



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS  
SANIDADE ANIMAL

LUIS JHORDY ALFARO QUILLAS

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS DE TUMORES DE  
GLÂNDULA ADRENAL EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS EM MATO  
GROSSO**

CUIABÁ – MT

2024

LUIS JHORDY ALFARO QUILLAS

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS DE TUMORES DE  
GLÂNDULA ADRENAL EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS EM MATO  
GROSSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências veterinárias na área de concentração de Sanidade Animal, na linha de Patologia animal.

Orientador: Fernando Henrique Furlan

Coorientadora: Caroline Argenta Pescador

## FICHA CATALOGRÁFICA

A385a Alfaro Quillas, Luis Jhordy.  
Aspectos morfológicos e imunohistoquímicos de tumores de glândula adrenal em bovinos abatidos em frigoríficos em Mato Grosso [recurso eletrônico] / Luis Jhordy Alfaro Quillas. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 45 f., il. color., pdf). -- 2024.

Orientador: Fernando Henrique Furlan Gouvêa.

Coorientadora: Caroline Argenta Pescador.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Cuiabá, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

# FOLHA DE APROVAÇÃO



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: ASPECTOS MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS DE TUMORES DE GLÂNDULA ADRENAL EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS EM MATO GROSSO**

AUTOR: Mestrando Luis Jhordy Alfaro Quillas

Dissertação defendida e aprovada em **25 de outubro de 2024**.

## COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Doutor Fernando Henrique Furlan Gouvêa (Presidente Banca/Orientador)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor Daniel Guimarães Ubiali (Examinador Externo)

Instituição: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Doutora Nádia Aline Bobbi Antoniassi (Examinadora Interna)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor Marcos de Almeida Souza (Examinador Suplente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Cuiabá, 25 de outubro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **NADIA ALINE BOBBI ANTONIASSI, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 29/10/2024, às 18:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **FERNANDO HENRIQUE FURLAN GOUVEA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 31/10/2024, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Guimarães Ubiali, Usuário Externo**, em 31/10/2024, às 18:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufmt.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **7307845** e o código CRC **AD3620E2**.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabalho aos meus pais Edmundo Alfaro, Angela Quillas pelo amor e por me ensinarem sobre a vida pelo exemplo e aos meus irmãos Jhimy Alfaro, Orlando Alfaro, Rosiluz Alfaro com muito amor por vocês, e espero que seja motivação, inspiração nesta primeira etapa de sua formação profissional.

Com muito amor para uma pessoa especial Adriana Castillo Villanueva.

Luis Alfaro

## **DEDICATORIA ESPECIAL**

Dedico esse trabalho às pessoas que fazem ciência, e sabemos que a ciência aplicada é o grau mais alto da ciência, mas isso depende muito dos pesquisadores que fazem ciência básica, sabemos que a pesquisa é cara, principalmente para os países em desenvolvimento, além disso não fazer ciência é custosa, mas é mais custosa a ignorância.

A patologia para mim é misteriosa, inspiradora, onde me ensinou a valorizar a vida, que tinha muito significado quando a morte foi inventada há milhares de anos, quando as células eram egoístas e viajantes. Estudar essas células nos ajuda a entender seus mecanismos, respostas ao tratamento, prognóstico, diagnóstico do câncer. Decidi estudar, compreender e dedicar toda a minha existência ao estudo desta doença e acredito que não será suficiente para compreender os tumores; não acredito que possamos mudar o mundo, mas se todos contribuirmos, teremos uma ideia melhor de como tratar as neoplasias. Às vezes é incurável, mas talvez dando aos pacientes qualidade de vida e esperança com tratamentos inovadores, possamos abordar melhor esta doença em humanos e animais.

Luis Alfaro

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao Professor Fernando Henrique Furlan Gouvêa pela orientação e por todo o esforço dedicado à conclusão deste trabalho, especialmente por me residir no Laboratório de Patologia Veterinária como seu aluno apesar de ser estrangeiro. Principalmente para todas as amostras coletadas de tumores adrenais bovinos, o que com certeza foi difícil e demorou vários anos no Estado de Mato Grosso 2011, 2012, 2013, 2020.

Agradeço aos professores do Laboratório de Patologia Veterinária Caroline Argenta Pescador, Edson Moleta Colodel e Marcos de Almeida Souza por todo conhecimento e tempo dedicado.

Agradeço aos técnicos do Laboratório de Patologia Veterinária Naiani Domingos Gasparetto Veggi e Adrielle Ataides de Queiroz por me ajudarem no processamento das amostras. Eu aprecio muito suas recomendações.

Agradeço aos alunos de pós-graduação Wuglenya Daislla Martins da Silva, Carlos Chaves, Camilo Eduardo Barcenos Olaya e João Paulo Cavasani pela orientação e ajuda no processamento das amostras.

Gostaria de agradecer aos residentes de Patologia Veterinária Jéssica Nathyelli da Silva, Sávio Lucas da Silva e David José Ferreira da Silva pelas recomendações e ajuda no processamento das amostras.

Agradeço ao Ícaro Guilherme, aluno de graduação, pela ajuda na contagem de células Ki-67 utilizando o equipamento do Software QuPath 0.4.4, suas recomendações, seus critérios e seu incentivo ao trabalho.

Agradeço a graduanda Luana Dias, e todos os demais colaboradores do Laboratório de Patologia.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias; agradeço à Universidade Federal de Mato Grosso.

Programa de Bolsas Acadêmicas da OEA, PROGRAMA BECAS BRASIL PAEC OEA-GCUB, Convocatória OEA/GCUB no 001/2022 por proporcionar essa oportunidade e me ajude a realizar meus sonhos nesta primeira etapa da minha carreira científica.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro nessa jornada.

E por fim agradeço a minha banca avaliadora por todas as suas considerações.

## **RESUMO**

Tumores de glândula adrenal em bovinos, embora relativamente comuns, têm sido objeto de poucos estudos abrangentes que descrevem suas características morfológicas e perfil imuno-histoquímico. Este estudo visa preencher essa lacuna fornecendo uma descrição detalhada dos aspectos macroscópicos, microscópicos e imuno-histoquímicos de neoplasias de glândula adrenal em bovinos abatidos no Estado de Mato Grosso. As neoplasias foram identificadas e caracterizadas com base em achados macroscópicos, microscópicos e imuno-histoquímicos. Os achados macroscópicos e microscópicos revelaram a presença de neoplasias de glândula adrenal, incluindo carcinomas corticais (21%), adenomas corticais (69%) e feocromocitomas (10%). A análise estatística não mostrou diferenças significativas no tamanho do tumor. Histologicamente, a maioria das neoplasias corticais apresentou um padrão de crescimento sólido caracterizado como massas bem definidas organizadas em ninhos, cordões ou trabéculas intercaladas com estroma fibrovascular delicado. As células eram uniformes, circundadas por células ovais com citoplasma volumoso, levemente eosinofílicas, frequentemente multivacuoladas e com bordas indistintas. A distinção entre adenoma e adenocarcinoma cortical, na ausência de metástases, foi baseada na detecção de 3 ou mais dos seguintes critérios: padrão de crescimento difuso, invasão capsular, invasão vascular, predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear. A maioria dos feocromocitomas se expande da região medular e comprime o córtex, causando atrofia. Eles eram caracterizados por massas sólidas dispostas em ninhos delimitados por delicado estroma fibrovascular. As células eram pequenas, poliédricas, alongadas ou fusiformes com citoplasma granular. Em todos os casos, a imuno-histoquímica foi necessária para determinar o diagnóstico, pois havia grande semelhança com adenomas corticais. Um painel imuno-histoquímico composto por anticorpos contra melan A, sinaptofisina e cromogranina A foi considerado útil para classificar os tumores adrenais mais comuns em bovinos.

**Palavras-chave:** Bovino, feocromocitoma, adrenal, adenoma e carcinoma cortical

## **ABSTRACT**

Adrenal gland tumors in cattle, while relatively common, have been the subject of few comprehensive studies that describe their morphological characteristics and immunohistochemical profile. This study aims to fill this gap by providing a detailed description of the macroscopic, microscopic, and immunohistochemical aspects of adrenal gland neoplasms in cattle slaughtered in the state of Mato Grosso. The neoplasms were identified and characterized based on macroscopic, microscopic, and immunohistochemical findings. The macroscopic and microscopic findings revealed the presence of adrenal gland neoplasms, including cortical carcinomas (69%), cortical adenomas (21%), and pheochromocytomas (10%). Statistical analysis showed no significant differences in tumor size. Histologically, most cortical neoplasms presented a solid growth pattern characterized as well-defined masses organized in nests, cords, or trabeculae interspersed with delicate fibrovascular stroma. The cells were uniform, surrounded by oval-shaped cells with voluminous cytoplasm, slightly eosinophilic, often multivacuolated, and with indistinct borders. The distinction between adenoma and cortical adenocarcinoma, in the absence of metastases, was based on the detection of 3 or more of the following criteria: diffuse growth pattern, capsular invasion, vascular invasion, predominance of spindle cells, and nuclear pleomorphism. Most pheochromocytomas expand from the medullary region and compress the cortex, causing atrophy. They were characterized by solid masses arranged in nests delimited by delicate fibrovascular stroma. The cells were small, polyhedral, elongated, or spindle-shaped with granular cytoplasm. In all cases, immunohistochemistry was necessary to determine the diagnosis since there was great similarity with cortical adenomas. An immunohistochemical panel composed of antibodies against melan A, synaptophysin, and chromogranin A was considered useful for classifying cattle's most common adrenal tumors.

**Keywords:** Bovine, Pheochromocytoma, Adrenal, Adenoma and Cortical Carcinoma.

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Métodos imuno-histoquímicos	24
<b>Tabela 2.</b> Características macroscópicas dos tumores adrenais dos bovinos	29
<b>Tabela 3.</b> Características histológicas selecionadas em tumores adrenocorticais e tumores medulares de bovinos	30
<b>Tabela 4.</b> Resultados do painel imuno-histoquímico de bovinos com tumores adrenais	34

## Lista de figuras

- Figura 1.** Cortes histológicos de neoplasias adrenais 26
- Figura 2.** Cortes histológico de adenoma adrenocortical evidenciando células organizadas em cordões delimitados por delicado estroma fibrovascular 26
- Figura 3.** Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal 26
- Figura 4.** Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal 27
- Figura 5.** Cortes histológicos de carcinoma adrenocortical evidenciando massa neoplásica (N) invadindo a parede de uma veia (\*) em direção à luz do vaso (L). 27
- Figura 6.** Reações de imunohistoquímica demonstrando o padrão de marcação em adrenal normal de bovino sadio. 31
- Figura 7. Padrões de histológico e de marcação imunohistoquímica observado em adenoma adrenocortical, carcinoma adrenocortical e feocromocitoma em bovinos abatidos em frigorífico em Mato Grosso 33

## Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1. Morfologia da glândula adrenal	14
3.2. Neoplasias de cortex adrenal	15
3.3. Neoplasias da medula adrenal.	17
3.4. Diagnóstico de tumores adrenais	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1 Obtenção das amostras, avaliação macroscópica e destinos das carcaças	21
4.2. Avaliação histológica	22
4.3. Imunohistoquímica (IHQ)	23
4.4. Análise Estatística	24
5. RESULTADOS	25
6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÃO	38
8. REFERENCIAS	39

## 1. INTRODUÇÃO

Neoplasias com grande diversidade morfológica ocorrem em quase todos os animais, existindo diferenças de acordo com espécie, raça e localização. Portanto, uma visão muito mais ampla sobre a patologia comparada é primordial (BIASIBETTI et al., 2017; STEINER; BENGSTON, 1951). Estudos epidemiológicos são importantes para definir a ocorrência de diferentes tipos de tumores em uma população. A comparação da epidemiologia e da biologia das neoplasias entre humanos e animais é um processo valioso, capaz de identificar fatores de risco (CAPPELLERI et al., 2022; COTCHIN, 1962; MATTIUZZI; LIPPI, 2019; DORN, BERKELEY, 1967; TJALMA, 1968)

Foi percebido que, para obter uma visão ampla sobre as causas e a natureza do câncer no homem, os estudos das neoplasias, tanto espontâneas como experimentais em animais seriam de grande valia (COTCHIN, 1962). As populações de animais domésticos oferecem amplas oportunidades para a pesquisa do câncer. Em geral, o número de sujeitos é suficientemente grande para garantir um tamanho de amostra adequado. As muitas espécies e raças diferentes de animais, cada uma delas exposta e reagindo a diferenças de ambiente, dieta, configuração genética e estresse fisiológico, garantem oportunidade para a investigação crítica de muitos tipos de neoplasia conhecidos (COTCHIN, 1962; DORN, BERKELEY, 1967; TJALMA, 1963, 1968).

Nos últimos anos houve enormes avanços no diagnóstico e tratamento das neoplasias na medicina humana, no entanto os estudos em medicina veterinária, principalmente envolvendo animais de produção, não têm acompanhado este ritmo (CULLEN; BREEN, 2016). A literatura que relata tumores na espécie bovina é escassa e desatualizada (CAPPELLERI et al., 2022; VASCONCELOS et al., 2023). Portanto, embora as neoplasias possam ser menos frequentemente diagnosticadas em animais de produção em comparação com animais de companhia, sua importância não deve ser subestimada. O impacto econômico, os desafios no diagnóstico e manejo, as considerações éticas de bem-estar animal e as implicações para a saúde pública ressaltam a necessidade de atenção contínua e esforços dedicados para abordar as neoplasias em animais de produção (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013; TESSELE; BARROS, 2016; VASCONCELOS et al., 2023).

A maioria das informações de tumores são geradas a partir de trabalhos oriundos de laboratórios de patologia (RAMOS et al., 2008; BASTIANELLO, 1983;

CARVALHO, 2014; ALVAREZ et al., 1982; KIMURA et al., 2012; LUCENA et al., 2011; MOHARRAM et al., 2019; NAGHSHINEH; HAGDOOST; DEZFULI, 1991; PEROSA et al., 2024; REIS et al., 2017; RONDELLI et al., 2017; SHARMA et al., 2019; SHRUTHI PJ, 2018; TESSELE; BARROS, 2016; VASCONCELOS et al., 2023). Estes estudos relataram a presença de tumores em uma porcentagem que varia entre 1% e 14% em bovinos submetidos a investigação a partir de lesões selecionadas (RAMOS et al., 2008; CARVALHO, 2014; LUCENA et al., 2011; MURRAY, 1968; NAGHSHINEH; HAGDOOST; DEZFULI, 1991; PEROSA et al., 2024; REIS et al., 2017; RONDELLI et al., 2017). No entanto, as informações obtidas dessas fontes fornecem pouca indicação da prevalência em populações de animais por vezes sendo apenas de relato de casos.

Os abatedouros frigoríficos são importantes fontes de detecção de doenças em animais de produção através de estudos retrospectivos e prospectivos nesses locais (LUCENA et al., 2011; TESSELE; BARROS, 2016). Existem vários estudos sobre tumores em frigoríficos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; DUKES; BUNDZA; CORNER, 1982; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; PLUMMER, 1948; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982), mas poucos possibilitam calcular uma prevalência na população.

A prevalência de tumores é extremamente variável em pesquisas realizadas em bovinos abatidos, variando de 2,5 por 100.000 a 279 por 100.000 bovinos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982). Os tumores da glândula adrenal estão entre os mais frequentemente observados em bovinos nas linhas de abate (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; DUKES; BUNDZA; CORNER, 1982; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; PLUMMER, 1948, 1956; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982).

Por outro lado, são raros os estudos envolvendo seus aspectos epidemiológicos, histológicos, imunohistoquímicos e de microscopia eletrônica (BIASIBETTI et al., 2017; EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; WRIGHT; CONNER, 1968), especialmente relacionados à imunohistoquímica e

microscopia eletrônica em carcinomas corticais que somam poucos casos (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013).

O objetivo deste estudo foi descrever os aspectos macroscópicos, microscópicos e imunohistoquímicos de tumores de glândula adrenal de bovinos abatidos em frigoríficos no Estado de Mato Grosso.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo geral**

Descrever os aspectos macroscópicos, microscópicos e imunohistoquímicos de neoplasias de glândula adrenal de bovinos abatidos em frigoríficos no Estado de Mato Grosso.

### **2.2. Objetivos específicos**

Caracterizar os aspectos macroscópicos de neoplasias adrenais em bovinos abatidos em frigoríficos em Mato Grosso.

Caracterizar os aspectos microscópicos de neoplasias adrenais em bovinos abatidos em frigoríficos em Mato Grosso.

Caracterizar os aspectos imunohistoquímicos de neoplasias adrenais em bovinos abatidos em frigoríficos em Mato Grosso.

