

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina / Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Patologia

Evelyn Ane Oliveira

**CARCINOMA LOBULAR PLEOMÓRFICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM
HUMANOS E CANINOS: abordagem clínico-patológica e imunofenotífica**

Belo Horizonte
2022

Evelyn Ane Oliveira

**CARCINOMA LOBULAR PLEOMÓRFICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM
HUMANOS E CANINOS: abordagem clínico-patológica e imunofenotípica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Patologia Investigativa
Orientador: Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

Belo Horizonte
2022

043

Oliveira, Evelyn Ane.

Carcinoma lobular pleomórfico da glândula mamária em humanos e caninos: abordagem clínico-patológica e imunofenotípica [manuscrito] / Evelyn Ane Oliveira. – 2022.

43 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. Neoplasias da Mama. 3. Imuno-Histoquímica. I. Cassali, Geovanni Dantas. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 447 DE EVELYN ANE OLIVEIRA

Realizou-se, no dia 08 de julho de 2022, às 14 horas, no formato híbrido, CAD-1, sala 413/UFMG, a defesa de Dissertação, intitulada *"Carcinoma Lobular Pleomórfico da Glândula Mamária em Humanas e Caninas: Abordagem Clínica-Patológica E Imunofenotípica"*, apresentada por Evelyn Ane Oliveira, número de registro 2020673511, graduada no curso de Medicina Veterinária, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: *Profª. Débora Balabram* – Faculdade de Medicina/UFMG; *Profª. Alessandra Estrela Lima*, UFBA/BA; *Dra. Cecília Bonolo de Campos* - Mayo Clinic, Mayo Clinic Arizona, EUA e *Prof. Geovanni Dantas Cassali* – ICB/UFMG – ORIENTADOR.

A Comissão considerou a Dissertação:

(X) Aprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 08 de julho de 2022.

* De acordo com as Normas Gerais de Pós-Graduação da UFMG o grau de Mestre só será concedido ao aluno que entregar ao Colegiado do Curso, no prazo máximo de 60 dias, a versão final da Dissertação, em conformidade com as indicações da Comissão Examinadora. Após a entrega da versão final com a documentação exigida para emissão de Diploma, a secretaria emitirá Certificado de Conclusão do Mestrado.



Documento assinado eletronicamente por Geovanni Dantas Cassali, Professor do Magistério Superior, em 22/08/2022, às 11:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Debora Balabram, Professora do Magistério Superior, em 22/08/2022, às 14:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Cecília Bonolo de Campos, Usuária Externa, em 24/08/2022, às 19:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Alessandra Estrela da Silva Lima, Usuário Externo, em 25/08/2022, às 14:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1693736 e o código CRC 8B88F32.

*Dedico a todas as pessoas que me auxiliaram
no processo de realização
deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Novamente agradeço e dedico a quem me oportunizou esta vivência terrena, para que eu possa cumprir todos os meus desejos de alma através dos aprendizados obtidos. A essa energia divina e criadora obrigada pela confiança e cuidado ao me permitir trilhar esta pequena jornada, acredito que sem ela não teria hoje ao que ser grata. Obrigada por me presentear com cada um dos seres que mencionarei neste documento em forma de agradecimento.

Agradeço aos meus pais, Amélia e Arnaldo que sempre estiveram comigo, mesmo distante, cuidando da melhor forma que puderam, vocês foram e são meus primeiros mestres, meus guias e minha maior fonte de inspiração para tudo que eu sou e busco ser.

As minhas irmãs Pâmela e Emily, obrigada por toda força e amor que vocês emanam e por toda palavra de incentivo nos poucos momentos que conseguimos conversar. A minha sobrinha Lara, que ainda nem nasceu e me enche de felicidade e amor, obrigada por chegar agora nas nossas vidas. Amo muito vocês.

Agradeço a minha namorada, Amanda, por todo apoio, companheirismo e incentivo, eu não tenho como descrever o quanto eu sou grata por ter você na minha vida. Obrigada por tudo que és, por ter dedicado tempo, amor e carinho nos momentos que nem eu sabia que era tão preciso.

Agradeço imensamente a minhas amigas de casa, Milena por ter sido apoio em diversos momentos, sempre com palavras amigas e um abraço reconfortante e Thaynan que foi mais que uma amiga de casa e laboratório, se tornou uma irmã de vida, com quem eu pude ter inúmeros aprendizados e que hoje tenho além de admiração muito carinho, obrigada por toda ajuda e por espalhar luz por onde tu passas. Espero poder ver as duas alcançando os desejos mais honrosos do coração de vocês, vou estar sempre aqui vibrando e aplaudindo as conquistas das duas.

Aos amigos que pude ter o prazer de conhecer e fazer família em Belo Horizonte, Fernanda, obrigada por ser uma inspiração como patologista veterinária e pesquisadora, pelos mais diversos ensinamentos, pelas risadas e principalmente pelo compartilhamento de tempo e carinho, obrigada pela sua amizade. Ao Jorge, por me permitir ter aprendizados mais diversos dentro e fora da patologia, e pelo amigo querido que és.

Aos meus colegas de bancada do Laboratório de Patologia Comparada (LPC), a Barbara dos Santos, que admiro como profissional e pesquisadora e que foi essencial para a execução deste trabalho e para o meu aprendizado.

A Karen e os outros profissionais incríveis que formam o laboratório Celulavet, admiro e sou muito grata por poder aprender tanto com cada uma.

Ao meu orientador, Professor Geovanni Dantas Cassali, por ter sido essencial na minha formação, por partilhar conhecimentos de vida e de patologia. É sempre um privilégio aprender com o professor. Obrigada pela amizade, pela paciência e prazer ao ensinar e por ter me auxiliado em diversos processos dentro e fora da vivência acadêmica.

A professora Cristiana Buzelin Nunes, que nos auxiliou muito na realização desse trabalho, com conhecimento, laboratório, materiais e disponibilidade em ensinar.

E aos demais que porventura não citei neste documento, mas que foram tão essenciais para este momento, meus mais sinceros agradecimentos.

•

**<Não podes caminhar no caminho enquanto
não te tornares tu próprio, esse caminho.=**

Helena P. Blavatsky - A voz do silêncio

**Este trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia Comparada (LPC) –
ICB/UFMG, em colaboração com o Laboratório de Patologia Mamária (LPM) -
Faculdade de Medicina/UFMG, com apoio das empresas de fomento CNPq e CAPES.**

RESUMO

O câncer de mama é uma doença que afeta mulheres em todo mundo, sendo a principal causa de óbito por câncer em mulheres no Brasil e em cadelas é a neoplasia mais frequente. Os carcinomas lobulares invasivos são o segundo tipo de carcinoma mais frequente na mulher, sendo que os carcinomas lobulares pleomórficos representam 1% da sua casuística. Nas cadelas, foi descrito a primeira vez em 2002, apresentando similaridades morfológicas e imunofenóticas com o CLP humano. Dada as similaridades desta neoplasia nas cadelas com as descritas em mulheres, se torna importante a sua caracterização para melhor conhecimento do seu comportamento, buscando viabilizar a utilização das cadelas como modelo comparativo. Para tal foram analisadas 26 amostras caninas e 26 amostras humanas, para análise dos dados clínicos patológicos, análise histopatológica em conjunto de análises de imunohistoquímica para marcadores de HER2, RE, RP, E-caderina e Ki-67. A idade média encontrada nos caninos foi de 9 anos, enquanto mulheres apresentaram idade média de 56 anos, o tamanho T2 foi o mais frequente em ambas as espécies e em caninos e mulheres o grau histológico mais frequente foi o grau II. Todos os CLP caninos apresentaram positividade para RP, sendo que 96,1% foram negativos para RE e todos os casos apresentaram negatividade para HER-2 e E-caderina. As mulheres apresentaram positividade para RE em todos os casos e sua maioria se apresentou positivo para RP e negativos para HER-2. O subtipo Luminal B na cadela foi o subtipo molecular mais frequente, e na mulher o subtipo Luminal A e Luminal B obtiveram a mesma frequência.

Palavras-chave: imuno-histoquímica; mama; imunofenótipo; câncer

ABSTRACT

Mammary cancer is a disease that affects women worldwide, being the main cause of death in women in Brazil and in female dogs it is the most frequent neoplasm. Invasive lobular carcinoma are the second most common type of carcinoma in women, with pleomorphic lobular carcinomas representing 1% of the sample. In bitches, it was first described in 2002, showing morphological and immunophenotypic similarities with human CLP. Given the similarities of this neoplasm in female dogs with those described in women, its characterization is important for a better understanding of its behavior, seeking to enable the use of female dogs as a comparative model. For this purpose, 26 canine samples and 26 human samples were analyzed for clinical pathological data, and histopathological analysis together with immunohistochemical analyzes for HER2, RE, RP, E-cadherin and Ki-67 markers. The mean age found in canines was 9 years, while women had a mean age of 56 years, size T2 was the most frequent in both species, and in canines and women the most frequent histological grade was grade II. All canine CLPs were positive for RP and 96.1% were negative for RE and all cases were negative for HER-2 and E-cadherin. Women were positive for ER in all cases and 96.1% were positive for RP and 92.3% were negative for HER-2. The Luminal B subtype in canine was the most frequent molecular subtype, and in humans, the Luminal A and Luminal B subtypes had the same frequency.

.

