tumor, mas histologicamente diferentes (múltiplos), foram incluídos no levantamento mais de uma vez, dentro de cada classe específica. A faixa etária de acometimento (informada em 471 casos), foi dividida em menor que sete anos, entre oito e 13 anos e maior que 14 anos. O valor total (n) foi modificado dependendo da variável analisada.

Por contato telefônico com os médicos solicitantes, foram coletadas informações adicionais dos animais diagnosticados com ES e CSE como recorrência, metástases, intervalo livre de doença e sobrevida dos pacientes.

Para os dados clínicos (sexo, idade, tamanho e local das lesões), foi realizada análise estatística descritiva. Foi utilizado o risco relativo (*Odds Ratio*) para avaliar a predisposição das raças, com intervalo de confiança de 95%, (MedCalc Statistical Software®, disponível em [https://www.medcalc.org/calc/odds\\_ratio.php](https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php)). Para avaliar a predisposição dos sexos e faixa etária, foi utilizado o teste Qui-quadrado, calculado intervalo de confiança de 95%, para a proporção de ocorrência. Para comparar as variáveis “tamanho das lesões entre os tumores sebáceos”, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn’s Method. As análises estatísticas foram

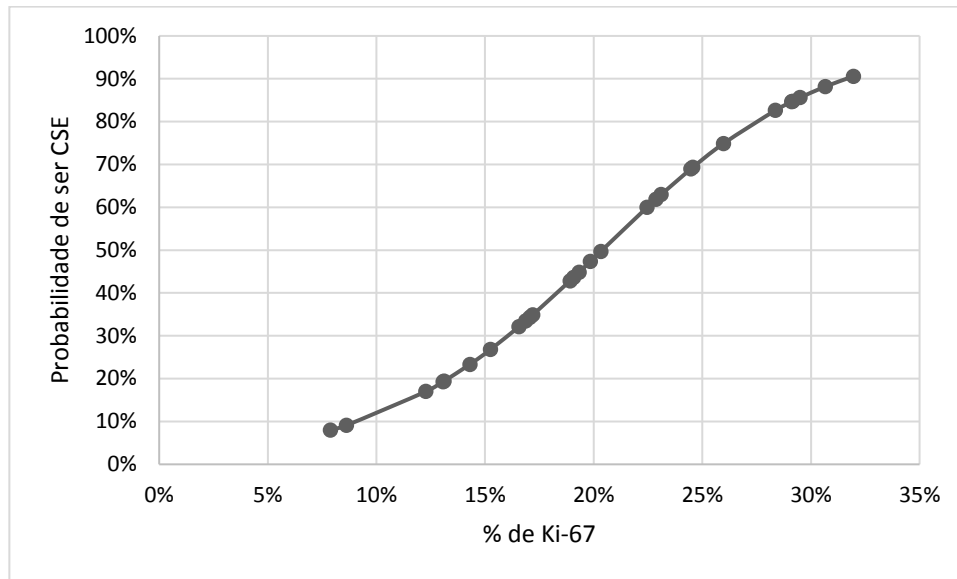
realizadas com o auxílio do programa estatístico SigmaPlot® versão 11.0 (Systat Software, Inc.).

## **2.2. Avaliação histológica dos epitelomas sebáceos e carcinomas sebáceos epiteliomatosos**

Foram avaliados 28 casos histopatológicos classificados como epiteloma sebáceo (n=14) e carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=14) provenientes do arquivo do setor de patologia. Os tumores com prevalência de células basalóides de reserva foram previamente diagnosticados como ES e CSE, as lesões foram revisadas e o diagnóstico confirmado sob microscopia óptica de luz. Foram utilizados critérios histológicos e a IHQ com Ki-67 para incluir os tumores com predomínio de células basalóides de reserva na categoria ES ou CSE. Os critérios histológicos de inclusão utilizados para a categorização prévia em cada grupo foram assimetria e necrose (avaliação subjetiva inicialmente). Além disso, as lesões também foram submetidas à IHQ para verificar a expressão do receptor para o anticorpo Ki-67 (clone MIB1, código M7240) como um critério para a diferenciação prévia dos grupos.

Assim como demonstrado por Sabbatini et al. (2015), um alto percentual de Ki-67 foi observado em três tumores metastáticos com prevalência de células de reserva em cães, sendo proposto que fossem classificados como CSE. Em outro estudo, foi observado um alto índice Ki-67 em um ES metastático canino e foi sugerido que o mesmo fosse classificado como CSE (Bettini et al., 2009). Apesar da literatura reportar um maior índice Ki-67 para os tumores com diagnóstico presuntivo de CSE, ainda não foi estipulado um *cut off* que auxiliasse na classificação da lesão. Diante disso, no presente estudo o índice Ki-67 foi utilizado como um dos critérios para o diagnóstico prévio dos CSE. A análise de regressão logística foi realizada para verificar o efeito da porcentagem do Ki-67 sobre a probabilidade de o tumor ser um CSE ou ES. Quando a porcentagem do Ki-67 foi de 20,39%, a probabilidade de o tumor ser um CSE foi de 50% (Gráfico 1). Além disso, houve diferença estatística entre os ES e CSE quanto ao índice de marcação pelo Ki-67 ( $p < 0,05$ ). O percentual de células positivas para o Ki-67 nos CSE variou entre 12,27-31,96%, sendo a média 23,77% ( $\pm 1,70$ ). Nos ES foi observado uma variação entre 7,87-28,36%, sendo a média 17,07% (1,42).

**Gráfico 1.** Análise de regressão logística demonstrando o efeito da porcentagem do Ki-67 sobre a probabilidade de o tumor ser um CSE.



O processamento IHQ baseou-se no corte dos blocos de parafina com três micrômetros de espessura e distendidos sobre lâminas carregadas eletricamente (Starfrost®). Os cortes histológicos, aderidos a lâminas silanizadas, foram desparafinados em estufa e, em seguida, reidratados em álcool graduado e água destilada. A recuperação de antígenos foi realizada por aquecimento dos cortes histológicos em solução tampão. Para o anticorpo anti-Ki67 foi utilizado o citrato em pH 6.0 na panela de pressão (Pascal®). Após bloqueio de peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio a 3%, os cortes histológicos foram submetidos às incubações com anticorpos primários para Ki67 (1:50) por 12 horas (*over night*) a 8°C, anticorpo secundário biotilado e, finalmente, com complexo estreptavidina-peroxidase. A revelação foi obtida com solução contendo diaminobenzidina e a contracoloração com Hematoxilina de Harris (Hsu et al. 1981). Os controles positivos utilizados foram linfonodos caninos.

A interpretação IHQ foi realizada sob microscopia de luz. As neoplasias foram examinadas em menor aumento para identificar as áreas de maior intensidade de imunomarcção. As áreas com intensa inflamação ou necrose foram evitadas, uma vez que células inflamatórias podem ser positivas para Ki67. Foi definido o percentual de núcleos positivos com a contagem manual de no mínimo 1000 núcleos por caso, em 10 campos de grande aumento (400x). Os núcleos positivos e negativos foram quantificados manualmente com auxílio do software ImageJ®, através da ferramenta Manual Tag.

Foram considerados positivos todos os núcleos com evidências de marcação, mesmo que fraca.

Objetivando diminuir a margem de erro nas análises histológicas, as amostras foram avaliadas e classificadas separadamente, às cegas, por dois patologistas, sendo realizada posteriormente uma discussão dos casos com discordância na classificação para a definição final do diagnóstico. Após as lesões serem diagnosticadas previamente como ES e CSE, foi avaliado se haviam diferenças nos tamanhos dos tumores, percentual de necrose tecidual, infiltração do estroma e no índice mitótico (IM).

Para a avaliação do IM, foram selecionadas áreas de maior atividade mitótica e realizada a contagem do número total de figuras de mitoses em 10 campos de grande aumento (400x). Além disso, também foram analisados histologicamente se possuíam diferenças quanto a necrose tecidual na lesão e o tamanho dos tumores nos dois grupos. As presenças de invasão vascular e linfática foram avaliadas em cada tumor.

Para a determinação das áreas de necrose, as lâminas foram submetidas à leitura sob microscopia óptica de luz. Toda a lesão foi avaliada e foi estimado um percentual de necrose para cada lesão, seguindo como parâmetro a extensão de acometimento, variando entre ausência de necrose (0%) e toda a lesão acometida (100%). A necrose variou entre 5-55% nos tumores analisados. A avaliação desse critério foi realizada por um examinador. A avaliação dos parâmetros como IM e percentual de necrose tecidual foi feita de forma randomizada, por um investigador que não tinha o conhecimento do diagnóstico prévio (ES ou CSE). Não houve restrição de sexo, raça ou faixa etária para a seleção e conformação dos grupos. Os tamanhos dos tumores foram obtidos através dos formulários de requisição do exame histopatológico.