## **3. REVISÃO DA LITERATURA**

### **3.1. Morfologia da glândula adrenal**

A glândula adrenal é um regulador da homeostase corporal e da resposta endócrina ao estresse que, histologicamente, é dividido em córtex e medula. O córtex adrenal é composto pelas zonas glomerulosa, fasciculada e reticular (BECHMANN et al., 2021). A zona glomerulosa produz mineralocorticóides que ajudam a regular a pressão arterial e o equilíbrio eletrolítico; a zona fasciculada produz glicocorticóides responsáveis pela regulação do metabolismo e regulação do sistema imunológico, e a zona reticular é a camada mais interna que produz andrógenos que são convertidos em hormônios sexuais funcionais nas gônadas. A região medular é composta por células cromafins que secretam catecolaminas, epinefrina e norepinefrina em resposta ao estresse agudo (LIYANARACHCHI; DEBONO, 2017). O córtex é derivado da mesoderme, que produz esteroides, e a medula, que produz catecolaminas, é derivada da crista neural (HAASE; WILLENBERG; BORNSTEIN,

2011). Durante a organogênese adrenal, interações estreitas são necessárias para a diferenciação e morfogênese adequadas entre a medula e o córtex. Na idade adulta, a comunicação entre a medula e o córtex garante função regular e homeostase (BECHMANN et al., 2021; HAASE; WILLENBERG; BORNSTEIN, 2011).

### **3.2. Neoplasias do córtex adrenal**

As neoplasmas da glândula adrenal em animais estão entre as neoplasias endócrinas mais comuns. Na literatura veterinária há duas formas descritas: Adenomas e carcinomas adrenocorticais (LABELLE et al., 2004; METE et al., 2022a; ROSOL; MEUTEN, 2016). Estas neoplasias são descritas mais comumente em furões e cães idosos com mais de 8 anos e relatado esporadicamente em gatos, cavalos, bovinos, caprinos e ovinos (BEUSCHLEIN et al., 2012; BIELINSKA et al., 2009; GROSSI et al., 2013; LABELLE et al., 2005).

Graças ao avanço de tecnologias como a medicina nuclear, cirurgia, histologia, imunohistoquímica e biologia molecular, é possível realizar uma descrição mais detalhada dessas condições (KEBEBEW, 2021; METE et al., 2018, 2022a). Nos estudos de patologia em medicina veterinária, o diagnóstico das neoplasias varia entre 8,74% e 14% em bovinos em amostras selecionadas de lesões suspeitas (CAPPELLERI et al., 2022; ALVARES et al., 1982; LUCENA et al., 2011; NAGHSHINEH et al., 1991).

A prevalência de tumores adrenais primários é de 0,17 a 0,76% de todas as neoplasias em cães (MASSARI et al., 2011; LABELLE et al., 2005). A prevalência de neoplasias é extremamente variável em pesquisas realizadas em bovinos abatidos oscilando entre 2.5 e 279 por 100.000 bovinos (BRANDLY et al., 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; RADKOWSKI et al., 2010; SCHAMBER et al., 1982). Considerando apenas as neoplasias de adrenal, a amplitude pode ser ainda maior variando de 0.12 a 948 neoplasias de adrenal para cada 100.000 cabeças de bovinos abatidas (BIASIBETTI et al., 2017; BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI et al., 1970; WRIGHT; CONNER, 1968).

Em veterinária, macroscopicamente os adenomas corticais são nódulos únicos e bem delimitados. Os adenomas corticais de maior tamanho são de cor amarela a vermelha que distorce o contorno externo da glândula afetada e são totalmente ou parcialmente encapsulados. Adenomas do parênquima cortical adjacente se comprimem e às vezes a neoplasia pode se estender para a região

medular. Os adenomas menores são mais amarelos ou semelhantes ao córtex adrenal normal devido ao alto conteúdo de lipídios. Geralmente são circundados por um córtex levemente comprimido e pode ser difícil distinguir das áreas de hiperplasia cortical nodular (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Os carcinomas corticais são maiores que os adenomas. Em animais são formados por um tecido friável de cor amarelo a vermelho pardo afetando a maior parte da totalidade da glândula adrenal. Normalmente está invadindo a cápsula e tecidos adjacentes, como a veia cava posterior, onde pode formar um grande trombo de células tumorais e causar metástases para outros órgãos. Esses carcinomas podem atingir um tamanho considerável em bovinos (até 10 cm ou mais de diâmetro) com múltiplas áreas de mineralização. Os adenomas corticais adrenais podem ser funcionais (secretores de cortisol) e os carcinomas estão associados a uma atrofia cortical profunda da glândula adrenal contralateral devido à inibição por retroalimentação negativa da secreção pituitária de ACTH por níveis elevados de cortisol no sangue (KIUPEL, 2008; METE et al., 2022a; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Microscopicamente os adenomas corticais são neoplasias bem diferenciadas formados em trabéculas largas, cordões curtos ou ninhos de tamanho variável separados delicado tecido fibrovascular ou pequenos espaços vasculares. Geralmente os espaços vasculares podem estar dilatados e preenchidos com sangue, o que pode constituir uma porção significativa de alguns adenomas corticais (HODGSON et al., 2019; KIUPEL, 2008; METE et al., 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

As células neoplásicas assemelham-se às células secretoras da zona fasciculada e reticular não neoplásica, caracterizadas por citoplasma eosinofílico abundante, muitas vezes vacuolizado com núcleos uniformes, redondos ou ovais, com pequenos nucléolos em forma de ponto. Adenomas maiores apresentam áreas de necrose, mineralização e hemorragia de tamanho variável; a hematopoiese extramedular é um achado característico nos adenomas corticais adrenais (GROSSI et al., 2013; KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016). Os carcinomas adrenocorticais são formados por células epiteliais mais pleomórficas, quando comparadas às descritas nos adenomas. Geralmente estão organizadas em um padrão de crescimento heterogêneo que inclui trabéculas, lobos e feixes de células neoplásicas separadas por tecido fibrovascular de espessura variável. As células neoplásicas são poliédricas, possuem núcleos vesiculares com nucléolos

proeminentes e citoplasma vacuolizado densamente eosinofílico. Ocasionalmente, pigmento granular grosso, compatível com lipofuscina, é observado no citoplasma (LAM, 2017; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Pleomorfismo nuclear e hiperchromasia podem ser características marcantes, figuras mitóticas são relativamente comuns em carcinomas corticais e podem apresentar-se em formas bizarras e atípicas. As células neoplásicas frequentemente invadem e se estendem aos tecidos adjacentes e grandes áreas de necrose e hemorragia são comuns (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013; KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Carcinoma cortical adrenal com diferenciação mixóide é um carcinoma cortical adrenal com alto potencial metastático no qual as células neoplásicas secretam um material mucinoso que forma espaços císticos entre camadas de células. Ele é caracterizado por lâminas trabeculares e pequenos cordões, formados por células poligonais com citoplasma granular e núcleo central redondo com pouca atipia celular e nuclear, bem como raras figuras mitóticas. As células neoplásicas frequentemente formam estruturas ou espaços semelhantes a lúmens ou espaços com tecido fibrovascular mínimo. Essas estruturas em forma de lúmen contêm um material mucinoso que consiste em mucopolissacarídeos ácidos positivos para alcian blue (pH 2,5) que formam lagos entre as camadas celulares (ATTIPA et al., 2018; GROSSI et al., 2013; HOUSEHOLDER et al., 2019). Essas células geralmente estão intimamente associadas a áreas de células adrenocorticais neoplásicas mais típicas (células cubóides com abundante citoplasma eosinofílico vacuolizado e um núcleo central com pouca atipia)(GRAADT et al., 1999; GROSSI et al., 2013; KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016).

### **3.3. Neoplasias da medula adrenal**

Os feocromocitomas são as neoplasias mais comuns da medula adrenal em animais e apresentam baixa incidência e raramente são descritos em animais, sendo por vezes casos únicos (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016). Por outro lado, em bovinos, são descritos com certa frequência em levantamentos de neoplasias em animais abatidos em frigoríficos (BIASIBETTI et al., 2017; BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; WRIGHT; CONNER, 1968). São descritos em camundongos, ratos, cães, porcos, cavalos, leopardos e bovinos (BARTHEZ et al., 1997; BIASIBETTI et al., 2017; CORNER et al., 2017; GREENE;

TISCHLERT, 1976; GROSSI et al., 2013; LUETHY et al., 2016; MARTINELLI et al., 2020; MARTÍNEZ et al., 2012).

Macroscopicamente, os feocromocitomas geralmente são unilaterais, mas podem ser bilaterais. O tamanho varia podendo ser grandes (10 cm ou mais de diâmetro) afetando toda a glândula adrenal e às vezes pode ser encontrado como um pequeno nódulo, afetando um polo da glândula adrenal que pode ser rodeado por uma borda fina, comprimindo a córtex adrenal (ROSOL; MEUTEN, 2016). Os feocromocitomas grandes são multilobulados e de cor clara a marrom ou rosados.

Os feocromocitomas malignos possuem uma cápsula fibrosa delgada com evidência de invasão de tecidos circundantes. Exercem pressão sobre a veia cava posterior o infiltra-se no vaso, formando um trombo de células tumorais. Esses trombos podem formar apêndices relativamente largos que se projetam para a luz de grandes vasos (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016). Uma ajuda no diagnóstico macroscópico do feocromocitoma é a cromorreação de Henle com dicromato de potássio ou iodato. A aplicação da solução de Zenker na superfície de corte de um tumor recém-seccionado resulta na oxidação de catecolaminas, formando um pigmento marrom escuro em 10-25 minutos (ROSOL; MEUTEN, 2016).

Histologicamente feocromocitoma benigno caracteriza-se como uma neoplasia da medula adrenal altamente celular, expansiva, não encapsulada ou parcialmente encapsulada e não invasiva. Ela é composta por células cromafins descritas como células epiteliais secretoras redondas a poliédricas com citoplasma palidamente eosinofílico, finamente granular e núcleos redondos hipercromáticos. As células neoplásicas são subdivididas em ninhos ou lóbulos de células de tamanho variável delimitadas por um delicado estroma fibrovascular. Um padrão de células fusiformes com depósitos amilóides raramente estão presentes (GROSSI et al., 2013; M KIUPEL, 2008; METE et al., 2022). O feocromocitoma maligno é composta por cromafins que invadem a cápsula adrenal e/ou os vasos linfáticos e vasos adjacentes. Eles tendem a ser grandes, invadir a cápsula da glândula adrenal, estender-se para fora da glândula e comprimir e invadir a veia cava posterior. Alguns metastatizam para locais distantes, como linfonodos regionais, fígado e pulmões. Neoplasias maiores apresentam áreas de hemorragia e necrose. Comumente, os feocromocitomas malignos são compostos por uma mistura de células pequenas que se assemelham muito às células cromafins e células maiores e mais pleomórficas com maior atividade mitótica do que aquelas descritas nos feocromocitomas

benignos. Essas células estão dispostas em lóbulos menores, camadas sólidas e paliçadas ao longo de sinusóides. Contudo, a malignidade dos feocromocitomas só é estabelecida de forma confiável pela presença de metástase e/ou invasão local através da cápsula adrenal, as áreas confluentes de necrose também sugerem malignidade (GROSSI et al., 2013; KIUPEL, 2008; METE et al., 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

O glanglioneuroma é uma neoplasia benigna de origem ectodérmica que exhibe crescimento expansivo e pode atingir tamanhos variados e comprimir o córtex adrenal. Ele é formado por células ganglionares e estroma abundante composto por processos neuríticos, acompanhados por células de Schwann e células perineuriais (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016).

O neuroblastoma é uma neoplasia primitiva de origem ectodérmica composta por células neuroblásticas com mínima diferenciação de células ganglionares dentro de um estroma com poucas células de Schwann. Os neuroblastomas ocorrem como massas expansivas centrais que comprimem o córtex adrenal adjacente e se estendem para fora da glândula adrenal. Eles são compostos de células pequenas, semelhantes a linfócitos, que possuem escassa quantidade de citoplasma e núcleos pequenos, redondos a ovóides, com cromatina dispersa e pontilhada. As células estão dispostas em lâminas sólidas, ninhos ou lóbulos bem definidos, demarcados por delicados septos fibrovasculares e tendem a formar rosetas e pseudoroetas (KIUPEL, 2008; METE et al., 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

### **3.4. Diagnóstico de tumores adrenais**

A histologia, enquanto ferramenta diagnóstica, é crucial na identificação e caracterização das neoplasias adrenais em animais domésticos. O patologista veterinário, especializado em patologia endócrina, utiliza uma série de parâmetros morfológicos para diferenciar entre adenomas e carcinomas corticais, baseando-se em critérios de malignidade estabelecidos. Contudo, o diagnóstico histológico pode não ser suficientemente específico, tornando-se um desafio interpretar os achados. Por isso, a imunohistoquímica emerge como uma técnica complementar valiosa, permitindo a identificação de marcadores específicos que ajudam a determinar a origem da neoplasia, seja do córtex ou da medula adrenal. Esta abordagem integrada potencializa a precisão diagnóstica, facilitando a escolha de uma terapia adequada e melhorando o prognóstico para o paciente (FUJII et al., 2024; LABELLE et al., 2005;

METE et al., 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Adenoma e carcinoma adrenocorticais em animais, geralmente expressam melan A, Vimentina e sinaptofisina (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016).

O marcador melan A é um antígeno de melanoma conhecido como produto do gene MART1. Sua biologia ainda não está caracterizada, mas sua localização está presente nos melanossomas e no retículo endoplasmático da linhagem dos melanócitos. Também é expresso em células produtoras de esteroides, o córtex adrenal, testículos, ovários em cães e gatos (METE et al., 2018, 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

A vimentina é o principal membro da família dos filamentos intermediários e está presente em quase todos os tipos de células fetais durante o desenvolvimento inicial. Devido à sua onipresença, a vimentina é usada principalmente para discriminar entre tumores epiteliais e mesenquimais (BERR et al., 2023). Sabe-se que o marcador vimentina é um marcador mesenquimal que está envolvido na migração, invasão e metástase tumoral. Sua expressão foi relatada no comportamento biológico e preditor de diversos tumores como neuroendócrino colorretal, gástrico e pancreático (ZHOU et al., 2021).

A sinaptofisina é uma glicoproteína de membrana que se liga ao cálcio nos grânulos neuro-secretóres e nas vesículas sinápticas dos neurônios. Ela atua como um marcador neuroendócrino de amplo espectro que pode estar presente nas células e neoplasias adrenocorticais (METE et al., 2018, 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Os feocromocitomas, neoplasias mais comuns da medula da adrenal, em animais, expressam marcação positivas para cromogranina A, Sinaptofisina e vimentina (MALEKI et al., 2021).

A cromogranina A é um grupo de proteínas monoméricas, composto pelas cromograninas A, B e C, faz parte do extrato proteico solúvel dos grânulos neurosecretóres das células neuroendócrinas. Dentre essas, a cromogranina A é a mais abundante e importante, sendo considerada o marcador mais específico para a diferenciação neuroendócrina. Embora os anticorpos monoclonais dirigidos contra a CgA sejam altamente específicos, a sensibilidade desses anticorpos para a detecção de tumores neuroendócrinos pode ser relativamente baixa, variando entre 50% e 75% (ROSOL; MEUTEN, 2016). A cromogranina A é presente nos grânulos secretóres de células endócrinas como na medula adrenal, glândula pituitária, células C da tireoide, ilhotas pancreáticas, células endócrinas do trato gastrointestinal e

nervos simpáticos. Semelhante à cromogranina A, a sinaptofisina é uma glicoproteína de membrana que se liga ao cálcio nos grânulos neuro-secretore e nas vesículas sinápticas dos neurônios e atua como um marcador neuroendócrino de amplo espectro, porém, embora ofereça maior sensibilidade, possui menor especificidade em comparação ao Cromogranina A. Portanto, seu uso diagnóstico requer combinação com outros marcadores neuroendócrinos ou a presença de um padrão neuroendócrino morfológico distinto para confirmar o diagnóstico (METE et al., 2018, 2022; ROSOL; MEUTEN, 2016).

Apesar de não determinar histogênese o Ki-67 é um importante marcador de neoplasias adrenais. Ki-67 é uma proteína nuclear associada à proliferação de células tumorais, conhecida como fator prognóstico em diversos tipos de câncer associado a um comportamento biológico maligno agressivo (CHEUNG et al., 2018)(CHEUNG et al., 2018). Alto índice de marcação Ki-67 tem sido associado à malignidade em neoplasias de adrenal em humanos (LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2018, 2022) e animais (LABELLE et al., 2005).

O citoesqueleto é composto de filamentos intermediários, responsável pela integridade mecânica da célula que forma os microfilamentos e microtúbulos, sendo os filamentos intermediários os mais diversos em tipos conhecidos como citoqueratina e vimentina, esses estão presentes em todas as células e brindam suporte nuclear.