Keywords: immunohistochemistry; breast; immunophenotype; cancer

LISTA DE ABREVIATURAS

CLI – carcinoma lobular invasor

CLP – carcinoma lobular pleomórfico

HER-2 -receptor de crescimento epidérmico humano 2

H&E - hematoxilina e eosina

ICB - Instituto de Ciências Biológicas

INCA - Instituto Nacional do Câncer

M - metástase à distância

N - metástase regional

OMS - Organização Mundial da Saúde

RE - receptor de estrógeno

RP - receptor de progesterona

T - tamanho tumoral

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Câncer de mama.....	15
2.2 Carcinoma Lobular Pleomórfico.....	15
2.2.1 Características clínico patológicas e histopatológicas dos Carcinomas Lobulares Pleomórficos	17
2.2.2 Marcadores prognósticos e preditivos nos Carcinomas Lobulares Pleomórficos.....	18
2.2.2.1 Marcadores Hormonais	18
2.2.2.2 HER-2	18
2.2.2.3 Proliferação Celular	18
2.2.2.4 E-caderina	19
2.2.3 Subtipos Moleculares	19
3. JUSTIFICATIVA	20
4. HIPÓTESE	20
5. OBJETIVOS.....	20
5.1 Objetivo geral	20
5.2 Objetivos específicos.....	20
6. MATERIAL E MÉTODOS	21
7 RESULTADOS	25
8 DISCUSSÃO.....	30
9 CONCLUSÕES.....	32
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	32
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
12. ANEXOS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A neoplasia mamária é o tipo mais frequente em cadelas. Em mulheres, apresenta alta incidência em todo o mundo, sendo a principal causa de óbito por câncer nessa população (CECILIO *et al.*, 2015; DESANTIS *et al.*, 2015; INCA, 2019). Dadas as similaridades encontradas entre as espécies nos diversos tipos de câncer de mama, no que diz respeito aos aspectos epidemiológicos, clínicos, biológicos e moleculares, o estudo das neoplasias em caninos possibilita a utilização da cadela como modelo de estudo espontâneo para as neoplasias mamárias em mulheres (GAMBA *et al.*, 2017; Timmermans-Sprang *et al.*, 2017; NUNES *et al.*, 2019).

Os carcinomas lobulares invasivos (CLI) representam cerca de 5% a 15% dos diagnósticos, sendo o segundo mais diagnosticado dentre os carcinomas mamários em mulheres. O subtipo pleomórfico é uma das quatro variantes dos CLI, sendo os tipos clássico, sólido e alveolar as demais. Dentre eles, os CLP representam cerca de 1% a 2% dos diagnósticos, sendo considerado o tipo lobular que possui prognóstico mais reservado e menor sobrevida quando comparado aos demais (COSTARELLI *et al.*, 2017; HAQUE *et al.*, 2019; SEGAR *et al.*, 2020). O carcinoma lobular pleomórfico (CLP) apresenta características de maior agressividade em comparação aos demais subtipos de CLI. Em cães, os CLP espontâneos têm sido descritos na glândula mamária apresentando semelhanças citológicas, histopatológicas, imuno-histoquímicas e de comportamento biológico com os CLP humanos (CASSALI *et al.*, 2002).

Nas mulheres e nas cadelas, o CLP apresenta na histopatologia um padrão de crescimento semelhante ao CLI tipo clássico, em que as células se organizam em fileiras únicas, tipo "fila indiana", sem coesão, compostas por até duas camadas celulares (CASSALI *et al.*, 2002; HICKS & LESTER, 2016), sendo caracterizado morfollogicamente pelo acentuado pleomorfismo nuclear, por vezes semelhantes a células plasmocitoides, histiocitóides ou apócrinas (CASSALI *et al.*, 2002; RAHKA *et al.*, 2012). Estudos em humanos apontam que o CLP apresenta pior sobrevida quando comparado ao CLI do tipo clássico e ao carcinoma ductal invasor, não somente pelas características histopatológicas, mas também pela associação com o tamanho tumoral, presença de metástase e subtipo molecular, resultando em um pior desfecho para as pacientes (FROLIK *et al.*, 2001; SETOGUCHI *et al.*, 2001; VARGAS *et al.*, 2009; COSTARELLI *et al.*, 2017). As características moleculares desta neoplasia incluem a perda da expressão de E-caderina e expressão positiva ou negativa de receptores hormonais, como

estrogênio e progesterona (RE e RP). Há também relatos de amplificação de HER-2 em alguns casos (COSTARELLI *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2018; HAQUE *et al.*, 2019).

.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer de mama

O câncer de mama é o tipo de câncer mais incidente em mulheres no Brasil e no mundo, para o ano de 2022 foi estimado 66.280 novos casos desta neoplasia no Brasil, sendo a principal causa de óbito por câncer nessa população (DESANTIS *et al.*, 2015; INCA, 2019). Nas cadelas, o câncer de mama é a neoplasia mais frequentemente diagnosticada e, no Brasil, cerca de 70 a 80% dessas neoplasias são malignas (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2010; NUNES *et al.*, 2019)

As transformações neoplásicas são multifatoriais, porém em cadelas e em mulheres, a influência hormonal apresenta extrema relevância. Nas cadelas, sabe-se que fêmeas não castradas possuem maior risco de apresentar neoplasias mamárias, principalmente em animais de pequeno porte e com sobrepeso (GEDON *et al.*, 2022; TESI *et al.*, 2020; NUNES *et al.*, 2018). Em mulheres, o histórico reprodutivo relacionada a estímulos estrogênicos endógenos e exógenos são relatados como fatores para o desenvolvimento de neoplasias mamárias, como, por exemplo, o uso de contraceptivo, menopausa tardia e terapias de reposição hormonal pós menopausa. Além disso, há aumento do risco a depender do tempo de exposição a esses fatores (SILVA & SILVA., 2005; IZADI *et al.*, 2014).

Ferramentas para determinação do prognóstico são amplamente utilizadas nas espécies humana e canina (GRAY *et al.*, 2020; MODAL *et al.*, 2022). O sistema TNM de estadiamento clínico para carcinomas mamários em ambas as espécies, foi adaptado para cadelas apenas no que diz respeito ao tamanho tumoral onde, tumores que apresentam tamanho 0-2 cm, em mulheres, e 0-3 cm, em cadelas, são considerados T1, tumores de 2-5 cm, em mulheres, e de 3-5 cm, em cadelas, são considerados T2, e os >5 cm, em ambas as espécies, são considerados T3. Na espécie humana quando há invasão de musculatura intercostal e/ou pele são classificados como T4, o envolvimento de linfonodos regionais (N0: sem metástase; N1: com metástase) e metástase à distância (M0: sem metástase; M1: com metástase), permitindo a categorização em quatro estádios (I, II, III, IV) (TNM, 1998; CAVALCANTI *et al.*, 2006; AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER, 2017; OWEN, 1980).

A classificação histológica dos tumores é necessária em ambas as espécies, auxiliando patologistas humanos e veterinários na reprodutibilidade do diagnóstico e prognóstico, e tanto para as neoplasias humanas como caninas, existem sistemas de classificação histológica que visam empregar critérios de auxílio diagnóstico (GOLDHIRSCH *et al.*, 2005; CASSALI *et al.*, 2020).

Visando o entendimento do prognóstico dos tumores mamários, um sistema de graduação histológica tem sido utilizado para determinar o grau de diferenciação celular dos carcinomas mamários. Este sistema baseia-se em três parâmetros: formação tubular, pleomorfismo nuclear e índice mitótico. O grau histológico é determinado pela soma das pontuações, classificadas como grau I (3-5 pontos), grau II (6-7 pontos) e grau III (8-9 pontos) (ELSTON & ELLIS, 1991). Estudos em ambas as espécies demonstram correlação entre a graduação e a sobrevida dos pacientes (CASSALI *et al.*, 2020; RUHNK & VALEJO, 2021).

Marcadores moleculares também são utilizados para determinar fatores prognósticos e preditivos em cadelas e mulheres. Receptores hormonais (estrogênio e progesterona), HER-2, KI67 e, para os tumores lobulares em mulheres, a E-caderina. Os marcadores RE e RP são diretamente relacionados com o grau de diferenciação no câncer de mama em mulheres, e em cadelas, neoplasias malignas demonstram baixa expressão desses marcadores quando comparadas a tumores benignos (MCCARTY *et al.*, 1980; MILLIS *et al.*, 1980; LAS MULAS *et al.*, 2005). Como os marcadores hormonais, a superexpressão de HER-2, membro da família de receptores de crescimento epidermal, é associado a um pior prognóstico em neoplasias mamárias malignas, e assim como em mulheres, em cadelas tem sido associado a prognóstico desfavorável, relacionando-se com indicadores como maior tamanho tumoral, alto grau histológico, invasão e negatividade para marcadores hormonais (TSUTSUI *et al.*, 2002; LAS MULAS *et al.*, 2003; DUTRA *et al.*, 2004; GAMA *et al.*, 2009; BERTAGNOLLI *et al.*, 2011).

As neoplasias mamárias em cadelas e mulheres compartilham características epidemiológicas, clínicas, biológicas e genéticas, o que corrobora a utilização da cadela como um modelo comparativo espontâneo do câncer de mama (CASSALI *et al.*, 2002; MISDORP *et al.*, 2001; UVA *et al.*, 2009; RIVERA & VON EULER, 2011; MARKKANEN *et al.*, 2019). Lesões pré-neoplásicas e malignas bem caracterizadas na mama da mulher foram descritas em cadelas, incluindo o carcinoma lobular pleomórfico (CASSALI *et al.*, 2002, SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016).