Os dados (IM, necrose e tamanho) foram avaliados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Os dados de percentual de necrose foram submetidos à transformação arco-seno, os dados de IM e tamanho foram submetidos à transformação logarítmica. As variáveis após transformadas, foram submetidas à análise de variância. Correlações entre as variáveis (não transformadas) foram analisadas pela correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0.05$ . As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SigmaPlot® versão 11.0 (Systat Software, Inc.).

## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tumores sebáceos compreenderam 6,8% (482/6579) dos tumores cutâneos diagnosticados em cães no período do estudo. Em outras pesquisas, os tumores das glândulas sebáceas se demonstraram comuns em cães, representando 4,2% a 14% de todos os tumores da pele na espécie (Scott & Anderson, 1990; Mukaratirwa et al., 2005). Em humanos, as proliferações sebáceas são incomuns, com prevalência inferior à 1% dos tumores cutâneos (Lazar & McKee, 2005; Tavares et al., 2012).

A frequência dos diagnósticos em ordem decrescente de ocorrência, para os 482 casos, foram: 177 (36,7%) casos de HNS, 157 (32,6%) ES, 85 (17,6%) AS, 55 (11,4%) CSE e 8 (1,7%) CS, sendo observado uma maior frequência de lesões benignas (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Scott e Anderson (1990), onde as lesões mais comuns foram HNS em 92 (53,5%) casos, seguido de 64 (37,2%) ES, 13 (7,5%) AS e 3 (1,7%) CS. Corroborando os dados de outro estudo, os CS foram incomuns em cães, representando 2% (206/10300) das neoplasias cutâneas de origem epitelial no cão. No mesmo estudo, 12% (1236/10300) casos corresponderam a AS ou ES (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Em humanos, os AS foram os mais frequentemente diagnosticados dentre os tumores sebáceos (25 casos ou 60%) (Tavares et al., 2012).

**Tabela 1.** Frequência da ocorrência dos tumores sebáceos em cães (n=482).

Tipo histológico	Números de casos (%)
Hiperplasia nodular sebácea	177 (36,7)
Epitelioma sebáceo	157 (32,6)
Adenoma sebáceo	85 (17,6)
Carcinoma sebáceo epiteliomatoso	55 (11,4)
Carcinoma sebáceo	8 (1,7)
<b>Total</b>	<b>482 (100%)</b>

Independentemente do tipo histológico, não houve predisposição sexual para o desenvolvimento dos tumores sebáceos ( $p=0,239$ ); 49,4% (238/482) dos casos ocorreram em machos e 50,6% (244/482) em fêmeas. Entretanto, alguns autores relataram que o CS foi mais frequente em machos não castrados (Goldschmidt & Hendrick, 2002; Miller et al., 2013; Hauck, 2013). Sabbatini e colaboradores (2015), observaram uma relação entre

cães diagnosticados com tumores sebáceos e tumores nas glândulas perianais e testiculares, sugerindo uma associação androgênica no desenvolvimento das neoplasias sebáceas. A expressão de receptores androgênicos foi identificada nas glândulas hepatóides normais, hiperplásicas e neoplásicas, com aumento da positividade nas células basalóides de reserva (Pisani et al., 2006). Em humanos, o receptor androgênico demonstrou ser um marcador sensível para os CS, especialmente nos casos pouco diferenciados, podendo ser útil no diagnóstico (Asadi-Amoli et al., 2010).

A idade dos animais variou de dois a 18 anos (média e moda de 10 anos) e a maioria, 73,3% (345/470) dos animais tinham entre oito e 13 anos ( $p < 0,001$ ), independentemente do tipo histológico (Tabela 2). De acordo com a literatura, cães entre oito e 10 anos foram os mais acometidos pelos tumores sebáceos (Miller et al., 2013). Em humanos, os idosos (média 66,3 anos) também foram os mais frequentemente diagnosticados pelos tumores sebáceos (Tavares et al., 2012). A maior incidência das neoplasias nos animais idosos pode ser justificada pelo aumento da longevidade dos cães (De Nardi et al., 2002; Withrow & MacEwen, 2007). A idade também pode ser considerada um fator predisponente ao desenvolvimento das neoplasias, pois são raras as ocorrências em cães com menos de um ano (De Nardi et al., 2002; Withrow & MacEwen, 2007).

**Tabela 2.** Ocorrência dos diferentes tipos de tumores sebáceos em cães de acordo com a faixa etária (n=470).

Tipo Histológico (n=470)					
	Hiperplasia nodular sebácea (n=173)	Epitelioma sebáceo (n=152)	Adenoma sebáceo (n=83)	Carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=54)	Carcinoma sebáceo (n=8)
Faixa etária	Números de casos (%)				
< 7 anos	32 (6,8) <sup>a</sup>	6 (1,3) <sup>a</sup>	12 (2,5) <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
8-13 anos	122 (26) <sup>b</sup>	114 (24,3) <sup>b</sup>	60 (12,8) <sup>b</sup>	41 (8,7) <sup>b</sup>	8 (1,7) <sup>b</sup>
> 14 anos	19 (4) <sup>a</sup>	32 (6,8) <sup>a</sup>	11 (2,3) <sup>a</sup>	13 (2,8) <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Média	Idade (anos)				
	10	11	10	12	11

Dados da mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

No presente estudo, a idade média de acometimento foi maior para os casos de CSE (12 anos), ES e CS (11 anos), quando comparado as HNS e AS (10 anos) ( $p < 0,05$ ). Em humanos, os casos diagnosticados como CS também apresentaram uma idade média mais avançada (78 anos), quando comparado aos outros tumores sebáceos (Tavares et al., 2012). A idade avançada, a predisposição genética para a Síndrome de Muir-Torre e imunossupressão foram fatores de risco propostos para o desenvolvimento de tumores sebáceos com maior malignidade em humanos (Dasgupta et al., 2009; Tavares et al., 2012). Além disso, em humanos, o diagnóstico dos casos de CS palpebrais pode ser postergado em função da neoplasia ser confundida com lesões benignas mais comuns, como calázio, blefarite e infecção piogranulomatosa (Nelson et al., 1995; Maurya et al., 2015).

Quanto à localização anatômica, os tumores sebáceos tiveram sua distribuição conforme ordem decrescente de frequência: 68% (299/440) na cabeça, 11,1% (49/440) no tronco, 9% (40/440) nos membros (torácicos e pélvicos), 7% (31/440) no pescoço, 2,5% (11/440) no dígito/interdígito, 1,6% (7/440) na cauda e 0,7% (3/440) no períneo. A distribuição anatômica por classificação histológica está descrita na tabela 3. Esse resultado pode ser justificado pelas glândulas sebáceas serem maiores e mais numerosas próximas das junções mucocutâneas, queixo, pescoço, espaços interdigitais, dorso e cauda (Miller et al., 2013). Goldschmidt et al. (1998) também observaram uma maior frequência dos tumores sebáceos caninos na cabeça, membros e pescoço. Em humanos, os locais mais acometidos foram as pálpebras (38,7%), outras regiões da face (26,8%), tronco (13,3%) e pescoço (8,7%) (Dasgupta et al., 2009).