Como a citoqueratina e a vimentina, são específicos de tecidos: a citoqueratina é encontrada em células epiteliais que ajudam na adesão célula-célula e serve como marcador para o fenotipo de células epiteliais usadas como marcador de córtex e sendo negativo para medula adrenal- enquanto a vimentina está em células mesenquimatosas, proporcionando resistência ao estresse durante a migração celular além de ser um marcador para diferenciar células de origem epitelial. Sendo como um marcador em neoplasias de córtex, além de marcar um 25% de feocromocitomas em humanos (BARAK et al., 2004).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Obtenção das amostras, avaliação macroscópica e destino das carcaças**

Para este estudo foram selecionadas 42 neoplasias da adrenal obtidas de bovinos submetidos ao abate em frigoríficos sob inspeção estadual e federal no Estado de Mato Grosso. Trinta e uma amostras foram coletadas entre os anos de 2011 e 2013 em um frigorífico sob inspeção federal em Sinop, neste primeiro momento não foi contabilizado o total de bovinos abatidos no período. Foram coletadas na linha de abate para as coletas foi respeitado o padrão de funcionamento normal do abate na unidade, quando identificado, durante do abate, alteração compatível com neoplasia de adrenal, era realizada a mensuração e descrição macroscópica da massa.

O segundo período de coleta, agosto de 2019 a novembro de 2020, ocorreu em indústrias frigoríficas das quatro principais regiões (Sinop, Alta Floresta, Rondonópolis, Primavera do Leste, Barra do Garças, Nova Xantina, Pontes e Lacerda) onde foram 8 frigoríficos de pecuária do Estado de Mato Grosso. A escolha desses frigoríficos, para cada região, levou em consideração o maior número de bovinos abatidos sob inspeção estadual e federal, segundo registro do Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso (inspeção estadual), e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (inspeção federal), sendo selecionada uma indústria do sistema de inspeção federal e uma do serviço de inspeção sanitária estadual para cada região. No período foram coletadas 11 neoplasias adrenais em uma população total de 1.536.636 bovinos abatidos.

Para as coletas foi respeitado o padrão de funcionamento normal do abate em cada unidade. Quando identificado, durante do abate, alteração compatível com neoplasia de adrenal, era realizada a mensuração e descrição macroscópica da massa. O cálculo da idade dos animais foi realizado observando o desgaste dos dentes, na linha de abate e utilizou-se uma fórmula dentária para calcular a idade aproximada dos bovinos, seguindo a metodologia descrito por (WHITING et al., 2013). A média de idade e o desvio padrão foram calculados, além que foram cadastrados dados como sexo, quando foram observados metástase na observação da carcaça foram coletados para avaliação macro e microscópica, anotava-se ainda a destinação dada a carcaça determinada pelo serviço de inspeção. Após a avaliação macroscópica, fragmentos da área suspeita foram coletados em formalina a 10%

tamponada e enviadas ao Laboratório de patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (LPV-UFMT) para complementação diagnóstica.

#### **4.2. Avaliação histológica**

Ao serem encaminhados ao LPV-UFMT as amostras foram processadas rotineiramente para avaliação histopatológica conforme segue: desidratação em soluções crescentes de álcool etílico a 70%, 80%, 90% e 100%, diafanização em xileno a 100% e inclusão em parafina histológica a 70°C. Em seguida, foram confeccionados blocos de parafina, posteriormente cortados em micrótomo manual na espessura de 5 micrômetros. Os cortes obtidos foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina. Quando necessário, utilizou-se as técnicas do ácido periódico de Schiff (PAS) para caracterizar neoplasias com diferenciação mixóide e Von Kossa para verificar presença de mucopolissacarídeos ou cálcio, respectivamente (SCHNEIDER, 2021; ZAKOUT et al., 2024)

Neoplasias adrenocorticais, na ausência de metástases, foram consideradas malignas quando expressassem pelo menos três dos critérios histológicos preconizado por (GROSSI et al., 2013) para bovinos, baseado no sistema de Weiss: invasão vascular, invasão extensiva na cápsula, padrão de crescimento difuso (ausência de organização em ninhos, trabéculas ou cordões), predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear. Os outros parametros histologicos foram classificados concordo a (KIUPEL., 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016). Entanto a imunohistoquímica foi baseado nos trabalhos de (GROSSI et al., 2013; METE et al., 2018, 2022).

#### **4.3. Imunohistoquímica (IHQ)**

Todas as amostras foram submetidas a imuno-histoquímica utilizando anticorpos primários anti: Ki-67, Citoqueratina, Vimentina, Melan A, Cromogranina A (GRG-A), e Sinaptofisina. Todas as amostras foram cortadas em 5µm e montadas em lâminas histológicas positivadas. Após desparafinação e reidratação, as peroxidases endógenas foram bloqueadas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% por 20 minutos. A recuperação antigênica foi realizada com tampão citrato (2,1 gramas de ácido cítrico em 1 litro de água destilada, Tween 20 a 0,05%, pH 6,0). O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado através da incubação com leite Molico desnatado 5%. Os cortes foram incubados com anticorpo primário em câmara úmida por 12 horas em geladeira. Para controles positivos, foram utilizados tecido adrenal bovino saudável. Nos controles negativos os anticorpos primários foram substituídos por solução salina tamponada. Após lavagem com solução salina tamponada, foi realizada ainda a incubação com

anticorpo secundário biotilado (Dako LSAB2 System Streptavidin-HRP, Dako North America, Califórnia, EUA). Adicionou-se 3-amino-9-etilcarbazol (AEC) em solução tampão de substrato (Dako AEC Substrate Chromogen, Dako North America, Califórnia, EUA) que foi incubado com cromogênio e deixou-se reagir até ficar na cor marrom. Após a lavagem, os cortes foram contrainformados com hematoxilina, enxaguados com água corrente, desidratados com álcool e xilol, montados com lamínulas.

Para a avaliação qualitativa, a imunorreacção foi classificada como: coloração negativa (-), fracamente positiva (+), moderadamente positiva (++) , fortemente positiva (+++). Foi realizada avaliação quantitativa para Ki-67, utilizando o software QuPath 0.4.4. Empregou-se contagem semiautomática de um mínimo de 1.000 núcleos por amostra em áreas de maior densidade de marcação. O índice de proliferação Ki-67 foi definido como o número de núcleos positivos para Ki-67 (células tumorais) dividido pelo número total de células tumorais contadas, expresso como uma porcentagem foi classificada como: <1%, 1-3% e >3%, seguindo metodologia de (LABELLE et al.,2004 e WANG et al.,2022)

**Tabela 1. Anticorpos, clone, diluição, recuperação antigênica e sistema de detecção utilizado na IHQ**

Anticorpos	Clone	diluição	Recuperação de antígeno	Sistema de Detecção
Ki-67	MIB-1	Pronto para uso		
citoqueratina	AE1/AE3	1:200	Tampão de citrato, pH 6.0	Biocare Medical MACH 4 Universal HRP- Polymer, California, USA
vimentina	V9	1:100	Tris EDTA, pH 9.0	
melan A	A103	1:100		
cromogranina A	LK2H10 + PHE5	Pronto para uso		
sinaptofisina	DAK-SYNAP	Pronto para uso		

Ki-67, cytoqueratin, vimentin, melan A, Synaptophysin (Aligent Dako, Santa Clara, United States); Chromogranin A (Biocare Medical Emergo Europe, westervoortsedijk, The Netherlands).

#### 4.4. Análise Estatística

Para verificar se havia relação entre os tamanhos das massas e o tipo de neoplasia, após a avaliação da normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

## 5. RESULTADOS

A prevalência de neoplasias de adrenal em bovinos em 2020 foi de 0,72/100.000 cabeças abatidas. Não foi possível calcular a frequência com relação às amostras obtidas entre 2011 e 2013. Dentre os bovinos que apresentaram neoplasia de adrenal, a idade variou entre 3 e 12 anos com média de 6,3 +/-2,6 anos. As fêmeas representaram 95% das amostras (40/42). No total foram encontradas 42 neoplasias de adrenal distribuídas em 29 adenomas de córtex (69%), nove carcinomas corticais (21%) e quatro feocromocitomas (10%).

Com relação ao destino das carcaças na linha de abate, 10/42 (24%) foram liberados; 7/42(17%) carcaças foram desviadas para graxaria; 25/42(59%) foram destinadas à produção de conserva. As características macroscópicas e destino das carcaças encontram-se representadas na Tabela 2.

Macroscopicamente as neoplasias eram caracterizadas como massas arredondadas a ovaladas com tamanho variando de 2,5 cm a 25 cm de diâmetro, com coloração variando entre brancacenta, marrom ou vermelho escuro. As massas apresentavam crescimento expansivo, as vezes eram encapsuladas e possuíam consistência variando entre friável e firme. Não houve correlação estatística entre o tamanho e o tipo de neoplasia. As características macroscópicas encontram-se dispostas na Tabela 2.

Histologicamente a maioria (36/38) das neoplasias corticais apresentaram padrão de crescimento sólido caracterizados como massas bem delimitadas, organizadas em ninhos, cordões ou trabéculas entremeadas e delimitadas por pequenos espaços vasculares ou delicado estroma fibrovascular (Figuras 1 e 2). Os carcinomas muitas vezes apresentavam padrão de crescimento predominantemente difuso (não organizado em ninhos, cordões ou trabéculas) (Figura 1b) associado ou não à invasão capsular e/ou vascular. As células eram uniformes, arredondadas a ovaladas, por vezes fusiformes, com citoplasma volumoso, levemente eosinofílico, frequentemente multivacuolizado e com bordos indistintos. Frequentemente, tanto adenomas (18/29) como carcinomas (6/9) apresentavam, aleatoriamente, espaços entre as células tumorais que geralmente eram preenchidos por material hialino que se corava pelo método de PAS. Essas áreas, muitas vezes, apresentavam grânulos de mineralização que se coravam pelo método de Von Kossa, em intensidade variável (Figura 3). Em dois casos o diagnóstico baseou-se na presença de metástases

(Figura 4) e em um deles havia evidente invasão vascular (Figura 5). As características histológicas encontram-se sumarizadas na Tabela 3.

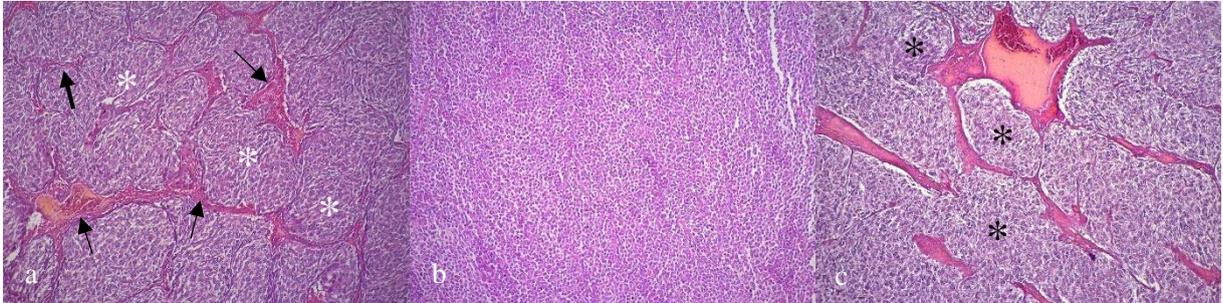


Figura 1. Cortes histológicos de neoplasias adrenais. a- Adenoma caracterizado por células poligonais a alongadas arranjadas em ninhos (\*) delimitados por pequenos espaços vasculares (setas finas) ou delicado estroma fibrovascular (seta grossa). b- Adenocarcinoma composto por células poligonais em arranjo difuso. c- Feocromocitoma formado por células poliédricas a fusiformes delimitadas por delicado estroma fibrovascular ou espaços vasculares (padrão zellballen) (\*). HE, 10x.

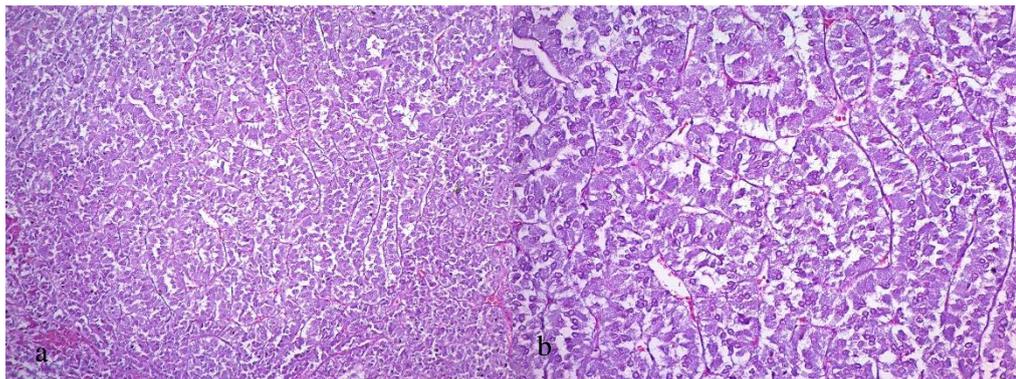


Figura 2. Cortes histológico de adenoma adrenocortical evidenciando células organizadas em cordões delimitados por delicado estroma fibrovascular (a e b). HE, 10x e 20x.

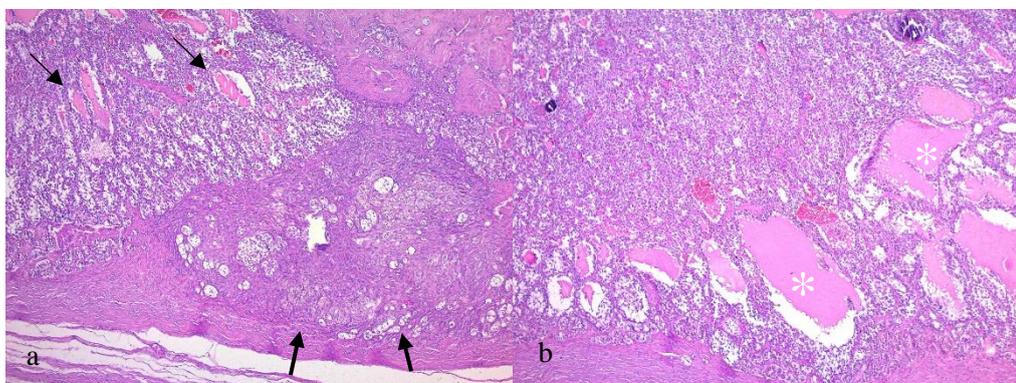


Figura 3. Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal. a- Carcinoma apresentando invasão na cápsula (setas grossas) e áreas preenchidas por conteúdo hialino (setas finas). b- Detalhe evidenciando várias áreas com deposição de material hialino (\*). HE, 2,5 e 5x.

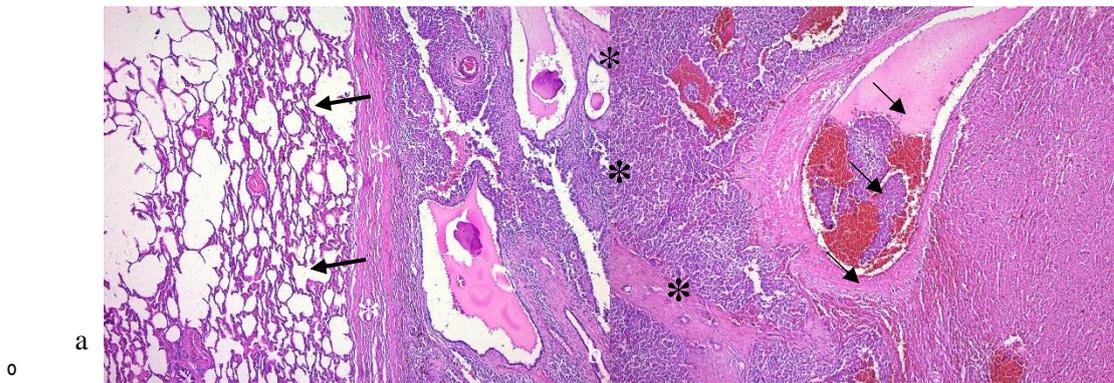


Figura 4. Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal. a- Carcinoma (\*) apresentando metástase comprimindo parênquima pulmonar adjacente (setas grossas). Carcinoma (\*) apresentando metástase comprimindo parênquima hepático adjacente (setas finas). HE, 5x.