2.2 Carcinoma Lobular Pleomórfico

Nas mulheres os carcinomas mamários invasivos são descritos histologicamente como carcinomas ductais invasores (CDI) e os CLI e outros tipos especiais. O CLI é o segundo tipo

mais frequente de neoplasia mamária na mulher, representando 5 a 15% dos casos (RAHKA *et al.*, 2012). O CLI foi descrito pela primeira vez por Dixon e colaboradores (1982) e posteriormente subdividido de acordo com a arquitetura histológica em CLI clássico, sólido, alveolar e pleomórfico por Page e colaboradores (1987). Entretanto, para a variação pleomórfica considera-se a morfologia nuclear podendo subdividir-se em anel de sinete, histiocitóide ou apócrino (SINN *et al.*, 2013). Em medicina veterinária o CLP foi descrito pela primeira vez em 2002 por Cassali e colaboradores, onde similaridades morfológicas e moleculares foram encontradas com o CLP descrito na espécie humana. Em ambas as espécies, o CLP pelo comportamento biológico agressivo, sendo associados com pior prognóstico (TANIGUCHI *et al.*, 2020; SALGADO *et al.*, 2012).

2.2.1 Características clínico patológicas e histopatológicas dos Carcinomas Lobulares Pleomórficos

Os CLP apresentam baixa incidência nas mulheres, representando cerca de 1-2% dos CLI. A idade diagnóstica para o CLP pode variar entre 38 e 52 anos, não sendo comum o diagnóstico de mulheres abaixo dos 30 anos (JUNG *et al.*, 2012; AL-BAIMANI *et al.*, 2015). Estudos que apresentem características clínicas-patológicas em cadelas são escassos, estando disponíveis apenas relatos de caso (CASSALI *et al.*, 2002, SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016).

Nas mulheres, o CLP exibe na histopatologia um padrão de crescimento semelhante ao CLI clássico, que consiste em fileiras únicas, tipo <fila indiana=, de células descoesas, compostas por até duas camadas celulares (RAHKA *et al.*, 2012; HICKS & LESTER 2016), sendo caracterizado morfológicamente pelo acentuado pleomorfismo nuclear, podendo assemelhar-se a células plasmocitóides, histiocitóides ou apócrinas, hipercromasia aumentada, nucléolos proeminentes, alta atividade mitótica e citoplasma abundante eosinofílico e levemente granular (RAHKA *et al.*, 2012).

Nas cadelas vem sendo descrito com características citomorfológicas semelhantes ao que identificados na mulher, tais como células dispersas no estroma de forma atípica, núcleos excêntricos e citoplasma por vezes abundante e alta atividade mitótica (CASSALI *et al.*, 2002, SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016).

2.2.2 Marcadores prognósticos e preditivos nos Carcinomas Lobulares Pleomórficos

2.2.2.1 Marcadores Hormonais

A expressão de receptores hormonais (estrógeno e progesterona) é amplamente utilizada na medicina humana. O estrógeno está intimamente ligado à proliferação de células epiteliais durante o ciclo menstrual de mulheres e indiretamente está associado ao processo de morte dessas células. Por estarem presentes em processos normais da mama são relacionados ao grau de diferenciação histológica dos tumores mamários humanos e caninos (MCCARTY *et al.*, 1980; MILLIS *et al.*, 1980; LAS MULAS *et al.*, 2005). Quanto a sua expressão no CLP humano, a literatura se apresenta de forma ambígua quando a expressão destes marcadores, sendo relatados casos positivos e negativos para ambos os receptores. Em mulheres a positividade para estes marcadores prevê resposta a algumas medicações, e apresentam valor prognóstico e preditivo na espécie. Já em cadelas, os marcadores hormonais foram descritos como positivos nos CLPs (CASSALI 2002, SALGADO 2012, D'ASSIS 2016, XU *et al.*, 2018; ADEDAYO *et al.*, 2019).

2.2.2.2 HER-2

A glicoproteína HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) está relacionada ao crescimento celular. É considerada como um fator prognóstico e preditivo nas neoplasias mamárias, sendo expressa em cerca de 15% dos tumores mamários da espécie humana, conferindo a estes piores prognósticos (BERTAGNOLLI *et al.*, 2011). A expressão deste marcador está relacionada a uma maior agressividade dos tumores, altas taxas de recidiva e maiores chances de metástases regionais (ARNES *et al.*, 2008, BAUER, 2007). Estudos relatam superexpressão para este marcador em alguns casos de CLP humanos, como também pode se apresentar negativo na espécie, assim como em cães (CASSALI *et al.*, 2002, SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016).

2.2.2.3 Proliferação Celular

O anticorpo monoclonal para avaliação da proliferação celular utilizado em câncer de mama é o Ki67, também conhecido como MIB-1, que reage com uma proteína do núcleo celular, de células proliferantes, sendo elas cancerígenas ou não. Estudos no câncer de mama vem correlacionando a expressão deste marcador a uma relação estatisticamente positiva com sobrevida livre de doença e sobrevida global de pacientes. Em caninos também apresenta relação com metástase e malignidade, se apresentando como um fator prognóstico

independente (DUTRA *et al.*, 2008, NUNES *et al.*, 2019). Nos estudos que avaliam a proliferação celular em mulheres com CLP, demonstram que em geral, os casos apresentam positividade acima de 10%. Já em cadelas a positividade para este marcador variou de 30 a 52 % (CASSALI *et al.*, 2002, SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016).

2.2.2.4 E-caderina

A E-caderina é uma importante molécula de adesão celular e tem grande importância na diferenciação de células epiteliais. Alterações ou falhas no seu comportamento têm sido relatadas em alguns tipos de tumores, como de câncer de cólon, bexiga, pele e glândula mamária tanto na espécie humana como na canina, sendo essas neoplasias as que apresentam características de pior prognóstico (RAKHA *et al.*, 2005; HORNE *et al.*, 2018). A alta expressão de E-caderina indica uma boa adesão celular e com isso, uma menor taxa de invasão de tumores que apresentam positividade para este marcador (YANG *et al.*, 2018; HORNE *et al.*, 2018). A perda da expressão dessa proteína nos tumores mamários apresenta relação com menor tempo de sobrevida e período livre de metástase (DUBOIS-MARSHALL *et al.*, 2011; MCCART REED *et al.*, 2016). Uma das características do CLP em ambas as espécies é a marcação membranar fraca e incompleta ou a perda total da expressão dessas proteínas nas células neoplásicas, o que evidencia o comportamento agressivo desse tipo tumoral (COSTARELLI *et al.*, 2017; HAQUE *et al.*, 2019).

2.2.3 Subtipos Moleculares

Os carcinomas mamários nas espécies humana e canina apresentam características bastante heterogêneas. Classificações clínicas, histológicas e imunofenotípicas visam compreender papéis prognósticos e preditivos para a doença, porém a complexidade dessas neoplasias ainda não é bem compreendida (NUNES *et al.*, 2022; GAMA *et al.*, 2008; RAKHA & GREEN, 2017). Para tanto, avanços nas áreas de pesquisa molecular têm correlacionado a expressão gênica de RE, RP e HER-2 e KI67, a índices indicativos prognósticos e a sobrevida de pacientes com câncer de mama. A partir dessa análise os carcinomas mamários são classificados da seguinte forma: Luminal A, Luminal B Her-2 negativo, Luminal B Her-2 positivo e Triplo negativo (RAKHA & GREEN, 2017). Os tipos luminais são classificados dessa forma pela similaridade das células neoplásicas com as células luminais normais da mama. No tipo luminal A os tumores expressam positividade para RE ou RP, e índice de KI67 baixo (<14%), já o subtipo luminal B pode se apresentar como HER (-), quando apresenta

marcação positiva para um ou dois dos marcadores hormonais, negatividade para HER-2 e o índice de KI67 alto (>14%). O subtipo luminal B HER-2 (+) apresenta positividade para RE, qualquer valor de KI67 e RP e sobreexpressão de HER-2. Dentre os carcinomas hormônio dependentes, os carcinomas luminais A, apresentam melhor prognóstico, visto a possibilidade de se beneficiarem de terapias alvo específicas, e por apresentarem baixo índice de proliferação celular. Diferentemente do luminal B, que cursa com uso de quimioterápicos e terapias alvo específicas, estando associado a maiores índices de metástases e diminuição da sobrevida (NUNES *et al.*, 2022; FRAGOMENI *et al.*, 2018; HASHMI *et al.*, 2018; FATEMI *et al.*, 2012).

Os carcinomas triplo negativos não expressam positividade para receptores hormonais e HER-2, sendo assim, não se beneficiam de terapias alvo e são relacionados a tumores de alto grau, maior incidência de metástases e menor taxa de sobrevida das pacientes (HOWARD *et al.*, 2021; NUNES *et al.*, 2022; NAMAGERDI *et al.*, 2020).

3. JUSTIFICATIVA

Dadas as similaridades morfológicas dos carcinomas lobulares pleomórficos das cadelas com as descritas em mulheres, se torna importante a sua caracterização para melhor conhecimento do seu comportamento, e a possibilidade de utilização das cadelas como modelo comparativo.

4. HIPÓTESE

O carcinoma lobular pleomórfico em cadelas apresenta nas análises histopatológicas e imunohistoquímicas semelhanças com as características descritas neste mesmo subtipo histopatológico na mulher.

5. OBJETIVOS

- **OBJETIVO GERAL**

Comparar as características clinicopatológicas e imuno-histoquímicas de carcinomas lobulares pleomórficos humanos e caninos.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a expressão proteica de E-caderina, HER-2, RE, RP e Ki67 em carcinomas lobulares pleomórficos da cadela e da mulher.
- Determinar o grau histológico dos carcinomas lobulares pleomórficos da cadela e da mulher e correlacioná-los com metástase regional e a distância.
- Correlacionar o imunofenótipo dos carcinomas lobulares pleomórficos da cadela e da mulher com os achados morfológicos e índice mitótico.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Aspectos Éticos e seleção das amostras

Todos os procedimentos foram realizados conforme os apropriados regimentos dos comitês de ética animal e humano sob os protocolos 83/2021 (CEUA/UFMG) e 43947521.3.0000.5149 (COEP/UFMG).