**Tabela 3.** Distribuição anatômica regional dos diferentes tipos de tumores sebáceos em cães (n=440).

Localização Anatômica	Variante Histológica				
	Hiperplasia nodular sebácea (n=152)	Adenoma sebáceo (n=85)	Epitelioma sebáceo (n=141)	Carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=54)	Carcinoma sebáceo (n=8)
Cabeça	65 (42,8)	65 (76,4)	127 (90)	36 (66,6)	6 (75)
- <i>Pálpebra</i>	30 (19,8)	44 (51,7)	84 (59,6)	9 (16,7)	1 (12,5)
- <i>Orelha</i>	11 (7,2)	9 (10,6)	30 (21,3)	8 (14,8)	3 (37,5)
<i>/Conduto auditivo</i>					
- <i>Lábio</i>	6 (4)	1 (1,1)	6 (4,2)	6 (11,1)	0
- <i>Outro</i>	18 (11,8)	11 (12,9)	7 (4,9)	13 (24,1)	2 (25)
Tronco	33 (21,7)	5 (5,9)	4 (2,8)	5 (9,3)	2 (25)
Membros	23 (15,1)	10 (11,8)	3 (2,1)	4 (7,4)	0
Pescoço	18 (11,8)	4 (4,7)	4 (3)	5 (9,3)	0
Dígito	6 (4)	1 (1,2)	2 (1,4)	2 (3,7)	0
<i>/Interdígito</i>					
Cauda	5 (3,3)	0	1 (0,7)	1 (1,8)	0
Períneo	2 (1,3)	0	0	1 (1,8)	0

A pálpebra foi o local de maior ocorrência das lesões sebáceas no estudo, representado por 38,1% (168/440) dos casos. Em um levantamento de 202 neoplasias palpebrais em cães, os tumores sebáceos também foram os mais frequentes, representando 44% das ocorrências tumorais (Krehbiel & Langham, 1975). Este fato se deve à região periocular ser uma área com maior densidade de glândulas sebáceas (Gross et al., 2005; Miller et al., 2012). Em humanos, foi sugerido que o maior acometimento da região cefálica e pescoço seja decorrente da maior exposição dessas regiões à radiação ultravioleta, além da maior quantidade de glândulas sebáceas nesses locais (Dasgupta et al., 2009; Shalin et al., 2012).

O tamanho das lesões (informação obtida em 311 casos) variou de 0,1 cm a 8 cm de diâmetro (média 0,9 cm e moda 0,5 cm de diâmetro) (Tabela 4). No presente estudo, os ES apresentaram um diâmetro médio de 0,8 cm, com o tamanho variando de 0,2 cm a 4 cm de diâmetro. A literatura relata que os ES apresentam diâmetro tumoral entre 0,5 e 5 cm (Gross et al., 2005). No estudo, não houve diferença estatística entre o tamanho das HNS, AS e ES ( $p>0,05$ ). Entretanto, os CSE foram maiores que as HNS, AS e ES ( $p<0,05$ ), mas não foram observadas diferenças entre os tamanhos dos CSE e CS ( $p>0,05$ ), sugerindo uma relação direta entre o tamanho do tumor e maior potencial de malignidade. Alguns autores sugerem que uma alta atividade proliferativa nos tumores com predomínio de células basalóides de reserva seja um parâmetro na diferenciação dos casos benignos e malignos (Sabattini et al., 2015). Ainda, a maior atividade proliferativa foi identificada nos tumores com diâmetro superior a 1 cm (Sabattini et al., 2015).

**Tabela 4.** Tamanho (diâmetro-cm) e medidas de tendência central dos diferentes tipos de tumores sebáceos nos cães (n=311).

Variável	FR (%)	ME	MD	Moda	Varição	AT	DP
Hiperplasia nodular sebácea (n=113)	36,3	0,58 <sup>a</sup>	0,50	0,5	0,1 a 4,0 cm	3,9	0,46
Epitelioma sebáceo (n=96)	30,8	0,8 <sup>a</sup>	0,60	0,5	0,2 a 4,0 cm	3,8	0,63
Adenoma sebáceo (n=64)	20,6	0,6 <sup>a</sup>	0,50	0,5	0,1 a 4,0 cm	3,9	0,57
Carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=32)	10,3	2,8 <sup>b</sup>	2,50	2,5 - 4,0	0,7 a 8,0 cm	7,3	1,9
Carcinoma sebáceo (n=6)	2	1,7 <sup>b</sup>	1,25	1,0	0,7 a 4,0 cm	3,3	1,21
Total (311)	100	0,9		0,5	0,1 a 8,0 cm		

FR (%) = frequência relativa; ME = média; MD = mediana; AT = amplitude total; DP = desvio padrão. Dados da mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

A frequência racial ao desenvolvimento dos tumores sebáceos foi representada por 20% (96/480) de cães da raça Cocker Spaniel, 16,7% (80/480) Poodle, 10,8% (52/480) sem raça definida (SRD), 8,8% (42/480) Labrador, 6,1% (29/480) Shih Tzu e 5,6% (27/480) Lhasa Apso. O Poodle e o Cocker Spaniel foram as raças mais predispostas ao desenvolvimento das HNS e AS. As raças mais predispostas ao surgimento do ES foram Cocker Spaniel, Labrador, Shih-Tzu e Lhasa Apso. Este resultado corrobora a literatura, que relata uma maior frequência dos tumores sebáceos também nessas raças (Goldschmidt & Hendrick, 2002; Hauck, 2013; Miller et al., 2012).

Em relação ao CSE, as raças Cocker Spaniel (OR 9,67;  $p < 0,0001$ ), Labrador (OR 2,15;  $p = 0,0593$ ) e Poodle (OR 2,12;  $p = 0,0186$ ) exibiram respectivamente nove, duas e duas vezes mais chances de desenvolverem CSE (Tabela 5). Alguns autores relataram que as raças Cocker Spaniel, West Highland White Terrier, Scottish Terrier e Husky Siberiano parecem ser predispostas ao desenvolvimento do CS (Goldschmidt & Hendrick, 2002). Entretanto, no presente trabalho, foi observado que os cães da raça Shih Tzu (OR 8,48;  $p = 0,0071$ ) apresentaram mais chance de desenvolverem CS que as demais raças (Tabela 5).

**Tabela 5.** Predisposição racial (razão de possibilidades - *odds ratio*) para a ocorrência dos diferentes tipos de tumores sebáceos em cães (n=481)

Tipo histológico	Número de cães acometidos (%)	<i>Odds ratio</i> (I.C. 95%)*	<i>p value</i>
Hiperplasia nodular sebácea (n=177)			
Cocker Spaniel	25 (14,2)	3,86 (2,44-6,00)	< <b>0,0001</b>
Labrador	7 (3,9)	0,58 (0,27-1,26)	0,1730
Lhasa Apso	10 (5,6)	1,68 (0,87-3,23)	0,1168
Poodle	41 (23,3)	4,70 (3,27-6,77)	< <b>0,0001</b>
Shih Tzu	12 (6,8)	2,55 (1,39-4,68)	<b>0,0023</b>
Epitelioma sebáceo (n=157)			
Cocker Spaniel	44 (28)	9,85 (6,80-14,28)	< <b>0,0001</b>
Labrador	23 (14,6)	2,55 (1,62-4,01)	<b>0,0001</b>
Lhasa Apso	11 (7,0)	2,12 (1,13-3,97)	<b>0,0186</b>

Poodle	15 (9,5)	1,53 (0,89-2,63)	0,1219
Shih Tzu	10 (6,3)	2,35 (1,22-4,55)	<b>0,0105</b>
<b>Adenoma sebáceo</b>			
(n=85)			
Cocker Spaniel	10 (11,7)	2,98 (1,52-5,83)	<b>0,0014</b>
Labrador	5 (5,8)	0,89 (0,36-2,22)	0,8147
Lhasa Apso	6 (7,1)	2,11 (0,91-4,90)	0,0805
Poodle	16 (18,2)	3,41 (1,96-5,93)	<b>&lt; 0,0001</b>
Shih Tzu	4 (4,7)	1,67 (0,60-4,61)	0,3191
<b>Carcinoma sebáceo</b>			
epiteliomatoso (n=54)			
Cocker Spaniel	16 (29,6)	9,67 (5,33-17,57)	<b>&lt; 0,0001</b>
Labrador	7 (12,9)	2,15 (0,97-4,80)	<b>0,0593</b>
Poodle	8 (14,8)	2,12 (1,13-3,97)	<b>0,0186</b>
Shih Tzu	1 (1,8)	0,63 (0,08-4,59)	0,6509
<b>Carcinoma sebáceo</b>			
(n=8)			
Cocker Spaniel	1 (12,5)	3,12 (3,38-25,50)	0,2869
Coton de Tulear	1 (12,5)	9,53 (1,16-78,24)	<b>0,0358</b>
Pastor Alemão	1 (12,5)	2,27 (0,27-18,55)	0,4421
Pug	1 (12,5)	3,86 (0,47-31,57)	0,2066
Schnauzer	1 (12,5)	5,10 (0,62-41,68)	0,1284
Shih Tzu	2 (25,0)	8,48 (1,79-40,24)	<b>0,0071</b>

\*I.C.: Intervalo de Confiança de 95%

Os tumores sebáceos se apresentaram como lesões solitárias em 80,3% (387/482) dos casos. As lesões múltiplas foram identificadas em 19,7% (95/482) dos casos, variando de dois a seis tumores por animal. Destes, o mesmo tipo histológico em todas as lesões (apresentação multicêntrica) foi observado em 12% (58/482) dos casos. A HNS foi a classe histológica com o maior número de casos (40/482 ou 22,6%) com a apresentação multicêntrica (Tabela 6). Outros autores também relataram que as lesões múltiplas não foram incomuns nas HNS, sendo geralmente solitárias nos AS e CS (LeBlanc, 2011; Miller et al., 2013).