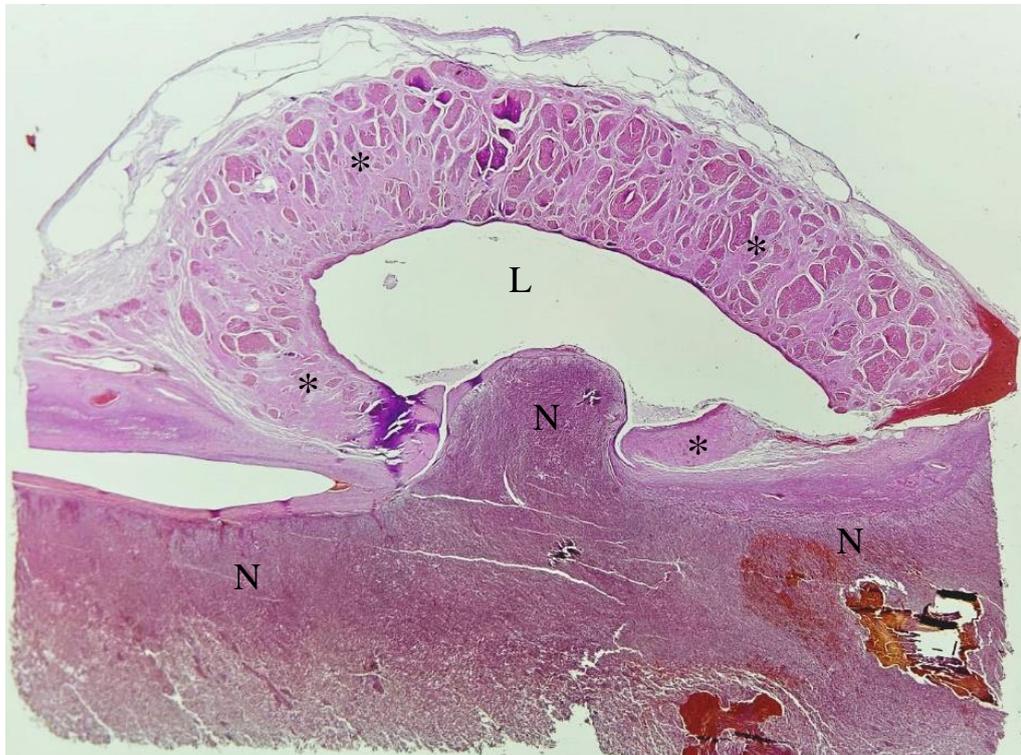


Figura 5. Cortes histológicos de carcinoma adrenocortical evidenciando massa neoplásica (N) invadindo a parede de uma veia (\*) em direção à luz do vaso (L). HE, imagem submicroscópica.

A maioria dos feocromocitomas se expandiam a partir da região medular e comprimiam o córtex causando sua atrofia. Eram caracterizados por massas sólidas, arranjadas em ninhos delimitados por delicado estroma fibrovascular (padrão Zellballen). As células eram pequenas, em formato poliédrico, alongado ou fusiforme

com citoplasma granular. Em todos os casos foi necessário a utilização de imunohistoquímica para determinar o diagnóstico, uma vez que havia grande semelhança com os adenomas corticais (Figura 7).

**Tabela 2.** Sexo, idade, características macroscópicas dos tumores adrenais dos bovinos e destino das carcaças

	Neoplasias corticais		Feocromocitoma
	Adenoma	Carcinoma	
	29	9	4
Macho	1	1	0
Fêmea	28	8	4
Variação da idade /média anos/desvio padrão	5-5/5+/-0	3-12/6+/-2,6	5-12/7,6+/-3
Variação de tamanho /média cm/desvio padrão	2.5-20/8,4+/-4,8	3-17.5/9,6+/-4,2	6.0-25/12,5+/-10,8
Presença capsula	5/29	4/9	0/4
<b>Coloração</b>			
Vermelho-escuro	7/29	3/9	1/4
Marrom	9/29	2/9	2/4
Branca	13/29	4/9	1/4
<b>Consistência</b>			
Friável	15/29	7/9	2/4
Macia	8/29	2/9	0/4
Firme	6/29	0/9	2/4
Metástase	0/10	2/9	0/4
Destino das metástases	-	Fígado (1/9) e pulmão (1/9)	-
	<b>Destino da carcaça</b>		
Liberado	6/29	3/9	1/4
Conserva	18/29	4/9	3/4
Graxaria	5/29	2/9	0

**Tabela 3.** Características histológicas observadas em tumores adrenocorticais e tumores medulares de bovinos

Tipo de Neoplasia	Neoplasia cortical		Feocromocitoma
	Adenoma	Carcinoma	
Número de casos	29	9	4
	<b>Padrão de Crescimento</b>		
Ninhos, corões ou trabéculas	29/29	7/9	4/4
Difuso*	-	2/9	-
	<b>Particularidades</b>		
Necrose	6/29	4/9	1/4
Invasão vascular*	0/29	4/9	0/4
Invasão capsular*	2/29	8/9	3/4
Calcificações	6/29	1/9	0/4
Lagos hialinos	18/29	6/9	0/4
Células fusiformes*	19/29	6/9	4/4
Células poligonais	10/29	3/9	0/4
Média Mitose por 2,37mm <sup>2</sup>	0	0.33	0
Mitose atípica	1/29	1/9	0/4
Anisocitose	19/29	9/9	4/4
Anisocariose	27/29	9/9	4/4
Pleomorfismo nuclear*	19/29	9/9	4/4

\* Na ausência de metástases adenomas respeito de carcinomas, foram consideradas malignas quando expressassem pelo menos três dos critérios histológicos preconizado por (GROSSI et al., 2013) para bovinos, baseado no sistema de Weiss.

Nas glândulas adrenais bovinas normais o anticorpo anti-melan A marcou difusamente o citoplasma das células das regiões, glomerular, fascicular e reticular (figura 6 a-b). Por sua vez, os anticorpos sinaptofisina (figura 6 c-d) e CRG-A (figura 6 e-f) apresentaram imunomarcação difusa de grânulos citoplasmáticos das células da região medular. O anticorpo anti vimentina proporcionou marcação citoplasmática difusa no córtex, com marcação fraca na região glomerular e forte nas regiões fascicular e reticular. Além disso apresentou marcação forte no tecido estromal da medula. Não houve imunomarcação por anticorpos contra citoqueratina na região medular ou cortical da glândula adrenal normal, no entanto houve forte marcação da capsula. (figura 6 g-h).

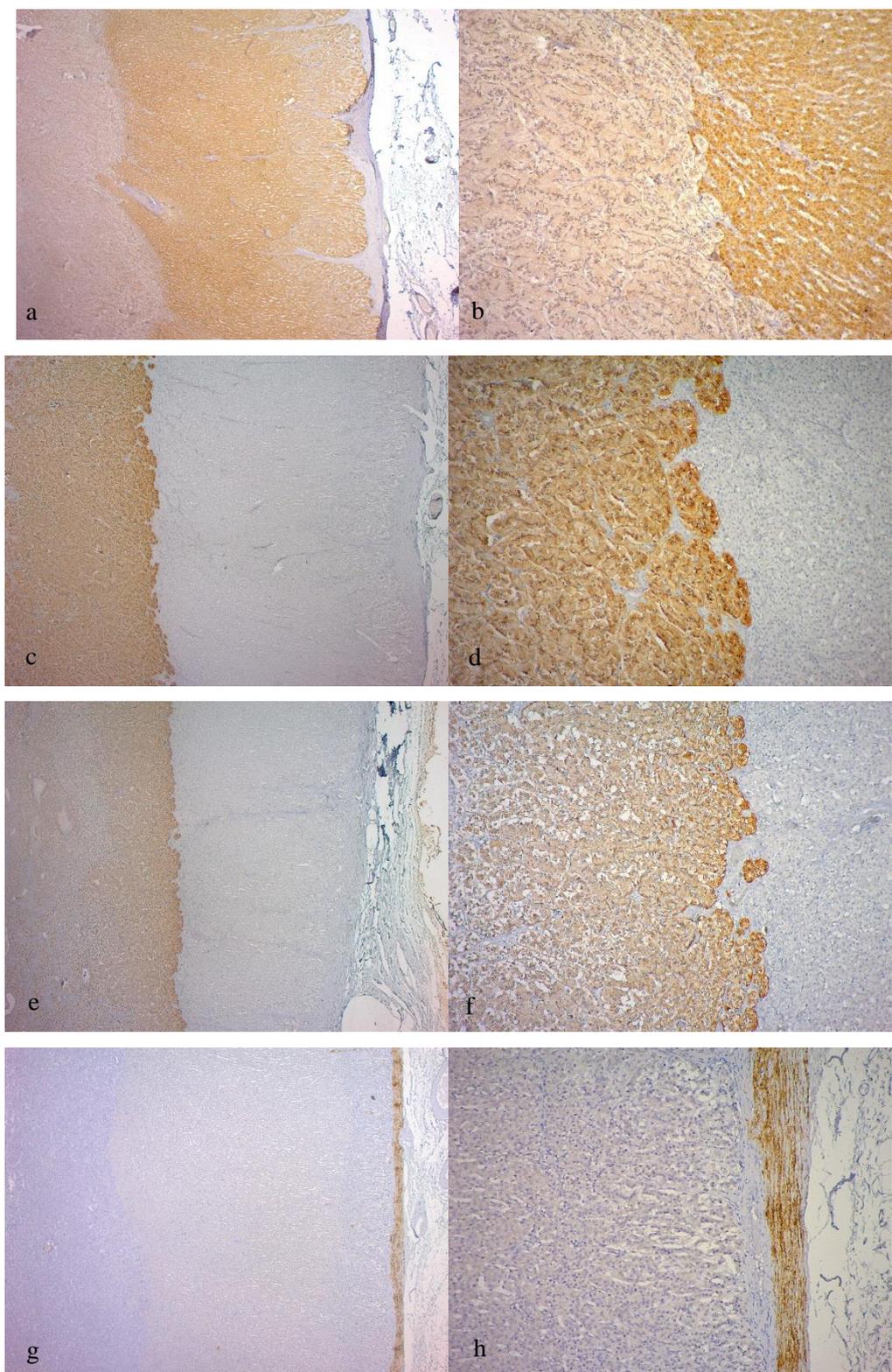


Figura 6. Reações de imunohistoquímica demonstrando o padrão de marcação em adrenal normal de bovino sadio. a e b- Melan A, c e d- Sinaptofisina, e e f- Cromogranina A. g e h- Citoqueratina com marcação da capsula. Reação à imunoperoxidase, obj. 2,5X e 10X.

As neoplasias corticais apresentaram marcação citoplasmática difusa com anticorpo anti Melan A, anti Sinaptofisina e anti cromogranina A em 25/29, 12/29 e 1/29 dos adenomas e em 5/9, 2/9 e 0/9 dos carcinomas, respectivamente (Tabela 4 e Figura 7). A marcação com anticorpo anti vimentina ocorreu nas células tumorais em 22/38 casos de neoplasias corticais e foi, de modo geral, forte e aleatória, por outro lado, notou-se forte marcação citoplasmática das células do estroma em 35/38 casos. Não foi observada marcação com anticorpo anti citoqueratina no tecido tumoral, no entanto a capsula apresentou forte marcação em todos os casos. Houve marcação com anticorpo anti Ki-67 em 4/38 das neoplasias corticais. Três casos apresentaram marcação <1% de núcleos imunomarcados e uma amostra com marcação >3% de núcleos marcados.

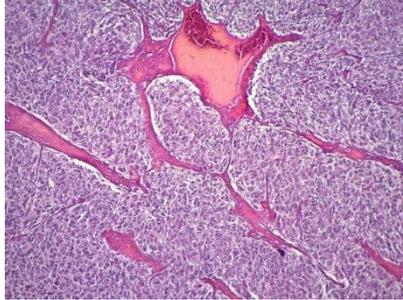
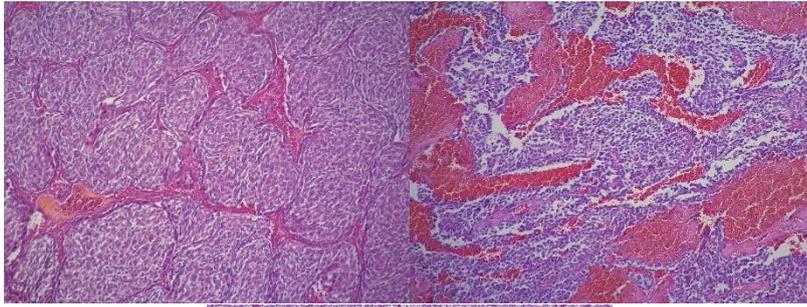
As neoplasias caracterizadas como feocromocitomas foram imunomarcados com o anticorpo anti Sinaptofisina detectando-se moderada a intensa e difusa marcação citoplasmática em todos os casos. Marcação citoplasmática intensa com Anti CRG-A foi notada em 3/4 das neoplasias. A marcação com anti vimentina foi positiva em 4/4 de células aleatórias com marcação citoplasmática além, no tecido estromal tumoral. Não foi observada marcação com os anticorpos anti melan A, anti Citoqueratina e anti Ki-67. As imunomarcações e suas intensidades para todas as neoplasias encontram-se resumidas na Tabela 4.

Adenoma

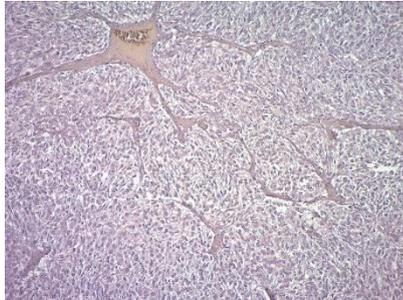
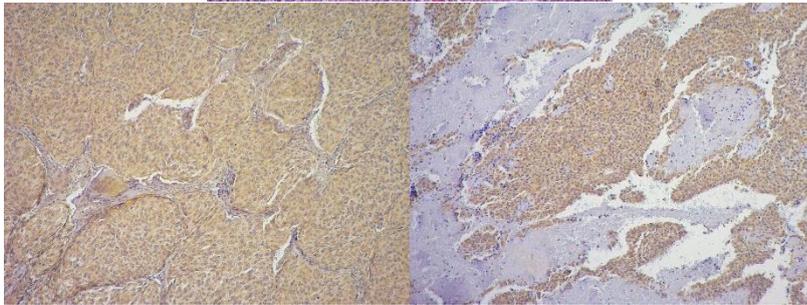
Carcinoma

Feocromocitoma

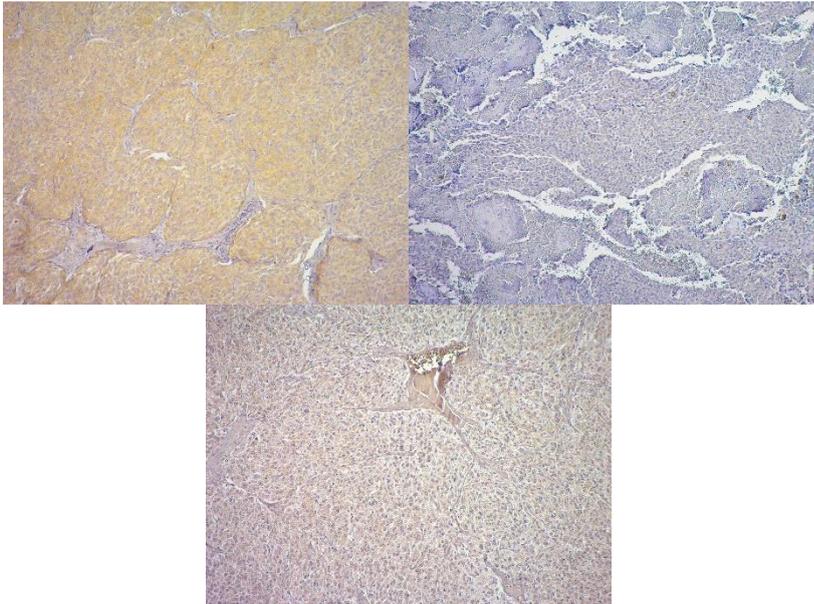
HE



Melan A



Sinaptofisina



CRG-A

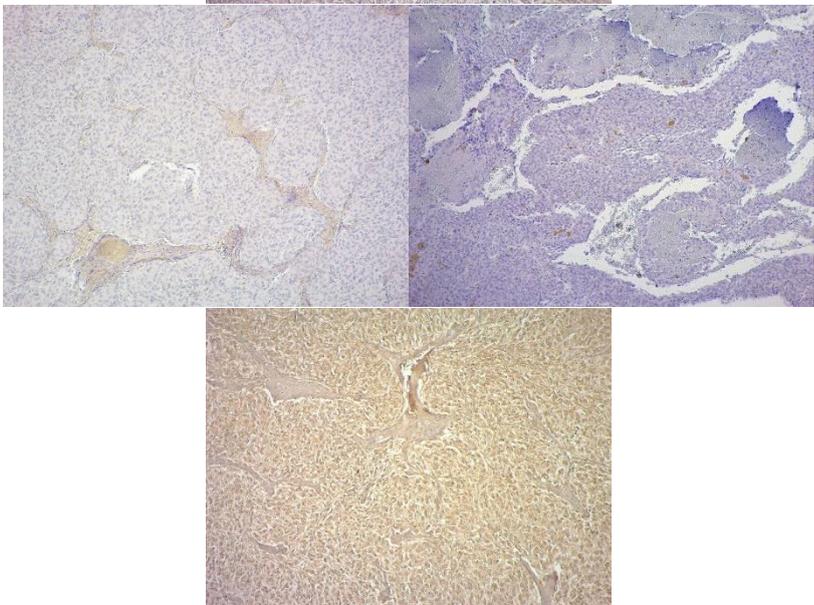


Figura 7. Padrões de histológico e de marcação imunohistoquímica observado em adenoma adrenocortical, carcinoma adrenocortical e feocromocitoma em bovinos abatidos em frigorífico em Mato Grosso. Notar a semelhança do padrão histológico entre adenomas e feocromocitomas da glândula adrenal. HE, 10x. Padrões de marcação imunohistoquímica, reação à imunoperoxidase, obj. 10X.