Um estudo retrospectivo foi realizado, e os casos foram selecionados a partir dos laudos das pacientes, e desses foram obtidas informações como diagnóstico, idade, tamanho tumoral, status de linfonodo e tipo de cirurgia. Foram selecionadas 56 casos de pacientes sem terapia anterior ao procedimento cirúrgico, que possuíam carcinoma lobular invasor e pleomórfico, graus II e III e desses, após revisão com um patologista médico, foram selecionados 26 casos que possuíam características compatíveis com o CLP. Após a seleção dos laudos e revisão das lâminas de HE, foram selecionados 26 blocos de amostras caninas que obtiveram diagnóstico de carcinoma lobular pleomórfico no arquivo do Laboratório de Patologia Comparada (LPC) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB - UFMG), nos anos de 2009 a 2020. E as 26 amostras humanas foram obtidas dos arquivos do Laboratório de Patologia Mamária da Faculdade de Medicina da UFMG, nos anos de 2010 a 2020 com diagnóstico de carcinoma lobular invasor e carcinoma lobular pleomórfico invasor.

6.2 Histopatologia

Foram obtidas secções histológicas de 4 µm dos blocos de parafina das neoplasias, sendo processadas por técnica rotineira para obtenção de lâminas coradas em HE. A classificação das neoplasias caninas foi realizada de acordo com o *Consensus for the Diagnosis, prognosis and*

tratamento of canine mammary tumors (CASSALI *et al.*, 2020) e das neoplasias das mulheres pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (LAKHANI *et al.*, 2012).

6.3 Graduação histológica e estadiamento clínico

As amostras humanas e caninas foram analisadas e graduadas de acordo com o sistema de Nottingham, o qual avalia o índice de formação de túbulos, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica. Para categorização de parâmetros clínicos e histopatológicos da progressão tumoral será utilizado o sistema TNM, onde (T) se refere ao tamanho tumoral e extensão do tumor primário, (N) a análise de linfonodos regionais, avaliando a ausência ou a presença de metástases, (M) a presença ou ausência de metástases a distância (OWEN, 1980; TNM, 1998; CAVALCANTI *et al.*, 2006). O grau histológico do tumor foi obtido pela soma das pontuações, classificadas como grau I (3-5 pontos), grau II (6–7 pontos) e grau III (8–9 pontos) (ELSTON & ELLIS, 1991). .

6.4 Imuno-histoquímica

A partir de blocos de parafina, foram obtidos cortes histológicos de 4 µm de espessura em lâminas gelatinizadas, sendo desparafinizados em xilol e álcool e reidratados em diferentes concentrações de alcoois. Para as amostras caninas, o Kit de Sistema de Detecção de Polímero Novolink (Leica Biosystems, Newcastle,Tyne, Reino Unido) foi utilizado de acordo com as especificações do fabricante. Para as amostras humanas, foi utilizado o Kit de detecção Advance TM HRP (Dako North America; Via Real Carpinteria, CA, EUA). A recuperação antigênica do receptor de estrogênio (ER), progesterona (PR), Ki67, HER2 e E-caderina foi realizada por meio de calor úmido pressurizado (Pascal) para as amostras caninas e para as amostras humanas. Nos casos caninos foi utilizado citrato pH 6,0 e humanos se utilizou EDTA pH 9,0 (Dako Cytomation Target Retrieval Solution, Dako, Glostrup, Dinamarca). As lâminas com os cortes histológicos foram incubadas com o anticorpo primário apropriado por 1 hora nas mulheres em temperatura ambiente e 16 horas nos cães que foram incubadas em câmara úmida, a 4°C. A imunorreatividade foi visualizada através do cromógeno 3-3' diaminobenzidina (DAB Substrate System, Dako, Carpinteria, CA, EUA) e contrastado com hematoxilina de Mayer. As informações referentes aos anticorpos, fabricantes, clones, diluições e recuperação antigênica, podem ser observados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Anticorpos primários utilizados nas neoplasias mamárias humanas com os respectivos fabricantes, clones e diluições.

Anticorpo	Fabricante	Clone	Diluição
RP	Dako	SP2	1:200
RE	Dako	EP1	ready to use
KI67	Dako	Mib-1	1:180
E-CADERINA	Bio SB inc.	EP700Y	1:180
HER-2	Dako	Policlonal	1:180

Tabela 2. Anticorpos primários nas neoplasias mamárias caninas com os respectivos fabricantes, clones e diluições.

Anticorpo	Fabricante	Clone	Diluição
RP	Dako	HPRA2	1:50
RE	Dako	1D5	1:50
KI67	Dako	Mib-1	1:50
E-CADERINA	Zymed	4A2C7	1:50

HER-2 Dako Policlonal 1:200

6.5 Subtipos moleculares

Os subtipos moleculares de câncer de mama são classificações distintas devido a heterogeneidade molecular das neoplasias, sendo classificadas com base na expressão imunohistoquímica do receptor de estrógeno e progesterona positivos, receptor de fator de crescimento epidérmico humano positivo (HER2+) e triplo-negativo (TNBC) (GAMA *et al.*, 2008). Sendo classificados como Luminal A, Luminal B (HER2-), Luminal B (HER2+), HER2+ e TNBC (RAKHA & GREEN, 2017). No tipo Luminal A os tumores expressam positividade para RE ou RP, com índice de KI67 baixo (<14%), o subtipo Luminal B pode se apresentar como HER2 (-), onde apresenta positividade para um ou ambos marcadores hormonais, índice de KI67 alto (>14%) e negatividade para HER2; o subtipo Luminal B HER2+, apresenta positividade para RE, qualquer índice de KI67 e RP, e sobreexpressão de HER2; o subtipo HER+, apresenta positividade para HER2 e ausência de marcação hormonal em E o TNBC, ou triplo-negativo, apresenta negatividade para os marcadores hormonais e HER-2 (DERAKHSAN & REIS-FILHO, 2022; HASHMI *et al.*, 2018; FRAGOMENI *et al.*, 2018).

6.6 Análises estatísticas

Para realização das análises estatísticas foi utilizado o software GraphPap Prism 8. Para os resultados das imuno-histoquímicas entre CLP humano e CLP canino, utilizamos o teste não paramétrico U de Mann-Whitney, nos casos em que houve normalidade dos dados, foi verificada pelo teste Shapiro-Wilk, foi realizado o teste t. Valores de p abaixo de 0,05 foram considerados significativos.

7. RESULTADOS

A idade dos animais no momento da ressecção cirúrgica das mamas foi de 4 a 12 anos (com média de 9,2; n = 22), seis dos animais não possuíam essa informação na ficha clínica, enquanto nas mulheres foi de 42 a 77 anos (média 56,7 n = 24), em dois caso não foi possível obter a esta informação. Em relação ao tamanho tumoral, na espécie na espécie canina, T1 28% (7/25), T2

32% (8/25) e T3 40% (10/25), um dos animais não possuía informação sobre tamanho, nas mulheres T1 – 40,9% (9/22), T2 – 45,5% (10/22) e T3 – 13,5% (3/26), sendo que em quatro dos casos o tamanho tumoral não foi relatado. A avaliação de metástase para linfonodo em cadela foi obtida em 50% (13/26) casos, sendo que 50% (9/13) apresentavam metástase para linfonodo regional no momento do diagnóstico. Em mulheres, 61,5% (16/26) delas apresentaram dado sobre linfonodo e 43,8% (7/16) apresentavam metástase em um ou mais linfonodos regionais.

Ambas as espécies apresentavam características histopatológicas de carcinoma pouco diferenciado, com células de citoplasma abundante e eosinofílico que assumiam diferentes padrões, como plasmocitóide e anel de sinete, o núcleo apresentava acentuado pleomorfismo, excentricidade e nucléolos evidentes, por vezes no estroma conjuntivo adjacente as células se apresentavam em fileira única no padrão de <fila indiana= (Figura 1). Na espécie canina, os CLP apresentaram-se associados com alguns outros tipos tumorais 20%; 7,7%, como carcinoma micropapilar, e com áreas de carcinoma lobular *in situ* (2/26) e 3,8% carcinoma em tumor misto, carcinoma sólido, carcinoma em tumor misto, carcinoma tubular e carcinossarcoma (1/26). Nas mulheres, 7,7% estavam associados a áreas de carcinoma lobular *in situ*, e 3,8% com áreas de carcinoma ductal invasor (1/26).

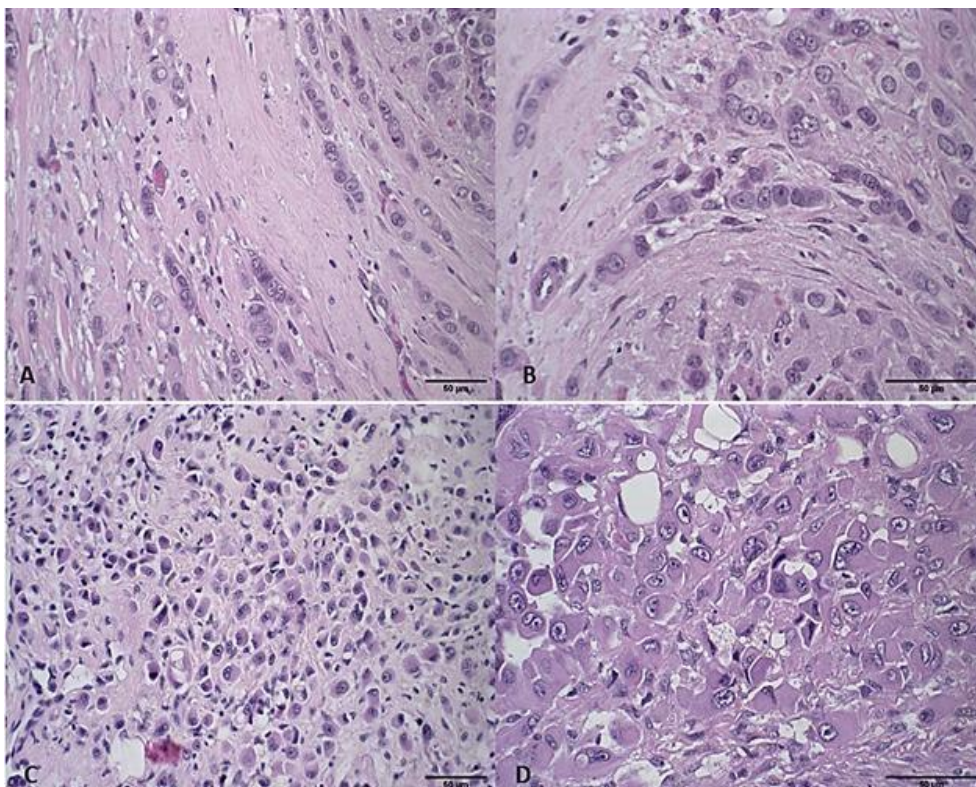


Figura 1. Fotomicrografias de carcinoma lobular pleomórfico de glândula mamária humana (A e B) e canina (C e D), demonstrando o padrão descoeso das células neoplásicas, com citoplasma abundante, dispostas em fila indiana no estroma; (coloração HE, barra de escala, 50 µm).