**Tabela 6.** Ocorrência de cães com múltiplos tumores sebáceos de um mesmo tipo histológico (n=482).

Tipo histológico	Números de casos (%)
Hiperplasia sebácea (n=177)	40 (22,6)
Epitelioma sebáceo (n=157)	11 (13)
Adenoma sebáceo (n=85)	6 (3,8)
Carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=55)	1 (1,8)
Carcinoma sebáceo (n=8)	0
<b>Total</b>	<b>58 (41,2)</b>

Múltiplos tumores sebáceos histologicamente distintos foram observados em apenas 7,7% (37/482) dos casos (Tabela 7). Alguns autores propõem que as HNS sejam precursores dos AS e ES devido à presença de focos de HNS nas lesões (Scott & Anderson, 1990). Em humanos, ainda não está claro se o desenvolvimento do CS representa uma progressão maligna das lesões sebáceas benignas (Singh et al., 2017).

**Tabela 7.** Número de cães acometidos por múltiplos tumores sebáceos, histologicamente distintos (n=482).

Tipos histológicos	Número de casos com múltiplos tumores sebáceos (%)
Hiperplasia sebácea e epitelioma sebáceo	13 (2,7)
Adenoma sebáceo e epitelioma sebáceo	9 (1,9)
Hiperplasia sebácea e adenoma sebáceo	8 (1,7)
Adenoma sebáceo e carcinoma sebáceo epiteliomatoso	3 (0,6)
Epitelioma sebáceo e carcinoma sebáceo epiteliomatoso	3 (0,6)
Hiperplasia sebácea e carcinoma sebáceo epiteliomatoso	1 (0,2)
<b>Total</b>	<b>37 (7,7)</b>

Quanto ao seguimento clínico dos casos diagnosticados como CSE, o tempo de evolução das lesões, determinado em 61,8% (34/55) dos casos, variou de um mês a dois anos, com uma média de 6,3 meses. O tempo de evolução dos ES determinado em 78,9% (124/157) dos casos, variou de um mês a quatro anos, com uma média de 8,7 meses. Dos casos de CSE que se obteve informação a respeito da recorrência do tumor após a excisão cirúrgica, 86,1% (31/36) dos animais não apresentaram ressurgimento local da lesão. O seguimento clínico pós-cirúrgico dos casos variou de 30 dias a quatro anos (média de 1,2 anos). Na literatura não foram reportadas ainda informações quanto ao tempo de evolução dos tumores sebáceos em cães.

Nos ES, a recorrência foi vista em 0,8% (1/124) dos casos, 286 dias após a excisão cirúrgica da lesão. Em 13,8% casos (5/36) de CSE, foram observados recorrência local, com o tempo médio de recorrência pós-cirúrgica de 120 dias. E em 60% (3/5) dos casos de CSE que recorreram, as margens cirúrgicas estavam incompletas e a eutanásia foi uma opção em dois desses casos, devido as múltiplas recorrências locais, cinco e seis meses após o diagnóstico. Em um estudo, a recorrência de tumores sebáceos com prevalência de células de reserva sugestivos de CSE foi relatada 74 dias e 337 dias após a excisão cirúrgica da lesão em cães (Sabattini et al., 2017). Outros autores também associaram a incompleta excisão tumoral à recorrência local em cães diagnosticados com ES e CS (Ginn et al., 2007). Apesar disso, assim como observado neste estudo, o curso clínico após a excisão completa dos tumores com prevalência de células basalóides de reserva em cães, foi bem-sucedido em grande parte dos casos (>90%) (Sabattini et al., 2017).

Foi observado que em 40% (2/5) casos de CSE que recorreram localmente, as lesões primárias foram diagnosticadas como ES, sugerindo que possa ocorrer uma progressão maligna do ES para o CSE. Apesar de rara, outros autores relataram a recorrência local e presença de múltiplas metástases pulmonares e do sistema nervoso central, onze e cinco meses respectivamente, após a excisão cirúrgica do ES em cão, sugerindo uma progressão na malignidade (Bettini et al., 2009).

O comprometimento do linfonodo local foi observado em 3,6% (2/36) casos de CSE. Destes, foi realizada a eutanásia de um animal dois meses após o diagnóstico, sendo sugestivo de metástase pulmonar decorrente do CSE cutâneo. Em outro estudo, três cães com tumores sebáceos com prevalência de células basalóides de reserva, vieram à óbito devido a metástases pulmonares, após 503, 193 e 73 dias, respectivamente (Sabattini et al., 2017). De acordo com a literatura, apesar das metástases serem incomuns nos ES, quando ocorrem, acometem principalmente os linfonodos regionais (Scott & Anderson,

1990; Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Além disso, as metástases à distância são raras (Scott & Anderson, 1990; Gross et al., 2005; Bettini et al., 2009). Alguns autores consideram a possibilidade de que tumores com maior grau de malignidade, como o CSE possam estar sendo inadvertidamente incluídos na categoria de ES (Gross et al., 2005).

Nesta pesquisa, o tempo médio de sobrevivência após a excisão cirúrgica dos ES e CSE foi de dois anos, variando de dois meses a cinco anos. A idade avançada dos animais impediu o estudo por um período prolongado na maioria dos casos. Além disso, muitos animais vieram a óbito em decorrência de outras doenças, como insuficiência renal, doença cardíaca, entre outros.

Em função do Ki-67, os 28 tumores previamente classificados como ES e CSE foram posteriormente avaliados na histologia quanto a assimetria, infiltração do estroma, percentual de necrose e IM. No estudo, foi observado que os tumores diagnosticados como CSE eram multilobulares e assimétricos (critério de inclusão) e frequentemente se encontravam ulcerados e os ES eram mais circunscritos e mais simétricos. A necrose foi observada em todas as lesões, independente do grupo. Assim como descrito na literatura, os ES são frequentemente firmes, bem delimitados e circunscritos (Gross et al., 2005; Sabattini et al., 2015).

As invasões vasculares ou linfáticas não foram observadas nos casos classificados como CSE e ES no presente trabalho. Estudos afirmaram que as metástases para o linfonodo regional e à distância são incomuns, independente do grau de malignidade dos tumores sebáceos (Bettini et al., 2009; Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Em contraste, a embolia neoplásica nos vasos sanguíneos ou vasos linfáticos foram detectados em cinco casos (16,7%) de tumores sebáceos caninos com predomínio de células de reserva com alto índice Ki-67 (Sabattini et al., 2015).

No presente estudo, a presença de infiltração do estroma não foi um achado histológico frequente nos tumores diagnosticados como CSE, o que difere de outros trabalhos. De acordo com alguns autores, comparado aos ES, os CSE apresentavam maior tamanho tumoral e invasão periférica (Gross et al., 2005). Em outro estudo em cães, foi verificado que o IM e o índice KI-67 foi significativamente maior nos tumores sebáceos com predomínio de células de reserva com maior invasão periférica (Sabattini et al., 2015). A tendência à infiltração tumoral local no tecido subcutâneo também foi um dos critérios utilizados no diagnóstico de CSE em um cão (Lungonelli et al., 2011). De acordo com Sabattini et al., (2015) a alta atividade proliferativa e invasão periférica devem ser

considerados os parâmetros mais significativos para a diferenciação entre os tumores de glândulas sebáceas benignos e malignos.