**Tabela 4.** Resultados do painel imuno-histoquímico de bovinos com tumores adrenais

Anticorpos	Tecido normal	Neoplasia cortical	Feocromocitoma
------------	---------------	--------------------	----------------

	Córtex	Medula	Adenoma			Carcinoma			+	++	+++
			+	++	+++	+	++	+++			
Melan A	+++	–	1/29	10/29	14/29	0	2/9	3/9	0	0	0
Sinaptofisina	–	+++	0	3/29	9/29	0	1/9	1/9	0	1/4	3/4
Cromogranina A	–	++++	01/29	0	0	0	0	0	0	1/4	2/4
Estroma	+++	+	1/29	1/29	24/29	0	4/9	5/9	0	0	4/4
Vimentina											
Células parênquima	+++	-	0	2/29	14/29	0	1/9	5/9	0	0	4/4
Citoqueratina	–	–	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ki-67											
<1%	NR	NR	0	0	1/29	0	0	2/9	0	0	0
1-3%	NR	NR	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>3%	NR	NR	0	0	1/29	0	0	0	0	0	0

+ marcação fraca, ++ marcação moderada, +++ marcação forte, – marcação negativa, NR Não realizado

## 6. DISCUSSÃO

A prevalência de neoplasias segundo período de coleta, agosto de 2019 a novembro de 2020 de adrenal em bovinos neste estudo foi de 0,72/100.000 cabeças de bovinos abatidas. Apesar de existirem vários estudos sobre neoplasmas em frigoríficos, poucos permitem calcular sua prevalência na população. A prevalência de neoplasias é extremamente variável em pesquisas realizadas em bovinos abatidos oscilando entre 2.5 e 279 por 100.000 bovinos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS,1970; MISDORP et al.,1967; MOULTON et al.,1963; RADKOWSKI et al.,2010; SCHAMBER et al.,1982). Considerando apenas as neoplasias de adrenal, a amplitude pode ser ainda maior variando de 0.12 a 948 neoplasias de adrenal para cada 100.000 cabeças de bovinos abatidas. Essa variação pode ser explicada pela acurácia da avaliação das glândulas adrenais adotadas na metodologia. Neste estudo, as glândulas adrenais foram avaliadas seguindo a rotina da linha de inspeção de cada frigorífico e apenas as glândulas que apresentassem aumento de volume visível eram avaliadas pelos inspetores. Essa metodologia foi a mesma empregada por (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS,1970) que observaram prevalência de 0.12, 3.62 e 24 neoplasias de adrenal por 100.000 bovinos abatidos, respectivamente. Por outro lado, empregando a avaliação sistemática das glândulas

adrenais (BIASIBETTI et al., 2017; WRIGHT; CONNER, 1968). Encontraram as surpreendentes marcas de 718 e 948 neoplasias por 100.000 bovinos abatidos, respectivamente, evidenciando que a prevalência dessa neoplasia é frequentemente subestimada.

Em relação à idade de sexo neste trabalho, foi acima de 5 anos a 12 anos e fêmeas em comparação com vários estudos que coincidem com acima de 5 anos a 15 anos. (BIASIBETTI et al., 2017; EDWARDS & RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013). Sendo estudadas mais vacas do que touros, pois as vacas reprodutoras vivem mais e podem desenvolver neoplasias. Nos animais domésticos, a esperança de vida aumentou consideravelmente atualmente, devido à melhoria do seu ambiente, o que levou a um aumento da fração que desenvolve neoplasias (TANAKA et al., 2020). O câncer é causado pelo acúmulo de múltiplas alterações somáticas no genoma e no epigenoma ao longo da vida. Durante a replicação do DNA, erros, como mutações ou modificações em marcas epigenéticas, ocorrem em uma taxa muito baixa. Isso está diretamente associado ao fato de existir uma relação entre a idade e a incidência de câncer (HANAHAN & WEINBERG, 2011; TANAKA et al., 2020).

Em relação à macroscopia, as neoplasias apresentavam tamanho variável de 2,5 cm a 25 cm e eram encapsuladas e não encapsulados. Esses valores coincidem com outros autores que relatam que os carcinomas adrenais podem atingir tamanho de até 10 cm de comprimento em bovinos, enquanto os feocromocitomas variam de tamanho, podendo atingir mais de 10 cm de comprimento e afetar a maior parte da glândula adrenal (ROSOL & MEUTEN, 2016). Outros autores descreveram que os carcinomas adrenocorticais eram esféricos ou ligeiramente ovóides e variavam de 9 a 29 cm de longitude (EDWARDS & RALSTON, 2013). Com relação à cor eram vermelho escuro, marrom e branco. Em tanto à consistência, eram friáveis, macios e firmes eram semelhantes aos autores (BIASIBETTI et al., 2017; EDWARDS & RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013).

Neste estudo observou-se que 32/42 (76%) carcaças com neoplasia geraram perdas econômicas seja pela destinação à graxaria (produtor não recebe nenhum valor) ou à conserva (produtor recebe 50% do valor da carcaça). Considerando o peso médio das carcaças em 260Kg e o preço médio de US\$ 5004 pago por tonelada no ano de 2023 (IBGE, 2024) os prejuízos somariam US\$ 25.370. Apesar de parecer um valor baixo frente ao número de bovinos abatidos no período, as perdas por

neoplasias somam valores razoáveis no Brasil, considerando que no ano de 2023 as neoplasias resultaram na condenação de 7552 carcaças (SIGSIF, 2024) totalizando um prejuízo de US\$9.825.454. Que o destino das carcaças foi em consequência a neoplasia.

A classificação das neoplasias em corticais ou medulares foi uma das grandes dificuldades encontradas nesse estudo. Todos os casos classificados como feocromocitomas eram caracterizados por ninhos de células poliédricas ou fusiformes delimitados por delicado estroma fibrovascular. Este padrão, classicamente chamado *zellballen*, é considerado típico dos paragangliomas e feocromocitomas (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016), no entanto, morfológicamente ele era idêntico aos observados em adenomas corticais bem diferenciados e sua correta histogênese só pôde ser determinada através da imunohistoquímica. A distinção morfológica entre neoplasias corticais e medulares da glândula adrenal pode ser difícil e marcadores imunohistoquímicos são efetivos para tal diferenciação (WEISSFERDT et al., 2013; ZHANG et al., 2003).

Melan A apresentou sensibilidade de 79% e especificidade de 100% com relação às neoplasias corticais e, assim como observados em outros estudos envolvendo bovinos (EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013), caninos (RAMOS-VARA et al., 2001) e humanos (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2013; ZHANG et al., 2003), este marcador mostrou-se útil para distinguir neoplasias corticais e medulares da adrenal.

A Sinaptofisina mostrou alta sensibilidade e especificidade para neoplasias medulares no estudo desenvolvido por (GROSSI et al., 2013). Por outro lado, apesar de ter apresentado marcação difusa moderada a forte em todos os feocromocitomas, ela apresentou moderada especificidade marcando 50% dos tumores corticais. Em um outro estudo conduzidos em bovinos ela não marcou nenhum carcinoma de adrenal ou feocromocitoma (BIASIBETTI et al., 2017). A Sinaptofisina em estudos desenvolvidos em humanos apresenta, frequentemente marcação tanto em tumores corticais como medulares (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2013) Por outro lado, ela é considerada útil quando utilizada em conjunto com Cromogranina A (WEISSFERDT et al., 2013), pois este último marcador apresenta alta sensibilidade e especificidade para neoplasias medulares em humanos, (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2013), bovinos (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013; MILLER et al., 2009), assim

como observado neste estudo, uma vez que a Cromogranina A apresentou marcação difusa moderada a forte em 75% dos feocromocitomas e marcação fraca em apenas 1 adenoma.

Neste estudo, com relação aos marcadores para filamento intermediário, o anticorpo anti Vimentina, nas neoplasias corticais e medulares, apresentou padrão de marcação diferente dos observados nas adrenais normais estudadas. Nas células neoplásicas notou-se marcação citoplasmática forte, porém em células aleatoriamente distribuídas, diferentemente da marcação citoplasmática forte e regularmente distribuída por todo córtex. Por outro lado, no estroma neoplásico, a marcação foi forte e regularmente distribuída por toda neoplasia. Já o anticorpo anti Citoqueratina marcou apenas a cápsula, tanto nas glândulas normais quanto nas neoplásicas, no entanto não marcou células neoplásicas do córtex ou medula. A Marcação para Vimentina ocorre de forma irregular nas neoplasias corticais e em feocromocitomas (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013) já em humanos a marcação é difusa nas neoplasias corticais e em 25% dos feocromocitomas (DELELLIS; SHIN, 2003; LLOYD, 2011). Por outro lado, a Citoqueratina, tanto em bovinos como humanos, apresenta marcação citoplasmática em neoplasias corticais e não marca feocromocitomas (GROSSI et al 2013, BIASIBETTI et al 2017). Embora este seja o padrão clássico para marcadores de filamento intermediário nas neoplasias corticais e medulares, nestas espécies, pode haver algumas variações ou marcações fracas dependendo do fixador, tempo de fixação ou recuperação antigênica (DELELLIS; SHIN, 2003; LLOYD, 2011).

O marcador de proliferação Ki-67 é utilizado como um indicador de malignidade dos tumores corticais em humanos (LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022a; LAU; WEISS, 2009) e em caninos (LABELLE et al., 2004), no entanto, assim como observado neste estudo, em bovinos o índice entre adenomas e carcinomas não apresenta grande variação (GROSSI et al., 2013; GROSSI et al., 2013).

A presença de metástase ou invasão vascular é o critério mais utilizado para diferenciar adenomas de carcinomas (BIASIBETTI et al., 2017; BRANDLY; MIGAKI, 1963; EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; MISDORP et al., 1967), por outro lado, morfológicamente, é difícil distinguir carcinomas que não metastizaram de adenomas, e dessa forma, a classificação das neoplasias adrenocorticais tem sido um grande desafio, tanto na medicina humana (LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022a)

como em medicina veterinária (EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; LABELLE et al., 2004).

Em humanos, um conjunto de diretrizes histológicas conhecidas como sistema de Weiss tem sido usado para diferenciar tumores adrenocorticais benignos de tumores com potencial maligno (AUBERT et al., 2002; LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022). Da mesma forma, vários critérios morfológicos foram mais comuns em carcinomas do que em adenomas adrenocorticais em caninos e bovinos (GROSSI et al., 2013; LABELLE et al., 2004). Neste estudo apenas dois casos apresentaram metástases e, por isso, foram classificados como carcinomas. Outros sete casos de tumores adrenocorticais foram considerados malignos por expressarem pelo menos três dos critérios histológicos preconizado por (GROSSI et al., 2013) para bovinos, baseado no sistema de Weiss: invasão vascular, invasão extensiva na cápsula, padrão de crescimento difuso (ausência de organização em ninhos, trabéculas ou cordões), predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear. Outros critérios morfológicos avaliados por (GROSSI et al., 2013), como necrose, hemorragia, ou um alto índice mitótico, que são indicativos de malignidade encontrados em outros tipos de tumor, não foram úteis para distinguir carcinomas de adenomas adrenocorticais em bovinos porque eles foram observados tanto em adenomas como em carcinomas metastáticos.

## **7. CONCLUSÃO**

Em conclusão, os tumores adrenais mais comuns em bovinos foram adenomas e carcinomas adrenocorticais. A distinção morfológica entre neoplasias corticais e medulares é desafiadora e exige a utilização de imunohistoquímica. Um painel imunohistoquímico composto por anticorpos anti melan A, sinaptofisina e cromogranina A foi considerado útil para classificar os tumores adrenais mais comuns em bovinos.

## 8. REFERENCIAS

ALVAREZ, J. E. *et al*, Casuistry and tumoral incidence in domestic animals. **Anales de la Facultad de Veterinaria de León**, v. Vol. 28, p. 29–37, 1982.

ATTIPA, C. *et al*. Aldosterone-producing adrenocortical carcinoma with myxoid differentiation in a cat. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 47, n. 4, p. 660–664, 1 dez. 2018.

AUBERT, S. *et al*. Weiss System Revisited A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 49 Adrenocortical Tumors. **The American Journal of Surgical Pathology**. v. 12, p.1612-1619, 2002.

BARTHEZ, P. Y. *et al*. Pheochromocytoma in dogs: 61 cases (1984-1995). **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 5, p. 272–278, 1997.

BASTIANELLO, S. S. A survey on neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the republic of south africa iv. tumours occurring in equidae. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. v. 50, p.91-96, 1983.

BECHMANN, N. *et al*. Adrenal medulla development and medullary-cortical interactions. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 528, p.1-10, 15 maio 2021.

BERR, A. L. *et al*. Vimentin is required for tumor progression and metastasis in a mouse model of non–small cell lung cancer. **Oncogene**, v. 42, n. 25, p. 2074–2087, 16 jun. 2023.

BEUSCHLEIN, F.; GALAC, S.; WILSON, D. B. Animal models of adrenocortical tumorigenesis. Molecular and Cellular. **Endocrinology v. 351, n.1, p.1-21**, 31 mar. 2012.

BIASIBETTI, E. *et al*. Adrenal gland tumors in dairy cattle from Northern Italy: Morphological and phenotypical characterization in comparison with human pathology. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 20, n. 4, p. 779–788, 2017.

BIELINSKA, M. *et al*. Review paper: Origin and molecular pathology of adrenocortical neoplasms. **Veterinary Pathology**. v.46, n. 2, p. 1-27, 2009.

BRANDLY, P. J.; MIGAKI, G. Types of tumors found by federal meat inspectors in an eight-year survey. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 108, n. 3, p. 872–879, 1963.

BARAK, V.; GOIKE, H.; PANARETAKIS, K.; EINARSSON, R. Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 529-540, 2004.

CAPPELLERI, A. *et al.* Retrospective study of tumors from cattle slaughtered in Lombardy (Italy): preliminary evaluation on the establishment of a bovine cancer registry. **Veterinaria Italiana**, v. 58, n. 1, p. 67–75, 18 nov. 2022.

CHEUNG, V. K. Y.; GILL, A. J.; CHOU, A. Old, New, and Emerging Immunohistochemical Markers in Pheochromocytoma and Paraganglioma. **Endocrine Pathology**. v.29, p. 169-175, 1 jun. 2018.

CORNER, S. *et al.* Histologic and Immunohistochemical Characterization of Pheochromocytomas in 20 Clouded Leopards (*Neofelis nebulosa*). **Veterinary Pathology**, v. 54, n. 2, p. 269–276, 1 mar. 2017.

COTCHIN, E. Problems of Comparative Oncology with Special Reference to the Veterinary Aspects. **Bull World Health Organ** v.26, p.633-648, 1962.

CULLEN, J. M.; BREEN, M. An Overview of Molecular Cancer Pathogenesis, Prognosis, and Diagnosis. Em: **Tumors in Domestic Animals**. Wiley, 2016. p. 1–26.

DELELLIS, R. A.; SHIN, S. J. Review Immunohistochemical Characteristics of Adrenocortical Carcinoma: An Overview. **Acta Histochem. Cytochem**. v. 36, n. 4, p. 293-298,2003.

DUKES, T. W.; BUNDZA, A.; CORNER, A. H. Bovine Neoplasms Encountered in Canadian Slaughterhouses: A Summary. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 23, p. 28–30, 1982.

EDWARDS, J. F.; RALSTON, K. E. Adrenal cortex carcinomas with distant metastases in beef cattle at slaughter. **Journal of Comparative Pathology**, v. 149, n. 1, p. 1–9, 2013.