Quanto ao grau tumoral nas cadelas, em 96,1% (25/26) delas foi possível realizar a graduação, sendo os tumores a frequência foi de grau I em II 64% (16/25) e 36% 9/26 apresentou graduação III. Nas mulheres, a graduação foi obtida em 96,1% (25/26), onde 16% (4/25) obtiveram grau I, 76% (19/25) obtiveram grau II, sendo também o mais prevalente, e 8% (2/25) apresentaram graduação III. As características clínico-patológicas se encontram resumidas na tabela 3.

Tabela 3 – Características clínico patológicas.

	CLP Canino	CLP humano
<i>Média de idade</i>	9,02	56,7
<i>Tamanho tumoral % (n)</i>		
<3 cm	26,9 (7)	-
3 to 5 cm	30,8 (8)	-
>5 cm	38,5 (10).	-
Não informado	3,8 (1).	-
<i>Tamanho tumoral % (n)</i>		
<2 cm	-	35 (9)
2 to 5 cm	-	38 (11)
>10 cm	-	12 (3)
Não Informado	-	15 (4)
<i>Raça % (n)</i>		
SRD	30,8 (8)	

Labrador	26,6(7)	
<i>Grau Histológico% (n)</i>		
I	0	15,4 (4)
II	61,5 (16)	73,1 (19)
III	34,6 (9)	7,7 (2)
<i>Carcinoma Lobular <i>in situ</i> % (n)</i>		
Ausente	92 (24)	96 (24)
Presente	8 (2)	4 (1)
<i>Metástase em linfonodo % (n)</i>		
Ausente	35 (9)	27 (7)
Presente	15 (4)	35 (9)
Não Informado	50 (13)	38 (10)

Para a proteína Her-2, as neoplasias mamárias caninas se apresentaram negativas em todos os casos 100% (26/26). Nas mulheres, um caso (7,7% - 2/26) apresentou positividade (3+) e os demais apresentaram negatividade (92,3% - 24/26). Em relação aos marcadores hormonais, todas as cadelas apresentaram positividade para RP 100% (26/26) em sua maioria entre 50 a 75% de células imunomarcadas, para RE apenas uma das cadelas apresentou positividade 3,8% (1/26), sendo que 96,1% (25/26) a porcentagem de células marcadas for menor que 1%, sendo considerado negativo. Em mulheres, apenas uma apresentou negatividade para RP representando 3,8% (1/26), e para RE todas apresentaram positividade 100% (26/26). O índice de proliferação celular avaliado por KI67 em caninos, variou entre 21,5 a 86,6 % de células marcadas (média 58,7%), enquanto que nas mulheres de 3,9 a 38,5 % (média 15%), os resultados estão resumidos na tabela 4. Quanto ao subtipo molecular nas cadelas, todos foram classificados como luminal B e, em mulheres, 46,1% (12/26) foram categorizados como luminal A, 46,1% (12/26) como luminal B (Her-2 -) e 7,7% (2/26) como luminal B (Her-2 +).

Tabela 04 – Subtipos moleculares

Marcadores	CLP - caninos	CLP - humanos	p
RP			
+	100 (26/26)	96,1 (25/26)	<0,0001
-	0	3,8 (1/26)	
RE			
+	3,8 (1/26)	100 (26/26)	<0,0001
-	96,1 (25/26)	0	
HER- 2			
- (0, 1+, 2+)	100	92,3	0,49
+ (3+)		7,7	
KI67			
Média±SD (Max – Min) %	58,65 ±18,81 (88,8-21,5)	15,73 ± 8,48(38,00-4,0)	<0,0001

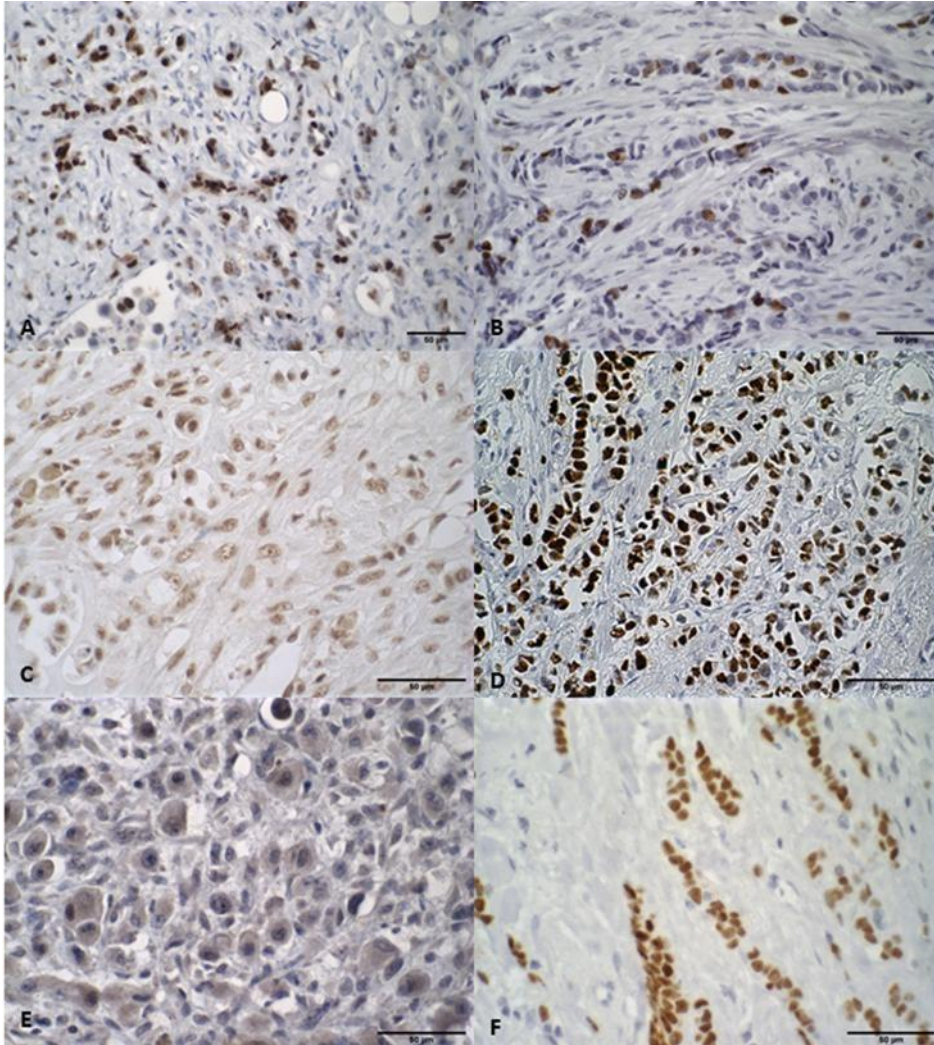


Figura 2 - Fotomicrografias de carcinoma lobular pleomórfico de glândula mamária canina (A, C , E) e humana (B, D, F). Em A e B núcleos marcados para o marcador de proliferação celular KI67; em C e D núcleos de células epiteliais neoplásicas marcadas para o receptor de progesterona . E e F exibem núcleos de células epiteliais neoplásicas, receptor de estrogênio. (Contracoradas com hematoxilina de Harris, barra de escala, 50 μ m).

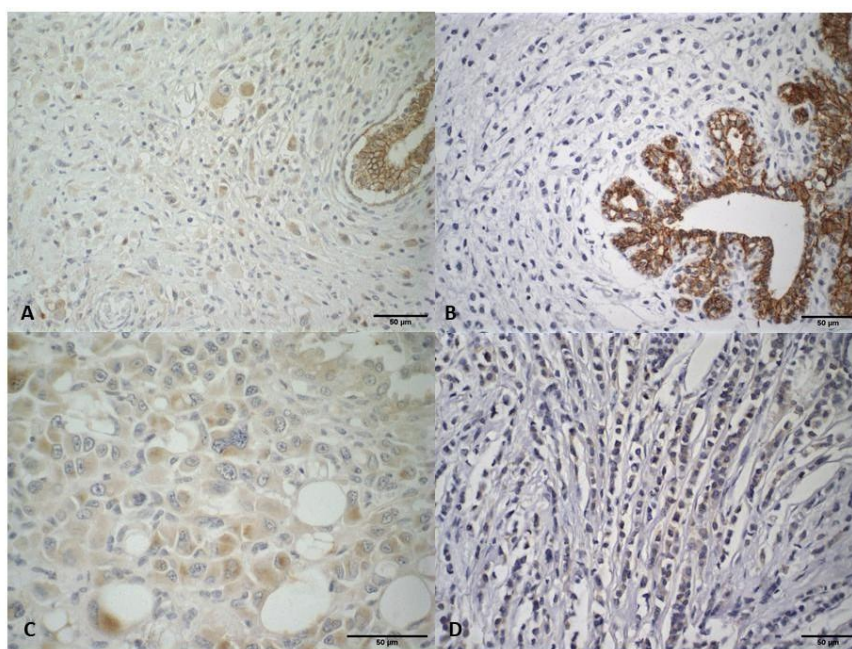


Figura 3 -Fotomicrografias de carcinoma lobular pleomórfico de glândula mamária canina (A e C) e humana (B e D). Em A e B observamos negatividade para E-caderina nas células epiteliais neoplásicas, e observamos também a presença de controle interno no canto esquerdo das imagens . Em C e B imunomarcacão negativa para HER-2. (Contracoradas com hematoxilina de Harris, barra de escala, 50 µm).