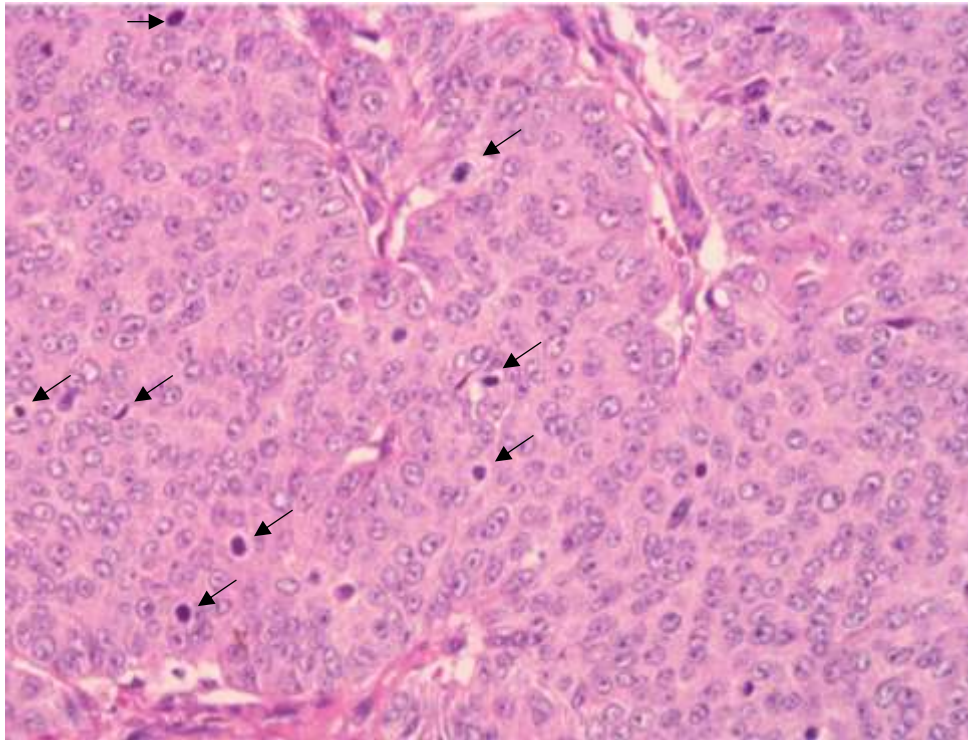
No presente estudo, o IM variou entre 15 a 61 para os CSE, sendo a média 36,86 ( $\pm$  3,54) e entre seis a 27 para os ES, sendo a média 16,50 ( $\pm$  1,47) (Tabela 8). O IM foi maior nos tumores diagnosticados como CSE quando comparado aos ES ( $p < 0,05$ ) (Figura 1). Em outro estudo, em um subconjunto de tumores classificados como ES foi observada alta atividade mitótica (até 10 mitoses por campo de 400x), sugerindo a agressividade de alguns ES e a necessidade de reclassificá-los (Sabattini et al., 2015). A presença de alta atividade mitótica, incluindo mitoses também em sebócitos intermediários foram critérios utilizados no diagnóstico de CSE em um cão (Lungonelli et al., 2011). Entretanto, no atual trabalho, a presença de mitoses em sebócitos maduros ou intermediários não foi observada com frequência nos CSE.

**Tabela 8.** Valores da média  $\pm$  erro-padrão da média das variáveis estudadas de acordo com a variante histológica em cães (n=28).

Variáveis	CSE	ES
Índice Mitótico	36,86 $\pm$ 3,54 <sup>a</sup>	16,50 $\pm$ 1,47 <sup>b</sup>
Necrose (%)	33,21 $\pm$ 3,80 <sup>a</sup>	13,57 $\pm$ 3,53 <sup>b</sup>

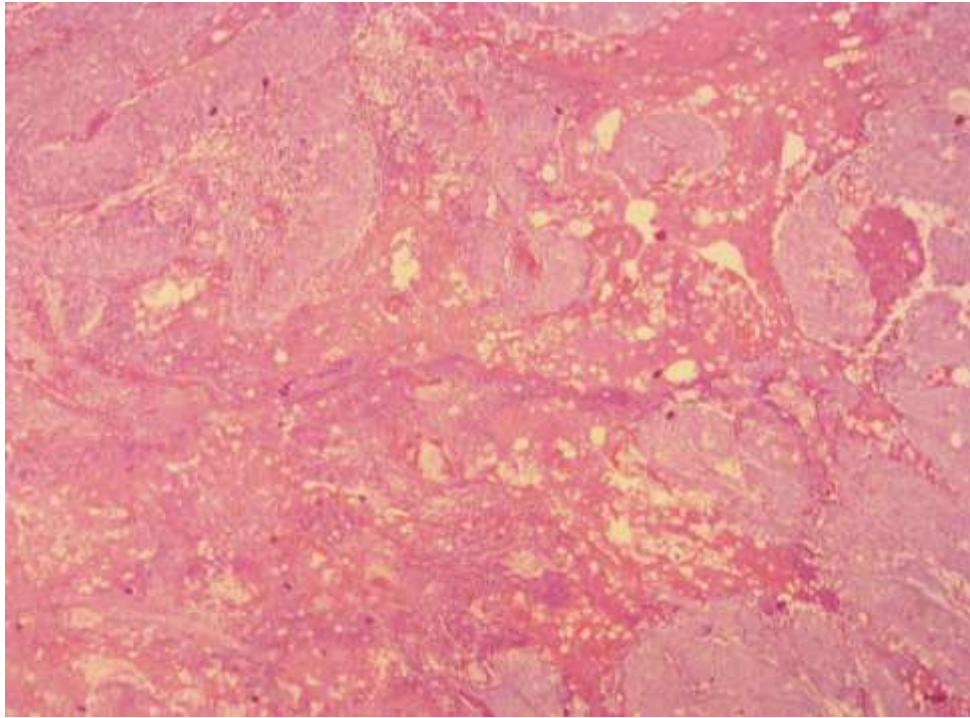
Letras diferentes na mesma linha diferem a  $P < 0,05$ .

**Figura 1.** Carcinoma sebáceo epiteliomatoso em cão. Imagem histológica de lesão com alta atividade mitótica, sendo observado figuras de mitose (seta) (HE, 400x)



Apesar da necrose ser observada nos dois tumores, houve diferença estatística no percentual de necrose entre os ES e CSE ( $p < 0,05$ ) (Tabela 8). Nos tumores diagnosticados como CSE, o percentual de necrose na lesão variou entre 5 e 55%, com a média de 33,21 ( $\pm 3,8$ ). Para os tumores diagnosticados como ES, a necrose variou entre 5 e 45%, sendo a média 13,57 ( $\pm 3,53$ ) (Tabela 8; Figura 2). Além disso, os resultados em relação ao percentual de necrose na lesão apresentaram correlação com o IM ( $p < 0,05$ ) e o tamanho tumoral ( $p < 0,01$ ). A necrose tecidual pode ocorrer devido ao crescimento acelerado do tumor, levando a compressão dos tecidos adjacentes e isquemia (Gross et al., 2005; Goldschmidt & Goldschmidt, 2017). Em um estudo, a necrose comedogênica ou resultante da secreção holócrina, foi observado em 46,7% tumores caninos com predomínio das células basalóides de reserva (Sabattini et al., 2015). Além disso, a presença de necrose foi um indicador de maior malignidade associado ao pior prognóstico nas neoplasias mamárias em cadelas (Ferreira et al., 2003).

**Figura 2.** Carcinoma sebáceo epiteliomatoso em cão. Imagem histológica de lesão com alto percentual de necrose tecidual (HE, 100x)



Em outro estudo, não houve variação significativa no número de mitoses de acordo com tamanho dos tumores com predomínio de células basalóides de reserva (Sabattini et al., 2015). Em contraste, no presente estudo foi observada diferença no tamanho dos tumores diagnosticados como ES e CSE quanto a avaliação macroscópica ( $p < 0,05$ ). Os CSE apresentaram um diâmetro com variação entre 1,3 e 6,5 cm, com a média 2,81 cm ( $\pm 0,35$ ) e os ES entre 0,3 e 1,1 cm, com a média 0,64cm ( $\pm 0,07$ ). Além disso, houve associação significativa no número de mitoses de acordo com o tamanho do tumor ( $p < 0,01$ ). Esse achado vai de encontro com outros autores, que afirmam que os CSE são tumores frequentemente maiores, quando comparado aos ES (Gross et al., 2005).

### 3. CONCLUSÕES

A análise dos resultados permite concluir que os tumores sebáceos são comuns na espécie canina, sendo os benignos os mais frequentemente diagnosticados no estudo. A idade de surgimento das lesões foi predominante entre oito e 13 anos e a região da cabeça foi a mais acometida, independentemente do tipo histológico. Não houve diferença entre o tamanho dos CSE e CS, entretanto, os CSE foram maiores que as HNS, AS e ES, sugerindo uma relação do tamanho do tumor e uma maior malignidade. As raças Cocker Spaniel, Poodle, Shih Tzu, Lhasa Apso e Labrador apresentaram maior chance de desenvolverem os tumores sebáceos. Os tumores sebáceos geralmente se apresentaram como lesões solitárias e a distribuição multicêntrica foi observada principalmente nas HNS.