CARVALHO, F. K. *et al.*, Estudo retrospectivo das neoplasias em ruminantes e equídeos no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.3, p. 2011–2016, 2014.

MASSARI, F. *et al.*, Adrenalectomy in dogs with adrenal gland tumors: 52 cases (2002–2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. No. 2, p. 216–221, 2011.

FUJII, M.; SEKINE, S.; SATO, T. Decoding the basis of histological variation in human cancer. **Nature Reviews Cancer**.v. 24, p. 141-158, 1 fev. 2024.

GRAADT VAN ROGGEN, J. F.; HOGENDOORN, P. C. W.; FLETCHER, C. D. M. Myxoid tumours of soft tissue. **Histopathology**. v.35, p.291-312, 1999.

GREENE, L. A.; TISCHLERT, A. S. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor (sympathetic neurons/cell culture/catecholamines/differentiation/neurites). **Cell Biology**, v. 73, n. 7, p. 2424–2428, 1976.

GROSSI, A. B. *et al.* Histologic and Immunohistochemical Classification of 41 Bovine Adrenal Gland Neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 3, p. 534–542, maio 2013.

HODGSON, A.; PAKBAZ, S.; METE, O. A Diagnostic Approach to Adrenocortical Tumors. **Surgical Pathology Clinics**. v.12, p.967-995,1 dez. 2019.

Haase; Willenberg; Bornstein. Update on the Corticomedullary Interaction in the Adrenal Gland. **Pediatric Adrenal Diseases**. v. 20, p.28-3, 2011

HOUSEHOLDER, H. M. *et al.* paraplegia in a domestic ferret (*Mustela putorius furo*) secondary to metastatic adrenocortical carcinoma with myxoid differentiation. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 29, p. 63–69, 1 abr. 2019.

HANAHAHAN, D; WEINBERG, R. Hallmarks of cancer: The next generation. **In Cell**. v. 144, p. 646-674, 2011.

KIUPEL, M. Histological classification of tumors of the endocrine system of domestic animals. Em: **Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with the CL Davis DVM Foundation and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology**. [s.l: s.n.]. v. XIIp. 43–49. Ano ?

KEBEBEW, E. Adrenal Incidentaloma. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 16, p. 1542–1551, 22 abr. 2021.

KIMURA, K. C. *et al.* Kimura et al; Retrospective study of Neoplasms in Domestic Animals: a Survey Between Retrospective Study of Neoplasms in Domestic Animals: a Survey Between. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 5, n. 2, p. 60–69, 2012.

LABELLE, P. *et al.* Indicators of Malignancy of Canine Adrenocortical Tumors: Histopathology and Proliferation Index. **Veterinary Pathology**. v.41, p. 490-497, 2004.

LABELLE, P.; DE COCK, H. E. V. Metastatic Tumors to the Adrenal Glands in Domestic Animals. **Veterinary Pathology**. v.42, p. 52-58, 2005.

LAM, A. K. YIN. Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours. **Endocrine Pathology**. v.28, p.213-227. , 1 set. 2017.

LAU, S. K.; WEISS, L. M. The Weiss system for evaluating adrenocortical neoplasms: 25 years later. **Human Pathology**, v. 40, n. 6, p. 757–768, jun. 2009.

LIYANARACHCHI, K. D.; DEBONO, M. Physiology of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. **Surgery**. v. 35, n.10, p. 542-555, 2017.

LLOYD, R. V. Adrenal cortical tumors, pheochromocytomas and paragangliomas. **Modern Pathology**, v. 24, p. S58–S65, abr. 2011.

LUCENA, R. B. *et al.* A Retrospective Study of 586 Tumours in Brazilian Cattle.

**Journal of Comparative Pathology**, v. 145, n. 1, p. 20–24, jul. 2011.

LUETHY, D. *et al.* Clinical and Pathological Features of Pheochromocytoma in the Horse: A Multi-Center Retrospective Study of 37 Cases (2007-2014). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 1, p. 309–313, 1 jan. 2016.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE: **Estatística da Produção Pecuária Rio de Janeiro**: IBGE, 2023.

.

MALEKI, Z. *et al.* INSM1, a novel biomarker for detection of neuroendocrine neoplasms: Cytopathologists' view. **Diagnostics Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)**. v.11, n.2172, p. 1-18, 1 dez. 2021.

MARTINELLI, S.; MAGGI, M.; RAPIZZI, E. Pheochromocytoma/paraganglioma preclinical models: Which to use and why? **Endocrine Connections**, v. 9, n. 12, p. R251–R260, 1 dez. 2020.

MARTÍNEZ, J. *et al.* Malignant pheochromocytoma in a pig. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, p. 207–210, jan. 2012.

MATTIUZZI, C.; LIPPI, G. Current cancer epidemiology. **Journal of Epidemiology and Global Health**, v. 9, n. 4, p. 217–222, 1 dez. 2019.

MAX MURRAY. NEOPLASMS OF DOMESTIC ANIMALS IN EAST AFRICA. **British Veterinary Journal**, v. 124, p. 514–523, 1968.

METE, O. *et al.* Immunohistochemical Biomarkers of Adrenal Cortical Neoplasms. **Endocrine Pathology**. v.29, p.137-149, 2018.

METE, O. *et al.* Overview of the 2022 WHO Classification of Adrenal Cortical Tumors. **Endocrine Pathology**. v.33, p.155-196, , 1 mar. 2022a.

METE, O. *et al.* Overview of the 2022 WHO Classification of Paragangliomas and Pheochromocytomas. **Endocrine Pathology**. v.33, p.90-114, 1 mar. 2022b.

MILLER, A. D. *et al.* Histologic and immunohistochemical characterization of pheochromocytoma in 6 cotton-top tamarins (*saguinus oedipus*). **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 6, p. 1221–1229, nov. 2009.

MISDORP, W. 211 tumours in large domestic animals in the Netherlands. **Journal of Comparative Pathology**. v. 77, p.211-216, 1976

MOHARRAM, I. *et al.* A survey of tumors affecting cattle, buffaloes and sheep. **Veterinary Medical Journal**, v. 20, n. 2, p. 70–78, 25 jun. 2019.

MOULTON, J. E. Occurrence and types of tumors in large domestic animals. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 108, n.3, p. 620–632, 1963.

NOVLOSKI, G; SANTOS, J. observações sobre a incidência de neoplasias em bovinos abatidos em frigorífico no brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.5, p. 405–423, 1970

NAGHSHINEH, R.; HAGDOOST, I. S.; MOKHBER-DEZFULI~, M. R. A Retrospective Study of the Incidence of Bovine Neoplasms in Iran. **Journal of Comparative Pathology**, v. 105, p.235-239, 1991.

SIGSIF-Sistema de Informações Gerenciais do SIF. Ministério da Agricultura e Pecuária. Consulta pública: Condenação de Animais por Espécie. Disponível em: [https://sistemas.agricultura.gov.br/pga\\_sigsif/pages/view/sigsif/condenacaoanimal/index.xhtml](https://sistemas.agricultura.gov.br/pga_sigsif/pages/view/sigsif/condenacaoanimal/index.xhtml) Acesso em: 01/10/2024

PEROSA, F. F. *et al.* Doenças diagnosticadas pelo Laboratório de Patologia Veterinária no decênio 2013-2022. **Boletim de Diagnóstico do Laboratório de Patologia Veterinária - IFC - Campus Concórdia**, v. 4, n. 1, 8 jan. 2024.

PLUMMER, P. J. G. A Survey of Twenty Four Tumours Collected from Animals Slaughtered. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 12, n. 7, p. 180–186, 1948.

PLUMMER, P. J. G. A Survey Of Six Hundred And Thirty-Six Tumours From Domesticated Animals. **Canadian journal of comparative medicine and veterinary science**, v. 20, n. 7, p. 239–251, 1956.

RADKOWSKI, M.; SIEMIONEK, J.; ZDRODOWSKA, B. Neoplastic lesions in slaughter animals in Warmińsko-Mazurskie voivodship (Poland) area during the years 2001-2007. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 13, n. 4, p. 669–672, 2010.

RAMOS, A. T. *et al.* Tumores em animais de produção: aspectos comparativos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 148–154, 2008.

RAMOS-VARA, J. A. *et al.* Immunoreactivity of A103, an antibody to Melan A, in canine steroid-producing tissues and their tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.13, p.328-332, 2001.

REIS, M. DE O. *et al.* Neoplasmas bovinos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, Porto Alegre (2005-2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 105–109, 1 fev. 2017.

RICHARD DORN, C. The epidemiology of cancer in animals. **Califórnia medicine**, v. 107, n. 6, p. 481–489, 1967.

RONDELLI, L. A. S. *et al.* Doenças de bovinos em Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 432–440, 1 maio 2017.

ROSOL, T. J.; MEUTEN, D. J. Tumors of the Endocrine Glands. Em: **Tumors in Domestic Animals**. [s.l.] Wiley, 2016. p. 766–833.

SANGOI, A. R. *et al.* Immunohistochemical distinction of primary adrenal cortical lesions from metastatic clear cell renal cell carcinoma: A study of 248 cases. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 35, n. 5, p. 678–686, maio 2011.

SHARMA, S.S. *et al.* Prevalence of spontaneously occurring animals neoplasms in Jammu. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 7, n. 6, p. 442–445, 2019.

SCHAMBER, G. J.; OLSON, C.; WITT, L. E. Neoplasms in Calves (*Bos taurus*). **Veterinary Pathology**, v9, p. 629-637, 1982.

SCHNEIDER, M. R. Von Kossa and his staining technique. **Histochemistry and Cell Biology**. v.156, p.523-526, 1 dez. 2021.

SHRUTHI PJ. *et al.* Incidence of different tumors in bovines. **Open Access Journal of Science**, v. 2, n. 4, 18 jul. 2018.

STEINER, P. E.; BENGSTON, J. S. Research and economic aspects of tumors in food-producing animals. **Cancer**, v. 4, n. 5, p. 1113–1124, 1951.

TESSELE, B.; BARROS, C. S. L. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 145–160, 2016.

TJALMA, R. A. CANCER EPIZOOTIOLOGY. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 108, n. 3, p. 849–854, 1963.

TJALMA, R. A. Implications of animal cancers to human neoplasia: Epidemiologic considerations. **International Journal of Cancer**, v. 3, n. 1, p. 1–6, 1968.

TANAKA, R., YAMAGUCHI, S., & IWASA, Y. Enhanced risk of cancer in companion animals as a response to the longevity. **Scientific Reports**, v. 10, 2020.

VASCONCELOS, J. *et al.* Neoplasms in Domestic Ruminants and Swine: A Systematic Literature Review. **Veterinary Sciences MDPI**. v.10, n.163, p. 1-17, 1 fev. 2023.

WANG, L. L. *et al.* Morphological and immunohistochemical characteristics associated with metastatic and recurrent progression in pheochromocytoma/paraganglioma: A cohort study. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 60, p. 1–7, 1 out. 2022.

WEISS, L. M.*et al.* Pathologic Features of Prognostic Significance in Adrenocortical Carcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 13(3): p 202-206, p. 202–206, 1989.

WEISSFERDT, A. *et al.* Adrenocortical Carcinoma: A Comprehensive Immunohistochemical Study of 40 Cases. **Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology**.v.22, n. 1, p.24-30, 2014.

WHITING, K. J. *et al.* The anterior tooth development of cattle presented for slaughter: An analysis of age, sex and breed. **Animal**, v. 7, n. 8, p. 1323–1331, ago. 2013.

WRIGHT, B. J.; CONNER, G. H. Adrenal Neoplasms in Slaughtered Cattle **Cancer research**. v.28, p. 251-263, 1968.

ZAKOUT, Y. M. A. *et al.* Optimization of PAS stain and similar Schiff's based methods for glycogen demonstration in liver tissue. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 161, n. 4, p. 359–364, 1 abr. 2024.

ZHANG, P. J. *et al.* The role of calretinin, inhibin, melan-A, BCL-2, and c-kit in differentiating adrenal cortical and medullary tumors: An immunohistochemical study. **Modern Pathology**, v. 16, n. 6, p. 591–597, 1 jun. 2003.

ZHOU, B. *et al.* High vimentin expression with E-cadherin expression loss predicts a poor prognosis after resection of grade 1 and 2 pancreatic neuroendocrine tumors. **BMC Cancer**, v. 21, n. 1, 1 dez. 2021.

## APENDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO

### Aspectos morfológicos e imunohistoquímicos de tumores de glândula adrenal em bovinos abatidos em frigoríficos em mato grosso<sup>1</sup>

Luis J. Alfaro<sup>2\*</sup>, Fernando Henrique Furlan Gouvêa<sup>2</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-5847-2313>

**ABSTRACT.** Alfaro L. J & Furlan F. H. 2024. **Morphological and immunohistochemical aspects of adrenal gland tumors in cattle slaughtered in slaughterhouses in Mato Grosso.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2024. Laboratório de Patologia Veterinária<sup>2</sup>. Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367 Bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso. CEP 78060-900, Brazil.

E-mail: [luisjhordyalfaroquillas@gmail.com](mailto:luisjhordyalfaroquillas@gmail.com)

Adrenal gland tumors in cattle, while relatively common, have been the subject of few comprehensive studies that describe their morphological characteristics and immunohistochemical profile. This study aims to fill this gap by providing a detailed description of the macroscopic, microscopic, and immunohistochemical aspects of adrenal gland neoplasms in cattle slaughtered in the state of Mato Grosso. The neoplasms were identified and characterized based on macroscopic, microscopic, and immunohistochemical findings. The macroscopic and microscopic findings revealed the presence of adrenal gland neoplasms, including cortical carcinomas (69%), cortical adenomas (21%), and pheochromocytomas (10%). Statistical analysis showed no significant differences in tumor size. Histologically, most cortical neoplasms presented a solid growth pattern characterized as well-defined masses organized in nests, cords, or trabeculae interspersed with delicate fibrovascular stroma. The cells were uniform, surrounded by oval-shaped cells with voluminous cytoplasm, slightly eosinophilic, often multivacuolated, and with indistinct borders. The distinction between adenoma and cortical adenocarcinoma, in the absence of metastases, was based on the detection of 3 or more of the following criteria: diffuse growth pattern, capsular invasion, vascular invasion, predominance of spindle cells, and nuclear pleomorphism. Most pheochromocytomas expand from the medullary region and compress the cortex, causing atrophy. They were characterized by solid masses arranged in nests delimited by delicate fibrovascular stroma. The cells were small, polyhedral, elongated, or spindle-shaped with granular cytoplasm. In all cases, immunohistochemistry was necessary to determine the diagnosis since there was great similarity with cortical adenomas. An immunohistochemical panel composed of antibodies against melanin A, synaptophysin, and chromogranin A was considered useful for classifying cattle's most common adrenal tumors.

INDEX TERMS: Bovine, Pheochromocytoma, Adrenal, Adenoma and Cortical Carcinoma.

**RESUMO.- [Aspectos morfológicos e imunohistoquímicos de tumores de glândula adrenal em bovinos abatidos em frigoríficos em mato grosso].** Tumores de glândula adrenal em bovinos, embora relativamente comuns, têm sido objeto de poucos estudos abrangentes que descrevem suas características morfológicas e perfil imuno-histoquímico. Este estudo visa preencher essa lacuna fornecendo uma descrição detalhada dos aspectos macroscópicos, microscópicos e imuno-histoquímicos de neoplasias de glândula adrenal em bovinos abatidos no estado de Mato Grosso. As neoplasias foram identificadas e caracterizadas com base em achados macroscópicos, microscópicos e imuno-histoquímicos. Os achados macroscópicos e microscópicos revelaram a presença de neoplasias de glândula adrenal, incluindo carcinomas corticais (21%), adenomas corticais (69%) e feocromocitomas (10%). A análise estatística não mostrou diferenças significativas no tamanho do tumor. Histologicamente, a maioria das neoplasias corticais apresentou um padrão de crescimento sólido caracterizado como massas bem definidas organizadas em ninhos, cordões ou trabéculas intercaladas com estroma fibrovascular delicado. As células eram uniformes, circundadas por células ovais com citoplasma volumoso, levemente eosinofílicas, frequentemente multivacuoladas e com bordas indistintas. A distinção entre adenoma e adenocarcinoma cortical, na ausência de metástases, foi baseada na detecção de 3 ou mais dos seguintes critérios: padrão de

crescimento difuso, invasão capsular, invasão vascular, predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear. A maioria dos feocromocitomas se expande da região medular e comprime o córtex, causando atrofia. Eles eram caracterizados por massas sólidas dispostas em ninhos delimitados por delicado estroma fibrovascular. As células eram pequenas, poliédricas, alongadas ou fusiformes com citoplasma granular. Em todos os casos, a imuno-histoquímica foi necessária para determinar o diagnóstico, pois havia grande semelhança com adenomas corticais. Um painel imuno-histoquímico composto por anticorpos contra melan A, sinaptofisina e cromogranina A foi considerado útil para classificar os tumores adrenais mais comuns em bovinos.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Bovino, feocromocitoma, adrenal adenoma e carcinoma cortical.