8 DISCUSSÃO

Estudos comparativos comprovam que os carcinomas mamários caninos e humanos apresentam diversas características em comum e compartilham comportamentos de malignidade e agressividade além de características morfocelulares (CASSALI *et al.*, 2002; GAMA *et al.*, 2008; ABDELMEGEED & MOHAMMED, 2018).

No presente estudo a caracterização imunofenotípica nos mostra que o carcinoma lobular pleomórfico em cadelas em relação aos marcadores hormonais se apresenta negativo na maioria dos casos, em relação ao receptor de estrógeno. Todos os casos apresentaram positividade para RP. Nosso estudo contrapõe os relatos em cadelas que observaram positividade para receptor de estrógeno (CASSALI, *et al.*, 2002; SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016). Em mulheres com coortes significativas para o tumor evidenciaram, que cerca de 80% dos casos de CLP humano apresentavam positividade para RE e 60% para RP (MONHOLLEN *et al.*, 2012; MCCART REED *et al.*, 2021). Já para RP, nossos estudos corroboram com os achados relatados em cadelas por outros autores, que observaram positividade para este marcador, e

quanto a proteína HER-2, nossos estudos observaram negatividade desse marcador, corroborando também com que já foi descrito nos relatos de CLP em cadelas (CASSALI, *et al.*, 2002; SALGADO *et al.*, 2012, D'ASSIS *et al.*, 2016). Os hormônios esteróides são conhecidos como potenciais fatores de risco para o aparecimento de neoplasia nas espécies canina e humana. Mulheres que apresentam alto índice de positividade para marcadores hormonais se beneficiam de terapias com drogas como o tamoxifeno, podendo contribuir para um aumento da sobrevida. Já em cadelas alguns efeitos colaterais têm sido associados ao uso de terapias antiestrogênicas. (TAVARES *et al.*, 2010).

Em relação aos índices de proliferação celular com Ki-67, existem diversos pontos de corte relatados na veterinária, e estudos recentes que avaliaram o ponto de corte em 20%, observaram relação significativa com o tempo de sobrevida dos animais (SARLI *et al.*, 2002; ABADIE *et al.*, 2017). Em outros estudos, já foram evidenciados que valores acima de 20% se relacionam a metástase em linfonodos regionais e a tumores maiores do que 5 cm (PENÃ *et al.*, 1998; FERREIRA *et al.*, 2009). Em mulheres, um índice alto de Ki-67 é associado a um prognóstico desfavorável, contudo, há uma boa resposta a terapias quimioterápicas em decorrência dessa alta taxa de proliferação das células (TOKUDA *et al.*, 2017). Em cadelas, esse comportamento também tem sido evidenciado. Apesar do prognóstico desfavorável, cadelas que tiveram índice maior que 20% e um suporte quimioterápico, a sobrevida foi ampliada (NUNES *et al.*, 2018; NUNES, 2019).

Uma das características do CLP é a negatividade para E-caderina, confirmado neste estudo em que áreas invasoras não apresentaram positividade. Além disso, em áreas de transição de carcinoma *in situ* para invasor, foi possível observar que havia uma imunomarcacão fraca e incompleta nas células tumorais, evidenciando a progressão tumoral a partir do momento que as células tumorais iniciam a perda da expressão dessa molécula de adesão (FASOLA *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018; PEÑA-JAIME *et al.*, 2018).

Fazendo uma correlação com os estudos feitos por Lebeau (1953) e Wang (2020), a idade média dos animais encontrados no estudo fazem referência a idade média das mulheres, e este dado corrobora para consolidar a utilização da cadela como um modelo comparativo para humanos. O tamanho tumoral é bastante debatido na literatura canina e humana e, em caninos, tumores

maiores que 3 cm são considerados de prognóstico desfavorável, sendo considerado um fator independente (YAMAGAMI *et al.*, 1996).

Metástase em linfonodos regionais é um importante fator prognóstico em cadelas e em mulheres, podendo diminuir o tempo de sobrevida das pacientes, principalmente quando associados a outros fatores prognósticos (MITTENDORF *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2017;). Não foram obtidos dados sobre metástase à distância em nenhuma das espécies, impossibilitando o estadiamento clínico. Já é sabido que o grau histológico se correlaciona com agressividade, tempo livre de doença, e sobrevida de pacientes caninos e humanos. No presente estudo, os CLP humanos e caninos apresentaram graduação de moderada a alta, em conjunto com outros fatores como alto índice de Ki-67 e negatividade para E-caderina, os quais puderam evidenciar o comportamento agressivo dos CLP em ambas as espécies.

9 CONCLUSÕES

Nosso estudo apresenta novas descobertas para o CLP em caninos, com base no que já vem sendo descrito e também foi descritos nos resultados do presente trabalho, como grau histológico, metástase para linfonodo. Sendo que os CLP caninos apresentaram grau histológico II e III, equiparando ao que observamos em mulheres e os dados descritos na literatura. Em relação a metástase para linfonodos regionais, os CLP em cadelas apresentam potencial invasor para linfonodo elevado (69%) dentre os casos que essa informação foi obtida.

Quanto a avaliação imuno-histoquímica, os caninos apresentaram índice proliferativo mais alto (média 58,7%) evidenciando o caráter agressivo dessa neoplasia. Foi observado também semelhanças entre os relatos já existentes de CLP na espécie canina, em relação a positividade para RP, e negatividade para HER-2. E todos os casos de mulheres e caninos obtiveram imunomarcagem negativa para o marcador E-caderina, corroborando com a literatura em ambas as espécies. Isso nos mostra o potencial que o que já vem sendo descrito na espécie humana é relevante também para espécie canina e reforça a possibilidade do uso de cadelas como modelo comparativo do CLP em humanos.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O CLP humano, é considerado um tipo raro, 1% dos CLI, segundo tipo mais frequente de neoplasias malignas na espécie humana, e descrito com comportamento agressivo, na cadela

existem apenas três descrições desse tumor, sendo que seu comportamento nessa espécie e suas características imunofenotípicas e clínico-patológica desconhecidas.

O presente trabalho pôde caracterizar e comparar as informações clínico-patológicas e imunofenotípicas, cumprindo com os objetivos propostos. Se faz necessário mais pesquisas nesse tipo tumoral nas cadelas a fim de entender o seu comportamento biológico agressivo, para tal o estudo de outros marcadores prognósticos como COX-2 pode trazer perspectivas futuras no tratamento de cadelas acometidas com CLP.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADIE J, NGUYEN F, LOUSSOUARN D, PENA L, GAMA A, RIEDER N, et al. Canine invasive mammary carcinomas as models of human breast cancer. Part 2: immunophenotypes and prognostic significance. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;(0123456789).
- AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8. ed. Chicago: Springer International Publishing, 2017
- AL-BAIMANI, K BAZZARELLI A, CLEMONS M, ROBERTISON SJ, ADDISON C, ARNAUT A. Invasive pleomorphic lobular carcinoma of the breast: Pathologic, clinical, and therapeutic considerations. *Clin Breast Cancer*;15(6):421–52015.
- ARNES, J B., COLLET, K., & AKSLEN, L A. Independent prognostic value of the basal-like phenotype of breast cancer and associations with EGFR and candidate stem cell marker BMI-1. *Histopathology*; *Histopathology*, 52(3), 370–380. 2008
- ARAÚJO, M.R e CASSALI G.D. Patologia mamária Canina: do diagnóstico ao tratamento. São Paulo: Med Vet, p.61-72, 2017.
- BAUER, K R, BROWN M, CRESS R D, PARISE CA, CAGGIANO V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. May 1;109(9) – 2007.
- BERTAGNOLLI, A. C. et al. Canine mammary mixed tumours: immunohistochemical expressions of EGFR and HER-2. *Aust. Vet. J.*, v.89, n.8, p.312-317, 2011
- CASSALI, G. D., GARTNER, F., & SCHMITT, F. C. Pleomorphic lobular carcinoma of the canine mammary gland: histopathologic and immunohistochemical features. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54(6), 592-594.2002.
- CASSALI, G. D., & al et,. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. Brazilian Journal of Veterinary Pathology. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 4(2), 158-180. 2011.
- CASSALI, G. D. et al. Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors - 2019. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v. 13, n. 3, p. 555 – 574, 2020.
- CAVALCANTI M. F. and CASSALI G. D., Fatores Prognósticos no Diagnóstico Clínico e Histopatológico dos Tumores de Mama em Cadelas-Revisao, *Revista Clínica Veterinária*, No. 61, 2006, pp. 56-63
- CAVALCANTI, M.F., Fatores prognósticos na abordagem clínica e histopatológicos dos carcinomas mamários de cadelas: estadiamento TNM e sistema de Nottingham. Belo Horizonte
- COSTARELLI, L. et al. Pleomorphic lobular carcinoma: Is it more similar to a classic lobular cancer or to a high-grade ductal cancer? *Breast Cancer: Targets and Therapy*, v. 9, p. 581–586, 2017.
- CECILIO A.P et al. Breast cancer in Brazil: epidemiology and treatment challenges. *Breast Cancer* (Dove Med Press). 2015 Jan 29;7:43-9.