Este estudo sugere que a assimetria, o percentual de necrose e índice mitótico podem ser consideradas variáveis úteis na diferenciação entre o ES e CSE. Os CSE são frequentemente maiores que os ES.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGIN, I.L., R.C.; SMENDLY, D.G.; ESPLIN, W.L.; SPANGLER, M. KIUPEL. Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. **Vet Pathol**, v.48, n.1, p.41-53, 2011.
- BETTINI, G. et al. CNS and Lung metastasis of sebaceous epiteloma in a dog. **Veterinary Dermatology**, v.20, n.4, p.289-294, 2009.
- CABRAL, E.S.; AUERBACH, A.; KILLIAN, J.K.; BARRETT, T.L.; CASSARINO, D.S. Distinction of benign sebaceous proliferations from sebaceous carcinomas by immunohistochemistry. **Am. J. Dermatopathol.**, v.28, p.465-471, 2006.
- CONCEIÇÃO, L.G.; LOURES, F.H. Sistema tegumentar. SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. In: **Patologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, 856p
- DASGUPTA, T.; WILSON, L.D.; YU, J.B. A retrospective review of 1349 cases of sebaceous carcinoma. **Câncer**, v.115, p.158-165, 2009.
- DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.; RODIGHERI, S.M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C.H. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamento em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.
- FERREIRA, E.; BREGUNCI, C.G.; SCHMITT, F.C.; CASSALI, G.D. Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.105-109, 2003.
- GINN P.E.; MANSELL, J.E.K.L.; RAKICH, P.M. Skin and appendages. In: MAXIE, M.G., **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, v.1, 2007, p.553-781.
- GOLDSCHMIDT, M. H.; DUNSTAN, R.W.; STANNARD, A.A. et al. Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of the skin of domestic animals. **Washington DC: World Health Organization**, v.3, 1998.
- GOLDSCHMIDT, M.H.; GOLDSCHMIDT, K.H. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 5.ed. Iowa: John Wiley & Sons, Cap.4, p.88-141, 2017.

GOLDSCHMIDT, M.H.; HENDRICK, M.J. Tumors of the skin and soft tissues. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 4.ed. Ames: Iowa State, 2002, p.45-117.

GROSS, T.L.; IHRKE, P.J.; WALDER, E.J.; AFFOLTER, V.K. **Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and histopathologic diagnosis**. 2.ed. Blackwell, Oxford, 2005, p.561-865.

HAUCK, M.L. Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D.M.; PAGE, R.L. **Withrow and macewen's Small Animal Clinical Oncology**.5.ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2013, p.305-320.

KREHBIEL, J.D.; LANGHAM, R.F. Eyelid neoplasms of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.36, n.1, p.115–119, 1975.

LAZAR, A.J.F.; MCKEE, P.H. Tumors and related lesions of the sebaceous glands. In: MCKEE, P.H.; CALONJE, E.; GRANTER, S.R. **Pathology of the skin with clinical correlation**. 3.ed. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005, p.1565-1587

LEBLANC, A. Neoplastic and Nonneoplastic Tumors. In: HNILICA, K.A. **Small Animal Dermatology: a color atlas and therapeutic guide**. 3.ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2011, p.428.

MAURYA, R.P.; SINGH, V.P.; SINGH, M.K.; JAIN, P.; KUWANR, A. Recurrent Meibomian gland carcinoma of lower eyelid in male: A case report. **Journal of Clinical and Experimental Ophthalmology**, v.1. n.3, p.181-183, 2015.

MILLER, W.; GRIFFIN, C.; CAMPBELL, K. Neoplastic and Non-Neoplastic Tumors. In: **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. 7.ed. St. Louis: Elsevier, 2013, 948p.

MUKARATIRWA, S.; CHIPUNZA, J.; CHITANGA, S.; CHIMONYO, M.; BHEBHE, E. Canine cutaneous neoplasms: prevalence and influence of age, sex and site on the presence and potential malignancy of cutaneous neoplasms in dogs from Zimbabwe. **South African Veterinary Association**, v.76, n.2, p.59–62, 2005.

MUKARATIRWA, S.; CHIPUNZA, J.; CHITANGA, S.; et al: Canine cutaneous neoplasms: prevalence and influence of age, sex and site on the presence and potential malignancy of cutaneous neoplasms in dogs from Zimbabwe. **J S Afr Vet Assoc**. v.76, p.59–62, 2005.

- NELSON, B.R.; HAMLET, K.R.; GILLARD, M.; RAILAN, D.; JOHNSON, T.M. Sebaceous carcinoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.33, n.1, p.1-15, 1995.
- PISANI, G.; MILLANTA, F.; LORENZI, D.; VANNOZZI, I.; POLI, A. Androgen receptor expression in normal, hyperplastic and neoplastic hepatoid glands in the dogs. **Research in Veterinary Science**, v.81, n.2, p.231-236, 2006.
- ROTHWELL, T.L.; HOWLETT, C.R.; MIDDLETON, D.J.; et al: Skin neoplasms of dogs in Sydney. **Aust Vet J**. v.64, p.161–164, 1987.
- SABATTINI, S.; BASSI, P.; BETTINI, G. Histopathological Findings and Proliferative Activity of Canine Sebaceous Gland Tumours with a Predominant Reserve Cell Population. **Journal of Comparative Pathology**, v.152, n.2-3, p.145–152, 2015.
- SCOTT, D.W.; ANDERSON, W.I. Canine sebaceous gland tumors: a retrospective analysis of 172 cases. **Canine Practice**, v.15, n.1, p.19-27,1990.
- SHALIN, S.C.; SAKHARPE, A.; LYLE, S.; LEV, D.; CALONJE, E.; LAZAR, A.J. The coloration of p53 correlates with the type and location of the tumor in sebaceous neoplasms. **American Journal of Dermatopathology**, v.34, n.2, p.129-35, 2012.
- STRAFUSS, A.C. Sebaceous gland adenomas in dogs. **J Am Vet Med Assoc**. v.169, p.640–642, 1976.
- STRAFUSS, A.C. Skin tumors. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. v.15, p.473–492, 1985.
- TAVARES, E.; ALVES, R.; VIANA, I.; VALE, E. Sebaceous tumours - Anatomoclinical study of three histological types. **Medicina Cutânea Ibero-Latino Americana**, n.40, v.3, p.76-85, 2012.
- VAIL, D.M.; WITHROW, S.J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007, p.167-191.
- WEBSTER, J.D.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; MILLER, R.; KANEENE, J.B.; KIUPEL, M. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: Associations with c-KIT and its role in prognostication. **Vet. Pathol**, v.44, p.298-308, 2007.
- YOON, J.S.; PARK, J. Immunohistochemical characterization of sebaceous epithelioma in two dogs. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v.17, n.2, p. 134-136, 2016.

## ANEXO 1

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pelos tumores sebáceos (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	96 (a)	192 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	386 (c)	5905 (d)	6291
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            7.6490

95 % CI:            5.8639 to 9.9775

z statistic            15.005

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Poodle</b>	80 (a)	349 (b)	429
<b>Não Poodle</b>	402 (c)	5748 (d)	6150
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            3.2776

95 % CI:            2.5192 to 4.2643

z statistic            8.842

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>SRD</b>	52 (a)	1199 (b)	1251
<b>Não SRD</b>	430 (c)	4898 (d)	5328
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            0.4940

95 % CI:            0.3679 to 0.6633

z statistic            4.692

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Ladrador</b>	42 (a)	386 (b)	428
<b>Não Ladrador</b>	440 (c)	5711 (d)	6151
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            1.4123

95 % CI:            1.0124 to 1.9701

z statistic            2.032

Significance level    P = 0.0421

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shih Tzu</b>	29 (a)	161 (b)	190
<b>Não Shih Tzu</b>	453 (c)	5936 (d)	6389
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            2.3603

95 % CI:            1.5715 to 3.5451

z statistic            4.138

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Lhasa Apso</b>	27 (a)	204 (b)	231
<b>Não Lhasa Apso</b>	455 (c)	5893 (d)	6348
<b>Total</b>	482	6097	6579

Odds ratio            1.7142

95 % CI:            1.1347 to 2.5896

z statistic            2.560

Significance level    P = 0.0105

## ANEXO 2

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pela hiperplasia nodular sebácea (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	25 (a)	263 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	151 (c)	6140 (d)	6291
<b>Total</b>	176	6403	6579

Odds ratio            3.8652

95 % CI:            2.4873 to 6.0066

z statistic            6.011

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Poodle</b>	41 (a)	388 (b)	429
<b>Não Poodle</b>	135 (c)	6015 (d)	6150
<b>Total</b>	176	6403	6579