### **INTRODUÇÃO**

Neoplasias com grande diversidade morfológica ocorrem em quase todos os animais, existindo diferenças de acordo com espécie, raça e localização. Portanto, uma visão muito mais ampla sobre a patologia comparada é primordial (BIASIBETTI et al., 2017; STEINER; BENGSTON, 1951). Estudos epidemiológicos são importantes para definir a ocorrência de diferentes tipos de tumores em uma população. A comparação da epidemiologia e da biologia das neoplasias entre humanos e animais é um processo valioso, capaz de identificar fatores de risco (CAPPELLERI et al., 2022; COTCHIN, 1962; MATTIUZZI; LIPPI, 2019; DORN, BERKELEY, 1967; TJALMA, 1968). Foi percebido que, para obter uma visão ampla sobre as causas e a natureza do câncer no homem, os estudos das neoplasias, tanto espontâneas como experimentais em animais seriam de grande valia (COTCHIN, 1962). As populações de animais domésticos oferecem amplas oportunidades para a pesquisa do câncer. Em geral, o número de sujeitos é suficientemente grande para garantir um tamanho de amostra adequado. As muitas espécies e raças diferentes de animais, cada uma delas exposta e reagindo a diferenças de ambiente, dieta, configuração genética e estresse fisiológico, garantem oportunidade para a investigação crítica de muitos tipos de neoplasia conhecidos (COTCHIN, 1962; DORN, BERKELEY, 1967; TJALMA, 1963, 1968). Nos últimos anos houve enormes avanços no diagnóstico e tratamento das neoplasias na medicina humana, no entanto os estudos em medicina veterinária, principalmente envolvendo animais de produção, não têm acompanhado este ritmo (CULLEN; BREEN, 2016). A literatura que relata tumores na espécie bovina é escassa e desatualizada (CAPPELLERI et al., 2022; VASCONCELOS et al., 2023). Portanto, embora as neoplasias possam ser menos frequentemente diagnosticadas em animais de produção em comparação com animais de companhia, sua importância não deve ser subestimada. O impacto econômico, os desafios no diagnóstico e manejo, as considerações éticas de bem-estar animal e as implicações para a saúde pública ressaltam a necessidade de atenção contínua e esforços dedicados para abordar as neoplasias em animais de produção (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013; TESSELE; BARROS, 2016; VASCONCELOS et al., 2023). A maioria das informações de tumores são geradas a partir de trabalhos oriundos de laboratórios de patologia (RAMOS et al., 2008; BASTIANELLO, 1983; CARVALHO, 2014; ALVAREZ et al., 1982; KIMURA et al., 2012; LUCENA et al., 2011; MOHARRAM et al., 2019; NAGHSHINEH; HAGDOOST; DEZFULI, 1991; PEROSA et al., 2024; REIS et al., 2017; RONDELLI et al., 2017; SHARMA et al., 2019; SHRUTHI PJ, 2018; TESSELE; BARROS, 2016; VASCONCELOS et al., 2023). Estes estudos relataram a presença de tumores em uma porcentagem que varia entre 1% e 14% em bovinos submetidos a investigação a partir de lesões selecionadas (RAMOS et al., 2008; CARVALHO, 2014; LUCENA et al., 2011; MURRAY, 1968; NAGHSHINEH; HAGDOOST; DEZFULI, 1991; PEROSA et al., 2024; REIS et al., 2017; RONDELLI et al., 2017). No entanto, as informações obtidas dessas fontes fornecem pouca indicação da prevalência em populações de animais por vezes sendo apenas de relato de casos.

Os abatedouros frigoríficos são importantes fontes de detecção de doenças em animais de produção e através de estudos retrospectivos e prospectivos nesses locais (LUCENA et al., 2011; TESSELE; BARROS, 2016). Existem vários estudos sobre tumores em frigoríficos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; DUKES; BUNDZA; CORNER, 1982; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; PLUMMER, 1948; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982). Mas poucos possibilitam calcular uma prevalência na população. A prevalência de tumores é extremamente variável em pesquisas realizadas em bovinos abatidos, variando de 2,5 por 100.000 a 279 por 100.000 bovinos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982). Os tumores da glândula adrenal estão entre os mais frequentemente observados em bovinos nas linhas de abate (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; DUKES; BUNDZA; CORNER, 1982; NOVLOSKI; SANTOS, 1970; MISDORP, 1967; MOULTON, 1963; PLUMMER, 1948, 1956; RADKOWSKI; SIEMIONEK; ZDRODOWSKA, 2010; SCHAMBER; OLSON; WITT, 1982). Por outro lado, são raros os estudos envolvendo seus aspectos epidemiológicos, histológicos, imunohistoquímicos e de microscopia eletrônica (BIASIBETTI et al., 2017; EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; WRIGHT; CONNER, 1968), especialmente

relacionados à imunohistoquímica e microscopia eletrônica em carcinomas corticais que somam poucos casos (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013).

O objetivo deste estudo foi descrever os aspectos macroscópicos, microscópicos e imunohistoquímicos de tumores de glândula adrenal de bovinos abatidos em frigoríficos no estado de Mato Grosso.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Obtenção das amostras, avaliação macroscópica e destino das carcaças**

Para este estudo foram selecionadas 42 neoplasias da adrenal obtidas de bovinos submetidos ao abate em frigoríficos sob inspeção estadual e federal no estado de Mato Grosso. Trinta e uma amostras foram coletadas entre os anos de 2011 e 2013 em um frigorífico sob inspeção federal em Sinop, neste primeiro momento não foi contabilizado o total de bovinos abatidos no período.

O segundo período de coleta, agosto de 2019 a novembro de 2020, ocorreu em indústrias frigoríficas das quatro principais regiões de pecuária do Estado de Mato Grosso. A escolha desses frigoríficos, para cada região, levou em consideração o maior número de bovinos abatidos sob inspeção estadual e federal, segundo registro do Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso (inspeção estadual), e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (inspeção federal), sendo selecionada uma indústria do sistema de inspeção federal e uma do serviço de inspeção sanitária estadual para cada região. No período foram coletadas 11 neoplasias adrenais em uma população total de 1.536.636 bovinos abatidos.

Para as coletas foi respeitado o padrão de funcionamento normal do abate em cada unidade. Quando identificado, durante do abate, alteração compatível com neoplasia de adrenal, era realizada a mensuração e descrição macroscópica da massa. O cálculo da idade dos animais foi realizado observando o desgaste dos dentes, foi realizado pelo na linha de abate e utilizou-se uma fórmula dentária para calcular a idade aproximada dos bovinos, seguindo a metodologia descrito por (WHITING et al., 2013), a média de idade e o desvio padrão foram calculados. Anotava-se ainda a destinação dada a carcaça determinada pelo serviço de inspeção. Após a avaliação macroscópica, fragmentos da área suspeita foram coletados em formalina tamponada a 10% e enviadas ao Laboratório de patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (LPV-UFMT) para complementação diagnóstica.

### **Avaliação histológica**

Ao serem trazidas ao LPV-UFMT as amostras foram processadas rotineiramente para avaliação histopatológica conforme segue: desidratação em soluções crescentes de álcool etílico a 70%, 80%, 90% e 100%, diafanização em xileno a 100% e inclusão em parafina histológica a 70°C. Em seguida, foram confeccionados blocos de parafina, posteriormente cortados em micrótomo manual na espessura de 5 micrômetros. Os cortes obtidos foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina. Quando necessário, utilizou-se as técnicas do ácido periódico de Schiff (PAS) e Von Kossa para verificar presença de mucopolissacarídeos ou cálcio, respectivamente. (SCHNEIDER, 2021; ZAKOUT et al., 2024)

Neoplasias adrenocorticais, na ausência de metástases, foram consideradas malignas quando expressassem pelo menos três dos critérios histológicos preconizado por (GROSSI et al., 2013) para bovinos, baseado no sistema de Weiss: invasão vascular, invasão extensiva na cápsula, padrão de crescimento difuso (ausência de organização em ninhos, trabéculas ou cordões), predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear.

### **Imunohistoquímica (IHQ)**

Todas as amostras foram submetidas a imuno-histoquímica utilizando anticorpos primários anti: Ki-67, Citoqueratina, Vimentina, Melan A, Cromogranina A (GRG-A), e Sinaptofisina. Todas as amostras foram cortadas em 5µm e montadas em lâminas histológicas positivadas. Após desparafinação e reidratação, as peroxidases endógenas foram bloqueadas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% por 20 minutos. A recuperação antigênica foi realizada com tampão citrato (2,1 gramas de ácido cítrico em 1 litro de água destilada, Tween 20 a 0,05%, pH 6,0). O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado através da incubação com leite desnatado 5%. Os cortes foram incubados com anticorpo primário em câmara úmida por 12 horas. Para controles positivos, foram utilizados tecido adrenal bovino saudável. Nos controles negativos os anticorpos primários foram substituídos por solução salina tamponada. Após lavagem com solução salina tamponada, foi realizada ainda a incubação com anticorpo secundário biotinilado (Dako LSAB2 System Streptavidin-HRP, Dako North America, Califórnia, EUA). Adicionou-se 3-amino-9-etilcarbazol (AEC) em solução tampão de substrato (Dako AEC Substrate Chromogen, Dako North America, Califórnia, EUA) que foi incubado com cromogênio e deixou-se reagir até ficar na cor marrom. Após a lavagem, os cortes foram contracolorados com hematoxilina, enxaguados com água corrente, desidratados com álcool e xilol, montados com lamínulas.

Para a avaliação qualitativa, a imunorreação foi classificada como: coloração negativa (-), fracamente positiva (+), moderadamente positiva (++) e fortemente positiva (+++). Foi realizada avaliação quantitativa para Ki-67, utilizando o software QuPath 0.4.4. Empregou-se contagem semiautomática de um mínimo de 1.000 núcleos por amostra em áreas de maior densidade de marcação. O índice de proliferação Ki-67 foi definido como o número de núcleos positivos para Ki-67 (células tumorais) dividido pelo número total de células tumorais contadas, expresso como uma porcentagem foi classificada como: <1%, 1-3% e >3% seguindo metodologia por (LABELLE et al., 2004; WANG et al., 2022).

**Análise Estatística.** Para verificar se havia relação entre os tamanhos das massas e o tipo de neoplasia, após a avaliação da normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

### **RESULTADOS**

A prevalência de neoplasias de adrenal em bovinos em 2020 foi de 0,72/100.000 cabeças abatidas. Não foi possível calcular a frequência com relação às amostras obtidas entre 2011 e 2013. Dentre os bovinos que apresentaram neoplasia de adrenal, a idade variou entre 3 e 12 anos com média de 6,3 +/-2,6 anos. As fêmeas representaram 95% das amostras (40/42). No total foram encontradas 42 neoplasias de adrenal distribuídas em 29 adenomas de córtex (69%), nove carcinomas corticais (21%) e quatro feocromocitomas (10%). Com relação ao destino das carcaças na linha de abate, 10/42 (24%) foram liberados; 7/42(17%) carcaças foram desviadas para graxaria; 25/42(59%) foram destinadas à produção de conserva. As características macroscópicas e destino das carcaças encontram-se representadas na Tabela 2. Macroscopicamente as neoplasias eram caracterizadas como massas arredondadas a ovaladas com tamanho variando de 2,5 cm a 25 cm de diâmetro, com coloração variando entre brancacenta, marrom ou vermelho escuro. A massa apresentava crescimento expansivo, as vezes era encapsulada e possuía consistência variando entre friável e firme. Não houve correlação estatística entre o tamanho e o tipo de neoplasia. As características macroscópicas encontram-se dispostas na Tabela 2.

Histologicamente a maioria (36/38) das neoplasias corticais apresentaram padrão de crescimento sólido caracterizados como massas bem delimitadas, organizadas em ninhos, cordões ou trabéculas entremeadas delimitadas por pequenos espaços vasculares ou delicado estroma fibrovascular (Figuras 1 e 2). Os carcinomas muitas vezes apresentavam padrão de crescimento predominantemente difuso (não organizado em ninhos, cordões ou trabéculas) (Figura 1b) associado ou não à invasão capsular e/ou vascular. As células eram uniformes, arredondadas a ovaladas, por vezes fusiformes, com citoplasma volumoso, levemente eosinofílico, frequentemente multivacuolizado e com bordos indistintos. Frequentemente, tanto adenomas (18/29) como carcinomas (6/9) apresentavam, aleatoriamente, espaços entre as células tumorais que geralmente eram preenchidos por material hialino que se corava pelo método de PAS. Essas áreas, muitas vezes, apresentavam grânulos de mineralização que se coravam pelo método de Von Kossa, em intensidade variável (Figura 3). Em dois casos o diagnóstico baseou-se na presença de metástases (Figura 4) e em um deles havia evidente invasão vascular (Figura 5). As características histológicas encontram-se sumarizadas na Tabela 3.

A maioria dos feocromocitomas se expandiam a partir da região medular e comprimiam o córtex causando sua atrofia. Eram caracterizados por massas sólidas, arrançadas em ninhos delimitados por delicado estroma fibrovascular (padrão Zellballen). As células eram pequenas, em formato poliédrico, alongado ou fusiforme com citoplasma granular. Em todos os foi necessário a utilização de

imunohistoquímica para determinar o diagnóstico, uma vez que havia grande semelhança com os adenomas corticais (Figura 7).

Nas glândulas adrenais bovinas normais o anticorpo anti-melan A marcou difusamente o citoplasma das células das regiões, glomerular, fascicular e reticular (figura 6 a-b). Por sua vez, os anticorpos sinaptofisina (figura 6 c-d) e CRG-A (figura 6 e-f) apresentaram imunomarcção difusa de grânulos citoplasmáticos das células da região medular. O anticorpo anti vimentina proporcionou marcação citoplasmática difusa no cortex e foi fraca na região glomerular e forte nas regiões fascicular e reticular. Além disso apresentou marcação forte no tecido estromal da medula. Não houve imunomarcção por anticorpos contra citoqueratina na região medular ou cortical da glândula adrenal normal, no entanto houve forte marcação da capsula. (figura 6 g-h). As neoplasias corticais apresentaram marcação citoplasmática difusa com anticorpo anti Melan A, anti Sinaptofisina e anti cromogranina A em 25/29, 12/29 e 1/29 dos adenomas e em 5/9, 2/9 e 0/9 dos carcinomas, respectivamente (Tabela 4 e Figura 7). A marcação com anticorpo anti vimentina ocorreu nas células tumorais em 22/38 casos de neoplasias corticais e foi, de modo geral, forte e aleatória, por outro lado, notou-se forte marcação citoplasmática das células do estroma em 35/38 casos. Não foi observada marcação com anticorpo anti citoqueratina no tecido tumoral, no entanto a capsula apresentou forte marcação em todos os casos. Houve marcação com anticorpo anti Ki-67 em 4/38 das neoplasias corticais. Três casos apresentaram marcação <1% de núcleos imunomarcados e uma amostra com marcação >3% de núcleos marcados.

As neoplasias caracterizadas como feocromocitomas foram imunomarcados com o anticorpo anti Sinaptofisina detectando-se moderada a intensa e difusa marcação citoplasmática em todos os casos. Marcação citoplasmática intensa com Anti CRG-A foi notada em 3/4 das neoplasias. A marcação com anti vimentina foi positiva em 4/4 de células aleatórias com marcação citoplasmática além, no tecido estromal tumoral. Não foi observada marcação com os anticorpos anti melan A, anti Citoqueratina e anti Ki-67. As imunomarcção e suas intensidades para todas as neoplasias encontram-se resumidas na Tabela 4.

## DISCUSSÃO

A prevalência de neoplasias de adrenal em bovinos neste estudo foi de 0,72/100.000 cabeças de bovinos abatidas. Apesar de existirem vários estudos sobre neoplasmas em frigoríficos, poucos permitem calcular sua prevalência na população. A prevalência de neoplasias é extremamente variável em pesquisas realizadas em bovinos abatidos oscilando entre 2.5 e 279 por 100.000 bovinos (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS,1970; MISDORP et al.,1967; MOULTON et al.,1963; RADKOWSKI et al.,2010; SCHAMBER et al.,1982). Considerando apenas as neoplasias de adrenal, a amplitude pode ser ainda maior variando de 0.12 a 948 neoplasias de adrenal para cada 100.000 cabeças de bovinos abatidas. Essa variação pode ser explicada pela acurácia da avaliação das glândulas adrenais adotadas na metodologia. Neste estudo, as glândulas adrenais foram avaliadas seguindo a rotina da linha de inspeção de cada frigorífico e apenas as glândulas que apresentassem aumento de volume visível eram avaliadas pelos inspetores. Essa metodologia foi a mesma empregada por (BRANDLY; MIGAKI, 1963; CAPPELLERI et al., 2022; NOVLOSKI; SANTOS,1970) que observaram prevalência de 0.12, 3.62 e 24 neoplasias de adrenal por 100.000 bovinos abatidos, respectivamente. Por outro lado, empregando a avaliação sistemática das glândulas adrenais (BIASIBETTI et al., 2017; WRIGHT; CONNER, 1968). encontraram as surpreendentes marcas de 718 e 948 neoplasias por 100.000 bovinos abatidos, respectivamente, evidenciando que a prevalência dessa neoplasia é frequentemente subestimada.