COSTARELLI, L. et al. Pleomorphic lobular carcinoma: Is it more similar to a classic lobular cancer or to a high-grade ductal cancer? *Breast Cancer: Targets and Therapy*, v. 9, p. 581–586, 2017.

D'ASSIS, M. *et al.* Carcinoma lobular pleomórfico de mama em cadela submetida ao tratamento quimioterápico com carboplatina - Relato de caso*. v. 38, p. 139–146, 2016.

DESANTIS, C E, *et al.*, International variation in female breast câncer incidence and mortality rater. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2015.

DUTRA, A. P. et al. Assessment of cell proliferation and prognostic factors in canine mammary gland tumors. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, n. 6, p. 1403–1412, 2008

DUBOIOUS-MARSHALL, S., THOMAS, J.S., FARATIAN, D. et al. Two possible mechanisms of epithelial to mesenchymal transition in invasive ductal breast cancer. *Clin Exp Metastasis* 28, 811–818 (2011).

DERAKHSAN F, REIS-FILHO, J.P., Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. *Annu Rev Pathol.* 2022 Jan 24;17:181-204

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, v. 19, n. 5, p. 403–410, 1991.

FASOLA, C. E. *et al.* Characteristics and clinical outcomes of pleomorphic lobular carcinoma in situ of the breast. *Breast Journal*, v. 24, n. 1, p. 66–69, 2018.

FATEMI, H. EL et al. Luminal B tumors are the most frequent molecular subtype in breast cancer of North African women : an immunohistochemical profile study from Morocco.

Diagnostic Pathology, p. 1–7, 2012

FRAGOMENI, S. M.; SCIALIS, A.; JERUSS, J. S. Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*, v. 27, n. 1, p. 95–120, 2018.

FERREIRA E, BERTAGNOLLI AC, CAVALCANTI MF, SCHMITT FC, CASSALI GD. The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. *Vet Comp Oncol.* 2009;7(4):230–5.

FROLIK, D.; CADUFF, R.; VARGA, Z. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: Its cell kinetics, expression of oncogenes and tumour suppressor genes compared with invasive ductal carcinomas and classical infiltrating lobular carcinomas. *Histopathology*, v. 39, n. 5, p. 503–513, 2001.

GAMA, A., ALVES, A. & SCHIMITT, F. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Arch* 453, 123–132 2008

GAMA A. *et al.* Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in canine mammary tissues. *Res. Vet. Sci.*, v.87, n. 3, p. 432–437, 2009

GEDON, J. WEHREND A, KESSLES, M. Ovariectomy reduces the risk of tumor development and influences the histologic continuum in canine mammary tumours. *Vet Comp. Oncol* 2022 Jun; 20(2):476-483

GOLDHIRSCH A, GLICK JH, GELBER AS et Al. Meeting Highlights International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Annals of oncology*. 16:1569-83; 2005.

HAMMOND, M. E. H.; *et al.*,. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28(16), 2784–2795.

HAQUE, W. et al. Outcomes of pleomorphic lobular carcinoma versus invasive lobular carcinoma. *Breast*, v. 43, p. 67–73, 2019.

HASHMI, A. A. et al. Prognostic parameters of luminal A and luminal B intrinsic breast cancer subtypes of Pakistani patients. *World Journal of Surgical Oncology*, v. 16, n. 1, p. 1–6, 2018.

HOWARD, F. M. ; Olopade, Resumo I. MD ,† Epidemiologia do Câncer de Mama Triplo-Negativo, *The Cancer Journal*: 02/01 2021

HICKS, D. G., & LESTER, S. C. Invasive Lobular Carcinoma Variants. In: *Diagnostic Pathology Breast* (pp. 258-263). *Salt Lake: Elsevier*. 2016.

HORNE, H.N., Oh, H., SHERMAN, M.E. et al. E-cadherin breast tumor expression, risk factors and survival: Pooled analysis of 5,933 cases from 12 studies in the *Breast Cancer Association Consortium*. *Sci Rep* 8, 6574 2018

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2020: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019.

IZADI P, NORUZINIA M, FEREIDOONI F, MOSTAKJDEME HOSSEINE Z, KAMALI F, Epigenetic marks in estrogen receptor alpha. CpG island. Correlate with some reproductive risk factors in breast cancer *Mol Biol. Rep* 2014 Nov; 41 (11): 7607-12

JUNG S P, LEE S K, KIM S, CHOI M Y, BAE S Y, KIM J, KIM M, KIL W H, CHOI E Y, CHOE JH, KIM J H, KIM J S, NAM SJ, LEE JE. Invasive Pleomorphic Lobular Carcinoma of the Breast: Clinicopathologic Characteristics and Prognosis Compared with Invasive Ductal Carcinoma. *J Breast Cancer*. 2012 Sep;15(3):313-319.

LAKHANI, S. E. WHO Classification of Tumours of the Breast. Fourth Edition. Lyon, França: *World Health Organization*. 2012.

LAS MULAS, J.; MILLÁN, M. Y.; DIOS, R. A Prospective Analysis of Immunohistochemically Determined Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Expression and Host and Tumor Factors as Predictors of Disease-free Period in Mammary Tumors of the Dog. *Vet. Pathol.*, v. 42, n. 2, p. 200-212, 2005

LIU YL, CHOIC, LEE SM, ZHONG X, HIBSGIISH H, KAKIBSKY K, et al. Invasive Lobular Breast Carcinoma: Pleomorphic Versus Classical Subtype, Associations and Prognosis. *Clin Breast Cancer* ;18(2):114–20, 2018.

- LEBEAU, A. L'âge du Chien et celui de l'Homme. Essai de statistique sur la mortalité canine. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, v. 106, n. 4, p. 229–232, 1953.
- MCCARTY, K. S., Correlation of estrogen and progesterone receptors with histologic differentiation in mammary carcinoma. *Cancer*, v. 46, n. S12, p. 2851-2858, 1980.
- MISDORP, W. et al. Histological classification of mammary tumors of the dog and cat. WHO, International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. 2. Ed. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, *American Registry of Pathology*, 2001
- MONHOLLEN, L; MORRISIN C; ADEMUYUWA F. O.; CHANDRASEJHAR R.; KHOURY T., *Pleomorphic lobular carcinoma: a distinctive clinical and molecular breast cancer type.*, 61(3); 2012.
- MILLIS, R.R. Correlation of hormone receptors with pathological features in human breast cancer. *Cancer*, v. 46, n. S12, p. 2869-2871, 1980
- MITTENDORF E, A; HUNT K, K; BOUGHEY J C; et al., Incorporation of sentinel lymph node metastasis size into a nomogram predicting nonsentinel lymph node involvement in breast cancer patients with a positive sentinel lymph node. *Ann Surg.* 2012 Jan;255(1):109-15.
- MONDAL, P; BAILEY K, L; CAETWHIGH S B, BAND V; CARLSON M, A. Large Animal Models of Breast Cancer *Front. Oncol.* 2022 FEB 4 12 788038.
- MUKHTAR R, A, *et al.* Mitotic score and pleomorphic histology in invasive lobular carcinoma of the breast: impact on disease-free survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2020
- GRAY, M, MEEHAN J, MARTÍNEZ-PÉREZ C, KAY C, TUMBULL A, K, MORRISON L R, PANG L, Y, ARGYLE D. Naturally-Occurring Canine Mammary Tumors as a Translational Model for Human Breast Cancer. *Front Oncol.* 2020 Apr 28;10:617.
- NUNES, F.C. NUNES, F.C; CAMPUS, C.B; TEIXEIRA. SV. BERTAGNOLLI, A.C.; LAVALLE, G.E.; CASSALI, G.D.. *et al.* Epidemiological, clinical and pathological evaluation of overall survival in canines with mammary neoplasms. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 70, n. 6, p. 1714–1722, 2018
- NUNES, F. C. Identificação de fenótipos moleculares e sua relação com fatores clínico 70 patológicos, tratamento e sobrevida em neoplasias mamárias caninas, Tese de doutorado. Belo Horizonte - MG, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 2019
- NUNES F.C., BERTAGNOLLI A.C., LAVALLE G.E., T.L. SILVEIRA., D. BALABRAM., G.D. CASSALI. The prognostic significance of immunophenotypes in canine malignant mammary tumors., *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.74, n.2, p.299-309, 2022
- OWEN, L. N. *TNM Classification of tumours in domestic animals*. 1. ed. Geneva: World Health Organization, 1980
- OLIVEIRA, L. O. De, OLIVEIRA, R. T. De, LORETTI, A. P., RODRIGUES, R. & DRIEMAIER, D. Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária canina. *Acta Sci. Vet.* 31, 105–110 2003.

OLIVEIRA FILHO, J. C., Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. *Pesq. Vet. Bras.* v. 30, n. 2, p.177-185,2010

ONITILO A A, ENGEL J M, GREELEE R T, MUKESH B N. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clin Med Res.* 2009

PEÑA L.L, NIETO A.I, PÉREZ-ALENZA D, CUESTA P, CASTAÑO M. Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: Relationship to clinical and pathologic variables. *J Vet Diagnostic Investig.* 1998

PEÑA-JAIMES, L. *et al.* Pleomorphic lobular carcinoma of the breast with osteoclastlike giant cells: A case report and review of the literature. *Diagnostic Pathology*, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2018.