Odds ratio            4.7082

95 % CI:            3.2708 to 6.7773

z statistic            8.336

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shih Tzu</b>	12 (a)	178 (b)	190
<b>Não Shih Tzu</b>	164 (c)	6225 (d)	6389
<b>Total</b>	176	6403	6579

Odds ratio            2.5589

95 % CI:            1.3977 to 4.6850

z statistic            3.045

Significance level    P = 0.0023

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Lhasa Apso</b>	10 (a)	221 (b)	231
<b>Não Lhasa apso</b>	166 (c)	6182 (d)	6348
<b>Total</b>	176	6403	6579

Odds ratio            1.6851

95 % CI:            0.8778 to 3.2349

z statistic            1.568

Significance level    P = 0.1168

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Labrador</b>	7 (a)	421 (b)	428
<b>Não Labrador</b>	169 (c)	5982 (d)	6151
<b>Total</b>	176	6403	6579

Odds ratio            0.5885

95 % CI:            0.2746 to 1.2615

z statistic            1.363

Significance level    P = 0.1730

<b>Adenoma sebáceo</b>			
	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	10 (a)	278 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	75 (c)	6216 (d)	6291
<b>Total</b>	85	6494	6579

Odds ratio            2.9813

95 % CI:            1.5245 to 5.8301

z statistic            3.192

Significance level    P = 0.0014

### ANEXO 3

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pelo adenoma sebáceo (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Poodle</b>	16 (a)	413 (b)	429
<b>Não Poodle</b>	69 (c)	6081 (d)	6150
<b>Total</b>	85	6494	6579

Odds ratio	3.4143
95 % CI:	1.9641 to 5.9350
z statistic	4.353
Significance level	P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shih Tzu</b>	4 (a)	186 (b)	190
<b>Não Shih Tzu</b>	81 (c)	6308 (d)	6389
<b>Total</b>	85	6494	6579

Odds ratio	1.6748
95 % CI:	0.6073 to 4.6187
z statistic	0.996
Significance level	P = 0.3191

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
--	------------	------------	--------------

<b>Labrador</b>	5 (a)	423 (b)	428
<b>Não Labrador</b>	80 (c)	6071 (d)	6151
<b>Total</b>	85	6494	6579

Odds ratio            0.8970

95 % CI:            0.3615 to 2.2260

z statistic            0.234

Significance level    P = 0.8147

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Lhasa Apso</b>	6 (a)	225 (b)	231
<b>Não Lhasa apso</b>	79 (c)	6269 (d)	6348
<b>Total</b>	85	6494	6579

Odds ratio            2.1161

95 % CI:            0.9130 to 4.9046

z statistic            1.748

Significance level    P = 0.0805

#### ANEXO 4

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pelo epiteloma sebáceo (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	44 (a)	244 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	113 (c)	6178 (d)	6291
<b>Total</b>	157	6422	6579

Odds ratio            9.8590

95 % CI:            6.8029 to 14.2881

z statistic            12.088

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Poodle</b>	15 (a)	414 (b)	429
<b>Não Poodle</b>	142 (c)	6008 (d)	6150
<b>Total</b>	157	6422	6579

Odds ratio            1.5330

95 % CI:            0.8921 to 2.6342

z statistic            1.547

Significance level    P = 0.1219

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Labrador</b>	23 (a)	405 (b)	428
<b>Não Labrador</b>	134 (c)	6017 (d)	6151
<b>Total</b>	157	6422	6579

Odds ratio            2.5500

95 % CI:            1.6200 to 4.0140

z statistic            4.044

Significance level    P = 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shihtzu</b>	10 (a)	180 (b)	190
<b>Não Shihtzu</b>	147 (c)	6242 (d)	6151
<b>Total</b>	157	6422	6579

Odds ratio            2.3590

95 % CI:            1.2224 to 4.5527

z statistic            2.559

Significance level    P = 0.0105

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Lhasa Apso</b>	11 (a)	220 (b)	231
<b>Não Lhasa apso</b>	146 (c)	6202 (d)	6348
<b>Total</b>	157	6422	6579

Odds ratio            2.1240

95 % CI:            1.1342 to 3.9776

z statistic            2.353

Significance level    P = 0.0186

## ANEXO 5

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pelo carcinoma sebáceo epiteliomatoso (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shihtzu</b>	1 (a)	189 (b)	190
<b>Não Shihtzu</b>	53 (c)	6336 (d)	6151
<b>Total</b>	54	6525	6579

Odds ratio            0.6208

95 % CI:            0.0854 to 4.5115

z statistic            0.471

Significance level    P = 0.6376

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	16 (a)	272 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	38 (c)	6253 (d)	6291
<b>Total</b>	54	6525	6579

Odds ratio            9.6796

95 % CI:            5.3303 to 17.5775

z statistic            7.458

Significance level    P < 0.0001

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Poodle</b>	8 (a)	421 (b)	429
<b>Não Poodle</b>	46 (c)	6104 (d)	6150
<b>Total</b>	54	6525	6579

Odds ratio            2.1240

95 % CI:            1.1342 to 3.9776

z statistic            2.353

Significance level    P = 0.0186

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Labrador</b>	7 (a)	421 (b)	428
<b>Não Labrador</b>	47 (c)	6104 (d)	6151
<b>Total</b>	54	6525	6579

Odds ratio            2.1594

95 % CI:            0.9701 to 4.8067

z statistic            1.886

Significance level    P = 0.0593

## ANEXO 6

Análise do risco relativo entre as raças mais acometidas pelo carcinoma sebáceo (n=6579).

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Schnauzer</b>	1 (a)	179 (b)	180
<b>Não Schnauzer</b>	7 (c)	6392 (d)	6190
<b>Total</b>	8	6571	6579

Odds ratio            5.1014

95 % CI:            0.6243 to 41.6830

z statistic            1.520

Significance level    P = 0.1284

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Pug</b>	1 (a)	234 (b)	235
<b>Não Pug</b>	7 (c)	6337 (d)	6190
<b>Total</b>	8	6571	6579

Odds ratio            3.8687

95 % CI:            0.4740 to 31.5734

z statistic            1.263

Significance level    P = 0.2066

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Pastor Alemão</b>	1 (a)	388 (b)	389
<b>Não Pastor Alemão</b>	7 (c)	6183 (d)	6190
<b>Total</b>	8	6571	6579

Odds ratio            2.2765

95 % CI:            0.2794 to 18.5502

z statistic            0.769

Significance level    P = 0.4421

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Coton</b>	1 (a)	97 (b)	98
<b>Não Coton</b>	7 (c)	6474 (d)	6151
<b>Total</b>	8	6571	6579

Odds ratio            9.5346

95 % CI:            1.1619 to 78.2436

z statistic            2.100

Significance level    P = 0.0358

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Shihtzu</b>	2 (a)	188 (b)	190
<b>Não Shihtzu</b>	6 (c)	6383 (d)	6151
<b>Total</b>	8	6571	6579

Odds ratio            8.4880

95 % CI:            1.7903 to 40.2434

z statistic            2.693

Significance level    P = 0.0071

	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>Total</b>
<b>Cocker Spaniel</b>	1 (a)	287 (b)	288
<b>Não Cocker Spaniel</b>	7 (c)	6284 (d)	6291
<b>Total</b>	8	6525	6579

Odds ratio            3.1279

95 % CI:            0.3835 to 25.5091

z statistic            1.065

Significance level    P = 0.2869

## ANEXO 7

Análise do número de cães acometidos por tumores sebáceos histologicamente distintos na mesma lesão (n=482).

### Chi-square

**Data source:** Data 1 in TUMORES SEBACEOS

Subjects	Hiperplasia	Adenoma	Epitelioma	C.S.E.	Carcinoma	
SIM	8,000	19,000	7,000	1,000	0,000	Counts
	12,853	6,172	11,400	3,994	0,581	Expected Counts
	22,857	54,286	20,000	2,857	0,000	Row %
	4,520	22,353	4,459	1,818	0,000	Column %
	1,660	3,942	1,452	0,207	0,000	Total %
NÃO	169,000	66,000	150,000	54,000	8,000	Counts
	164,147	78,828	145,600	51,006	7,419	Expected Counts
	37,808	14,765	33,557	12,081	1,790	Row %
	95,480	77,647	95,541	98,182	100,000	Column %
	35,062	13,693	31,120	11,203	1,660	Total %

Chi-square= 35,601 with 4 degrees of freedom. (P = <0,001)

The proportions of observations in different columns of the contingency table vary from row to row. The two characteristics that define the contingency table are significantly related. (P = <0,001)

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

## ANEXO 8

Análise do número de cães acometidos por múltiplos tumores sebáceos, histologicamente iguais (n=482).

### Chi-square

**Data source:** Data 1 in TUMORES SEBACEOS

Subjects	Hiperplasia	Adenoma	Epitelioma	C.S.E.	Carcinoma	
SIM	40,000	6,000	11,000	1,000	0,000	Counts
	21,299	10,228	18,892	6,618	0,963	Expected Counts
	68,966	10,345	18,966	1,724	0,000	Row %
	22,599	7,059	7,006	1,818	0,000	Column %
	8,299	1,245	2,282	0,207	0,000	Total %
NÃO	137,000	79,000	146,000	54,000	8,000	Counts
	155,701	74,772	138,108	48,382	7,037	Expected Counts
	32,311	18,632	34,434	12,736	1,887	Row %
	77,401	92,941	92,994	98,182	100,000	Column %
	28,423	16,390	30,290	11,203	1,660	Total %

Chi-square= 30,918 with 4 degrees of freedom. (P = <0,001)

The proportions of observations in different columns of the contingency table vary from row to row. The two characteristics that define the contingency table are significantly related. (P = <0,001)

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,999

## ANEXO 9

Análise do tamanho (diâmetro-cm) dos diferentes tipos de tumores sebáceos nos cães (n=311).

### One Way Analysis of Variance

Dependent Variable: Tamanho

**Normality Test:** Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

**Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks** sexta-feira, janeiro 11, 2019, 09:25:14

**Data source:** Data 1 in Estatística Lissandro

Dependent Variable: Tamanho

<b>Group</b>	<b>N</b>	<b>Missing</b>	<b>Median</b>	<b>25%</b>	<b>75%</b>
Hiperplasia	177	81	0,500	0,300	0,700
Adenoma	85	21	0,500	0,350	0,700
Epitelioma	157	62	0,600	0,500	1,000
C.S.E.	55	23	2,500	1,500	4,000
Carcinoma	8	2	1,250	1,000	2,000

H = 82,302 with 4 degrees of freedom. (P = <0,001)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Dunn's Method) :

<b>Comparison</b>	<b>Diff of Ranks</b>	<b>Q</b>	<b>P&lt;0,05</b>
C.S.E. vs Hiperplasia	142,427	8,235	Yes
C.S.E. vs Adenoma	138,508	7,551	Yes

C.S.E. vs Epitelioma	111,709	6,451	Yes
C.S.E. vs Carcinoma	24,474	0,649	No
Carcinoma vs Hiperplasia	117,953	3,308	Yes
Carcinoma vs Adenoma	114,034	3,152	Yes
Carcinoma vs Epitelioma	87,235	2,446	No
Epitelioma vs Hiperplasia	30,718	2,505	No
Epitelioma vs Adenoma	26,799	1,956	Do Not Test
Adenoma vs Hiperplasia	3,919	0,287	Do Not Test

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

## ANEXO 10

Análise dos diferentes tipos de tumores sebáceos nos cães de acordo com o sexo (n=482).

### Chi-square

Subjects	Hiperplasia	Adenoma	Epitelioma	C.S.E.	Carcinoma	
Fêmea	99,000	42,000	78,000	21,000	4,000	Counts
	89,602	43,029	79,477	27,842	4,050	Expected Counts
	40,574	17,213	31,967	8,607	1,639	Row %
	55,932	49,412	49,682	38,182	50,000	Column %
	20,539	8,714	16,183	4,357	0,830	Total %

Macho	78,000	43,000	79,000	34,000	4,000	Counts
	87,398	41,971	77,523	27,158	3,950	Expected Counts
	32,773	18,067	33,193	14,286	1,681	Row %
	44,068	50,588	50,318	61,818	50,000	Column %
	16,183	8,921	16,390	7,054	0,830	Total %

Chi-square= 5,509 with 4 degrees of freedom. (P = 0,239)

The proportions of observations in different columns of the contingency table do not vary from row to row. The two characteristics that define the contingency table are not significantly related. (P = 0,239)

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,423

## ANEXO 11

Análise dos diferentes tipos de tumores sebáceos nos cães de acordo com a faixa etária (n=482).

### Chi-square

Subjects	Hiperplasia	Adenoma	Epitelioma	C.S.E.	Carcinoma	
< 7 anos	32,000	12,000	6,000	0,000	0,000	Counts
	18,365	8,811	16,242	5,732	0,849	Expected Counts
	64,000	24,000	12,000	0,000	0,000	Row %
	18,497	14,458	3,922	0,000	0,000	Column %
	6,794	2,548	1,274	0,000	0,000	Total %
8 - 14 anos	122,000	60,000	114,000	41,000	8,000	Counts
	126,720	60,796	112,070	39,554	5,860	Expected Counts
	35,362	17,391	33,043	11,884	2,319	Row %
	70,520	72,289	74,510	75,926	100,000	Column %
	25,902	12,739	24,204	8,705	1,699	Total %
> 14 anos	19,000	11,000	33,000	13,000	0,000	Counts
	27,915	13,393	24,688	8,713	1,291	Expected Counts
	25,000	14,474	43,421	17,105	0,000	Row %
	10,983	13,253	21,569	24,074	0,000	Column %
	4,034	2,335	7,006	2,760	0,000	Total %

Chi-square= 34,844 with 8 degrees of freedom. (P = <0,001)

The proportions of observations in different columns of the contingency table vary from row to row. The two characteristics that define the contingency table are significantly related. (P = <0,001)

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,998

## ANEXO 12

A análise de regressão logística foi realizada para verificar o efeito da porcentagem do KI67 sobre a probabilidade de o tumor ser um CSE ou ES.

Tabela. Análise de máxima verossimilhança.

Parâmetro	GL	Estimativa	Erro-padrão	Wald Chi-Square	Pr > ChiSq
Intercepto	1	-3.9863	1.7056	5.4626	0.0194
KI67 (%) *	1	19.5527	8.1194	5.7992	0.0160

GL, graus de liberdade; \* porcentagem de KI67 em decimais.

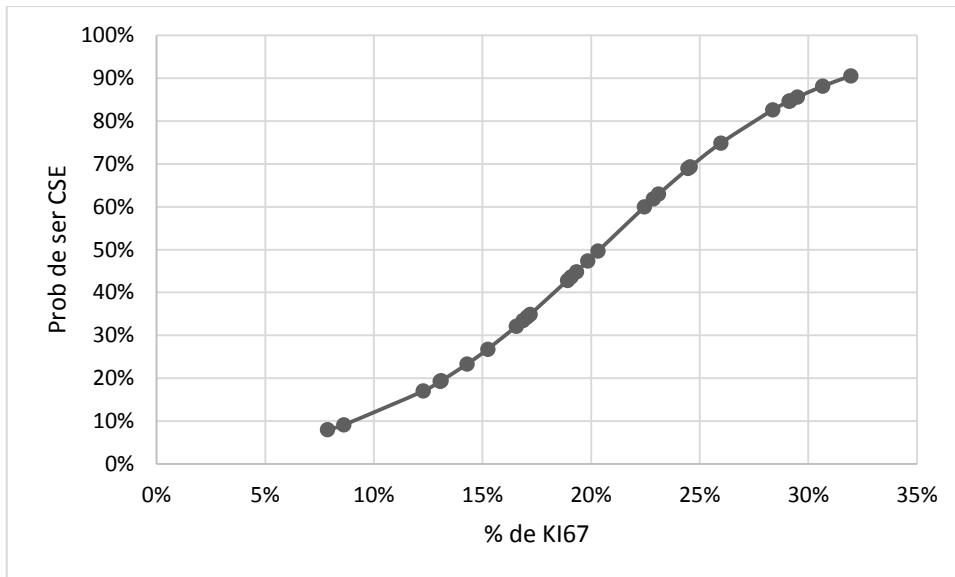
A equação é a seguinte:

Probabilidade de ser CSE:

$$P_{CSE} = \frac{e^{(-3.9863+19.5527 \times KI67p)}}{1 + e^{(-3.9863+19.5527 \times KI67p)}}$$

Probabilidade de ser ES:

$$P_{ES} = 1 - P_{CSE}$$



A partir do gráfico e da equação podemos afirmar que, quando a porcentagem de KI67 atinge 20.39%, a probabilidade de o tumor ser um CSE é de 50%.