RAHKA E A, Abd EL REHIM D, PINDER S E, LEWIS S A, ELLIS I O. E-cadherin expression in invasive non-lobular carcinoma of the breast and its prognostic significance. *Histopathology.* 2005 Jun;46(6):685-93.

RAHKA, E. A., VAN DEURZEN, C. H., C., P. E., MACMILLAN, R. D., ELLIS, I. O., & LEE, A. H. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: is it a prognostically significant pathological subtype independent of histological grade? *Modern Pathology*, 26, 496 501. 2012.

RAKHA, E. A., & GREEN, A. R.. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology*, 49(2), 111–119. 2017.

RIVEIRA P, VON EULER H. Molecular biological aspects on canine and human mammary tumors. *Vet Pathol.* Jan;48(1):132-46. 2011.

RUHNKE C L G, & VALEJO, F. A. M. Correlação entre tempo de diagnóstico, tratamento e sobrevida em pacientes com câncer de mama: uma revisão de literatura. *Colloquium Vitae.* ISSN: 1984-6436, 13(1), 12–16. 2021.

SALGADO, B S., MONTEIRO, L N. Cytohistological and immunohistochemical features of a mammary invasive pleomorphic lobular carcinoma in a dog. 2012;495–9.

SARLI, G.; PREZIOSI, R.; BENAZZI, C. *et al.* Prognostic value of histologic stage and proliferative activity in canine malignant mammary tumors. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.14, p.25-34, 2002

SEGAR, J. M. *et al.* Clinicopathological and molecular characteristics of pleomorphic invasive lobular carcinoma. *International Journal of Breast Cancer*, v. 2020, 2020.

SILVA, M. M.; SILVA, V. H. Envelhecimento: importante fator de risco para o câncer. *Arquivos Médicos do ABC*, Santo André, v. 30, n. 1, p. 11-18, 2005.

SINN, H., & KREIPE, H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. *Breast Care*, 8, 149-154. 2013.

SORENMO, K.U., Worley, D.R. and Goldschmidt, M.H. (2013) *Tumors of the Mammary Gland*. In: Withrow, S.J., Vail, D.M. and Page, R.P., Eds., Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th Edition, Saunders Company, Philadelphia, 538-556.

SEGAR, J. M. *et al.* Clinicopathological and molecular characteristics of pleomorphic invasive lobular carcinoma. *International Journal of Breast Cancer*, v. 2020, 2020.

TANIGUCHI K, TAKADA S, OMORI M, IGAWA T, NISHIMURA M F, MORITO T, et al. Triple-negative pleomorphic lobular carcinoma and expression of androgen receptor: Personal case series and review of the literature. *PLoS One* 2020

TIMMERMANS-SPRANG E, P M; GRACANIN A, Mol JÁ. Molecular Spgnaling of progesterone growth hormone, WNT and HER in Mammary Glands of dog rodents and Humans New treatment target identification *Front Vet Sci* 2017 Apr 13 453

TNM Classificação dos tumores malignos, ministério da saúde, secretaria da assistência à saúde, Instituto nacional do câncer, 5ed, Rio de Janeiro: Instituto nacional do câncer -INCA. p. 128-136. 1998.

TOKUDA, E. *et al.* Differences in Ki67 expressions between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy specimens might predict early recurrence of breast cancer. *Human Pathology*, v. 63, p. 40–45, 2017.

TSUTSUI, S. *et al.* Prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its relationship to the estrogen receptor status in 1029 patients with breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* v. 71, n. 1, p. 67–75, 2002

UVA, P., AURISICCHIO, L., WATTERS, J. *et al.* Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. *BMC Genomics* 10, 135 2009

VARGAS, A. C., LAKHANI, S. R., & SIMPSON, P. T. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: molecular pathology and clinical impact. *Review Future Oncology*, 5, 233-243.2009.

WANG, T. *et al.* Quantitative Translation of Dog-to-Human Aging by Conserved Remodeling of the DNA Methylome. *Cell Systems*, v. 11, n. 2, p. 176- 185.e6, 2020.

WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Pesearch on Cancer; 5th ed.; vol. 2 *p 114-118*, 2019.

WU S,G; SUN J, Y; ZHOU J; LI F, Y; ZHOU H; LIN Q; LIN H; X, BAO Y; HE Z, Y. Number of negative lymph nodes can predict survival of breast cancer patients with four or more positive lymph nodes after postmastectomy radiotherapy. *Radiat Oncol.* 2014 Dec 16;9:284.

YAMAGAMI, T.; KOBAYASHI, T.; TAKAHASHI K.; SUGIYAMA, M. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification. *J. Vet. Med. Sci.* 1996, 58, 1079- 83.

YANG L, WANG XW, ZHU L P, WANG H L, WANG B, ZHAO Q and WANG X Y: Significance and prognosis of epithelial cadherin expression in invasive breast carcinoma. *Oncol Lett* 16: 1659-1665, 2018

Xu J, Guo X, Jing M, Sun T. Prediction of tumor mutation burden in breast cancer based on the expression of ER, PR, HER-2, and Ki-67. *Onco Targets Ther.* Apr 19;112018.

10. ANEXOS

Anexo 01: Certificados de aprovação CEUA/ COEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS TRANSCRICIONAIS E EXPRESSÃO PROTEICA DE MARCADORES PROGNÓSTICOS E PREDITIVOS EM TUMORES DE COMPORTAMENTO AGRESSIVO DA GLÂNDULA MAMÁRIA CANINA", protocolo do CEUA: 83/2021 sob a responsabilidade de Geovanni Dantas Cassali que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 10/05/2021.

Vigência da Autorização	10/05/2021 a 09/05/2026
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/inhagem	Banco de amostras / não se aplica
Nº de animais	10
Peso/Idade	10kg / 10(anos)
Sexo	feminino
Origem	Estudo retrospectivo, amostras em blocos de parafina.
*Espécie/inhagem	Banco de amostras / não se aplica
Nº de animais	30
Peso/Idade	10kg / 10(anos)
Sexo	feminino
Origem	Estudo retrospectivo, amostras em blocos de parafina.

Considerações posteriores:

10/05/2021	Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 10/05/2021. Validade: 10/05/2021 a 09/05/2026.
------------	---

Belo Horizonte, 22/12/2021:

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG
https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - ceua@ccpq.ufmg.br



INITIAL PLAN PRIORITIES FOR PERSONS

CLASSE DA VARIÁVEL DO PRODUTO DE PREÇOS

Título da Pesquisa: JORNALISMO GOSNÉIS: TRANSCENDÊNCIA E EXPRESSÃO PROFÉTICA DE NARRADORES PRODIGIAIS E PRESTÍGIOS EM TIPOS DE CROMATISMO HORIZONTO DA CLAREZA INICIAL HUMANA E DIVINA.

Penetration Resistance (Concrete Surface Condition)

Keywords: child sexual abuse; disclosure; self-blame; social support

© 2002 Blackwell Science Ltd, *Journal of Internal Medicine* 252: 105–112

Publication date: 2000-1-1

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Física, Caixa Postal 68.528, 21945-970, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

1. *Explain the importance of the following:*

Polysaccharide Pyrimidyl-5'-phosphates 103



Continuando da pagina 11

DOCUMENTO DE APOYO DE FONDO

- [illegible]

Tipos de Documentos	Idiomas	Aspetos	Procedimentos	Notas
---------------------	---------	---------	---------------	-------

ALBERTA'S AFFIRMING-CARE AND AFFIRMATION

Kortlægning ¹	Projektets Bemærkninger ²	Arbejde ³	Spørgsmål ⁴	Resultater ⁵	Skema ⁶	Relevante de Andre Data ⁷	Åbne
10	Indsæt Cloude Læst		10/10/2019	11/10/2019	Advarsel	100	

CONCLUSIONS AND FUTURE RESEARCH

Apuração	Qualificação	Tipo Tabela	Votos	Por%	Orgão	Classificação	Informações
001	17/03/2017 02:43:08	Processo eleitoral	0	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	000000000000000000	
002	17/03/2017 02:43:08	Processo de habilitação eleitoral	0	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
003	17/03/2017 11:23:08	Processo de habilitação eleitoral	0	Habilitação em 2017	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
004	17/03/2017 11:23:08	Habilitação do Interligação de Habilitação	0	Habilitação em 2017	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
005	17/03/2017 12:04:00	Confirmação do Interligação de Habilitação	0	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
006	17/03/2017 12:04:00	Habilitação do Interligação	0	Habilitação	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
007	17/03/2017 17:30:04	Habilitação do PE	0	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
008	03/04/2017 00:00:00	Suplementação e habilitação no CEF	0	Suplementação Principal	PRCA/CA/CE/CE	Universidade Federal do Rio de Janeiro	
009	07/04/2017 07:39:30	Processo eleitoral	1	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	000000000000000000	
010	07/04/2017 11:34:00	Processo de habilitação eleitoral	1	Quórum zero	Universidade Federal do Rio de Janeiro	Universidade Federal do Rio de Janeiro	

LEGESE:

FL. Apresentação

OU = Projeto Organizativo Centro Coordenador	POC = Projeto Organizativo Centro Participante	POC = Projeto Organizativo Centro Coordenador
OC = Orçamento do Centro Coordenador	OC = Orçamento do Centro Participante	OC = Orçamento do Centro Coordenador
OP = Realização do Centro Coordenador	OP = Realização do Centro Participante	OP = Realização do Centro Coordenador

Formato da CAAP:

Código de identificação do Projeto					Tipo do Centro					Código do Centro que está aderindo à prática									
01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Reservado para o código do Projeto					Código de identificação					Dependências locais (sejam, dentro do Centro, a Participante e não Superdependente)					Código do Centro que está aderindo à prática				