Neste estudo observou-se que 32/42 (76%) carcaças com neoplasia geraram perdas econômicas seja pela destinação à graxaria (produtor não recebe nenhum valor) ou à conserva (produtor recebe 50% do valor da carcaça). Considerando o peso médio das carcaças em 260Kg e o preço médio de US\$ 5004 pago por tonelada no ano de 2023 (IBGE, 2024) os prejuízos somariam US\$ 25.370. Apesar de parecer um valor baixo frente ao número de bovinos abatidos no período, as perdas por neoplasias somam valores razoáveis no Brasil, considerando que no ano de 2023 as neoplasias resultaram na condenação de 7552 carcaças (SIGSIF, 2024) totalizando um prejuízo de US\$9.825.454.

A classificação das neoplasias em corticais ou medulares foi uma das grandes dificuldades encontradas. Todos os casos classificados como feocromocitomas eram caracterizados por ninhos de células poliédricas ou fusiformes delimitados por delicado estroma fibrovascular. Este padrão, classicamente chamado zellballen, é considerado típico dos paragangliomas e feocromocitomas (KIUPEL, 2008; ROSOL; MEUTEN, 2016), no entanto, morfológicamente ele era idêntico aos observados em adenomas corticais bem diferenciados e sua correta histogênese só pôde ser determinada através da imunohistoquímica. A distinção morfológica entre neoplasias corticais e medulares da glândula adrenal pode ser difícil e marcadores imunohistoquímicos são efetivos para tal diferenciação (WEISSFERDT et al., 2014; ZHANG et al., 2003).

Melan A apresentou sensibilidade de 79% e especificidade de 100% com relação às neoplasias corticais e, assim como observados em outros estudos envolvendo bovinos (EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013), caninos (RAMOS-VARA et al., 2001) e humanos (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2014; ZHANG et al., 2003), este marcador mostrou-se útil para distinguir neoplasias corticais e medulares da adrenal.

A Sinaptofisina mostrou alta sensibilidade e especificidade para neoplasias medulares no estudo desenvolvido por (GROSSI et al., 2013). Por outro lado, apesar de ter apresentado marcação difusa moderada a forte em todos os feocromocitomas, ela apresentou moderada especificidade marcando 50% dos tumores corticais. Em um outro estudo conduzidos em bovinos ela não marcou nenhum carcinoma de adrenal ou feocromocitoma (BIASIBETTI et al., 2017). A Sinaptofisina em estudos desenvolvidos em humanos apresenta, frequentemente marcação tanto em tumores corticais como medulares (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2013) Por outro lado, ela é considerada útil quando utilizada em conjunto com Cromogranina A (WEISSFERDT et al., 2013), pois este último marcador apresenta alta sensibilidade e especificidade para neoplasias medulares em humanos, (DELELLIS; SHIN, 2003; SANGOI et al., 2011; WEISSFERDT et al., 2013), bovinos (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013; MILLER et al., 2009), assim como observado neste estudo, uma vez que a Cromogranina A apresentou marcação difusa moderada a forte em 75% dos feocromocitomas e marcação fraca em apenas 1 adenoma. Neste estudo, com relação aos marcadores para filamento intermediário, o anticorpo anti Vimentina, nas neoplasias corticais e medulares, apresentou padrão de marcação diferente dos observados nas adrenais normais estudadas. Nas células neoplásicas notou-se marcação citoplasmática forte, porém em células aleatoriamente distribuídas, diferentemente da marcação citoplasmática forte e regularmente distribuída por todo córtex. Por outro lado, no estroma neoplásico, a marcação foi forte e regularmente distribuída por toda neoplasia. Já o anticorpo anti Citoqueratina marcou apenas a cápsula, tanto nas glândulas normais quanto nas neoplásicas, no entanto não marcou células neoplásicas do córtex ou medula. A Marcação para Vimentina ocorre de forma irregular nas neoplasias corticais e em feocromocitomas (BIASIBETTI et al., 2017; GROSSI et al., 2013) já em humanos a marcação é difusa nas neoplasias corticais e em 25% dos feocromocitomas (DELELLIS; SHIN, 2003; LLOYD, 2011), por outro lado, a Citoqueratina, tanto em bovinos como humanos, apresenta marcação citoplasmática em neoplasias corticais e não marca feocromocitomas (GROSSI et al 2013, BIASIBETTI et al 2017). Embora este seja o padrão clássico para marcadores de filamento intermediário nas neoplasias corticais e medulares, nestas espécies, pode haver algumas variações ou marcações fracas dependendo do fixador, tempo de fixação ou recuperação antigênica (DELELLIS; SHIN, 2003; LLOYD, 2011).

O marcador de proliferação Ki-67 é utilizado como um indicador de malignidade dos tumores corticais em humanos (LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022a) e em caninos (LABELLE et al., 2004), no entanto, assim como observado neste estudo, em bovinos o índice entre adenomas e carcinomas não apresenta grande variação (GROSSI et al., 2013).

A presença de metástase ou invasão vascular é o critério mais utilizado para diferenciar adenomas de carcinomas (BIASIBETTI et al., 2017; BRANDLY; MIGAKI, 1963; EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; MISDORP et al., 1967), por outro lado, morfológicamente, é difícil distinguir carcinomas que não metastizaram de adenomas, e dessa forma, a classificação das neoplasias adrenocorticais tem sido um grande desafio, tanto na medicina humana (LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022a) como em medicina veterinária (EDWARDS; RALSTON, 2013; GROSSI et al., 2013; LABELLE et al., 2004).

Em humanos, um conjunto de diretrizes histológicas conhecidas como sistema de Weiss tem sido usado para diferenciar tumores adrenocorticais benignos de tumores com potencial maligno (AUBERT et al., 2002; LAU; WEISS, 2009; METE et al., 2022). Da mesma forma, vários critérios morfológicos foram mais comuns em carcinomas do que em adenomas adrenocorticais em caninos e bovinos (GROSSI et al., 2013; LABELLE et al., 2004). Neste estudo apenas dois casos apresentaram metástases e, por isso, foram classificados como carcinomas. Outros sete casos de tumores adrenocorticais foram considerados malignos por expressarem pelo menos três dos critérios histológicos preconizado por (GROSSI et al., 2013) para bovinos, baseado no sistema de Weiss: invasão vascular, invasão extensiva na cápsula, padrão de crescimento difuso (ausência de organização em ninhos, trabéculas ou cordões), predominância de células fusiformes e pleomorfismo nuclear. Outros critérios morfológicos avaliados por (GROSSI et al., 2013), como necrose, hemorragia, ou um alto índice mitótico, que são indicativos de malignidade encontrados em outros tipos de tumor, não foram úteis para distinguir carcinomas de adenomas adrenocorticais em bovinos porque eles foram observados tanto em adenomas como em carcinomas metastáticos.

### **CONCLUSÃO**

Em conclusão, os tumores adrenais mais comuns em bovinos foram adenomas e carcinomas adrenocorticais. A distinção morfológica entre neoplasias corticais e medulares é desafiadora e exige a utilização de imunohistoquímica. Um painel imunohistoquímico composto por anticorpos anti melan A,

sinaptofisina e cromogranina A foi considerado útil para classificar os tumores adrenais mais comuns em bovinos.

**Agradecimentos.-** Agradecemos a toda a equipe do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). E a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

**Declaração de conflito de interesses.-** Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

#### REFERÊNCIAS

- ALVAREZ J. E., MARTINEZ J.M., ESPINOSA J., SANCHEZ A.1982. Casuistry and tumoral incidence in domestic animals. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, v. Vol. 28, p. 29–37.
- AUBERT S., WACRENIER A., LEROY X., DEVOS, P., CARNAILLE B., PROYE C., WEMEAU J.L., LECOMTE-HOUCKE M., LETEURTRE M. 2002. Weiss System Revisited A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 49 Adrenocortical Tumors. *The American Journal of Surgical Pathology*. v. 12, p.1612-1619. DOI: <10.1097/0000478-200212000-00009>
- BASTIANELLO S. S. 1983. A survey on neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the republic of south africa iv. tumours occurring in equidae. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. v. 50, p.91-96, 1983. < PMID: 6634089 >
- BIASIBETTI E., GIORCELLI J., DEIDERI F., BIANCO P., CAPUCCHIO M. T., VOLANTE M. 2017. Adrenal gland tumors in dairy cattle from Northern Italy: Morphological and phenotypical characterization in comparison with human pathology. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 20, n.4, p. 779–788. <DOI: 10.1515/pjvs-2017-0098>
- BRANDLY, P. J.; MIGAKI, G. Types of tumors found by federal meat inspectors in an eight-year survey. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 108, n. 3, p. 872–879, 1963. < DOI: 10.1111/j.1749-6632.1963.tb13426.x >
- CAPPELLERI A., Minoli L. Pigoli C., Costa A., Zaghini L., Bassanini L., Sinelli M., Perri M., Luini M.V., Tagliabue G., Gibelli L.R., Scanziani E. 2022. Retrospective study of tumors from cattle slaughtered in Lombardy (Italy): preliminary evaluation on the establishment of a bovine cancer registry. *Veterinaria Italiana*, v. 58, n. 1, p. 67–75, < DOI: 10.12834/VetIt.2421.15367.1 >
- COTCHIN E. 1962. Problems of Comparative Oncology with Special Reference to the Veterinary Aspects. *Bull World Health Organ* v.26, p.633-648. < PMCID: PMC2555780>
- CULLEN J. M.; BREEN, M. An Overview of Molecular Cancer Pathogenesis, Prognosis, and Diagnosis. Em: *Tumors in Domestic Animals*. Wiley, 2016. p. 1–26. < DOI: 10.1002/9781119181200.ch1>
- CARVALHO F. K., DANTAS A., RIET-CORREA F., DE ANDRADE R., NETO P., DE MIRANDA NETO E., SIMÕES S., AZEVEDO S. 2014. Estudo retrospectivo das neoplasias em ruminantes e equídeos no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, n.3, p. 2011–2016. < <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000300003> >
- DELELLIS R. A.; SHIN, S. J. 2003. Review Immunohistochemical Characteristics of Adrenocortical Carcinoma: An Overview. *Acta Histochem. Cytochem*. v. 36, n. 4, p. 293-298. < <https://doi.org/10.1267/ahc.36.293>>
- DUKES, T. W.; BUNDZA, A.; CORNER, A. H.1982. Bovine Neoplasms Encountered in Canadian Slaughterhouses: A Summary. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 23, p. 28–30. <PMCID: PMC1790076 >
- DORN, R., BERKELEY. 1967. The epidemiology of cancer in animals. *Califórnia medicine*, v. 107, n. 6, p. 481–489. < PMID: 4865378 >
- EDWARDS, J. F.; RALSTON, K. E. 2013. Adrenal cortex carcinomas with distant metastases in beef cattle at slaughter. *Journal of Comparative Pathology*, v. 149, n. 1, p. 1–9. < <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.09.009> >

- MASSARI F., NICOLI S., ROMANELLI G., BURACCO P., ZINI E. 2011. Adrenalectomy in dogs with adrenal gland tumors: 52 cases (2002–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 239, n. No. 2, p. 216–221. < DOI: 10.2460/javma.239.2.216 >
- GROSSI A. B., LEIFSSON P., JENSEN H., VAINER B., IBURG T. 2013. Histologic and Immunohistochemical Classification of 41 Bovine Adrenal Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology*, v. 50, n. 3, p. 534–542. < DOI: 10.1177/0300985812469638 >
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária Rio de Janeiro: IBGE, 2023.
- KIUPPEL, M. Histological classification of tumors of the endocrine system of domestic animals. Em: Washington, DC : Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with the CL Davis DVM Foundation and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology. [s.l.: s.n.]. v. XIIp. 43–49.
- KIMURA K. C., GARATE A. P., DAGLI M. L. 2012. Retrospective study of Neoplasms in Domestic Animals: a Survey Between Retrospective Study of Neoplasms in Domestic Animals: a Survey Between. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v. 5, n. 2, p. 60–69.
- LABELLE, P., Kyles A., Farver T., De Cock H. 2004. Indicators of Malignancy of Canine Adrenocortical Tumors: Histopathology and Proliferation Index. *Veterinary Pathology*. v.41, p. 490-497. < DOI: 10.1354/vp.41-5-490 >
- LAU S. K.; WEISS L. M. 2009. Weiss system for evaluating adrenocortical neoplasms: 25 years later. *Human Pathology*, v. 40, n. 6, p. 757–768. < DOI: 10.1016/j.humpath.2009.03.010 >
- LLOYD, R. V. 2011. Adrenal cortical tumors, pheochromocytomas and paragangliomas. *Modern Pathology*, v. 24, p. S58–S65. < DOI: 10.1038/modpathol.2010.126 >
- LUCENA R. B., Rissi D., Kommers G., Pierezan F., Oliveira-Filho J., Macêdo J., Flores M., Barros C. 2011. A Retrospective Study of 586 Tumours in Brazilian Cattle. *Journal of Comparative Pathology*, v. 145, n. 1, p. 20–24, jul. 2011. < DOI: 10.1016/j.jcpa.2010.11.002 >
- MATTIUZZI, C.; LIPPI, G. 2019. Current cancer epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health*, v. 9, n. 4, p. 217–222. < DOI: 10.2991/jegh.k.191008.001 >
- MAX MURRAY. 1968. Neoplasms of domestic animals in east Africa. *British Veterinary Journal*, v. 124, p. 514–523. <https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)39090->
- METE O., ERICKSON L., JUHLIN C., DE KRIJGER R., SASANO H., VOLANTE M., PAPOTTI M. 2022. Overview of the 2022 WHO Classification of Adrenal Cortical Tumors. *Endocrine Pathology*. v.33, p.155-196. < DOI: 10.1007/s12022-022-09710-8 >
- METE O., ASA S., GILL A., KIMURA N., DE KRIJGER R., TISCHLER A. 2022. Overview of the 2022 WHO Classification of Paragangliomas and Pheochromocytomas. *Endocrine Pathology*. v.33, p.90-114. < DOI: 10.1007/s12022-022-09704->
- MILLER A., MASEK-HAMMERMAN K., DALECKI K., MANSFIELD K., WESTMORELAND S. 2009. Histologic and immunohistochemical characterization of pheochromocytoma in 6 cotton-top tamarins (*saguinus oedipus*). *Veterinary Pathology*, v. 46, n. 6, p. 1221–1229. <DOI: 10.1354/vp.09-VP-0022-M-FL >
- MISDORP W. 1967. Tumours in large domestic animals in the Netherlands. *Journal of Comparative Pathology*. v. 77, p.211-216. <https://doi.org/10.1016/0021-9975 (67)90013-8>
- MOHARRAM, I., WALAA A., MOHAMED H., MOHAMED S., ESAM M. 2019. A survey of tumors affecting cattle, buffaloes and sheep. *Veterinary Medical Journal*, v. 20, n. 2, p. 70–78. < DOI: https://doi.org/10.21608/mvmj.2019.22.107>

- MOULTON, J. E. 1963. Occurrence and types of tumors in large domestic animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 108, n.3, p. 620–632. < DOI: 10.1111/j.1749-6632.1963.tb13412.x >
- NOVLOSKI G; SANTOS, J. 1970. Observações sobre a incidência de neoplasias em bovinos abatidos em frigorífico no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.5, p. 405–423.
- NAGHSHINEH, R.; HAGDOOST, I. S.; MOKHBER-DEZFULI~, M. R. A. 1991. Retrospective Study of the Incidence of Bovine Neoplasms in Iran. *Journal of Comparative Pathology*, v. 105, p.235-239.  
< DOI: 10.1016/s0021-9975(08)80080-1 >
- SIGSIF-Sistema de Informações Gerenciais do SIF. Ministério da Agricultura e Pecuária. Consulta pública: Condenação de Animais por Espécie. Disponível em: [https://sistemas.agricultura.gov.br/pgs\\_sigsif/pages/view/sigsif/condenacaoanimal/index.xhtml](https://sistemas.agricultura.gov.br/pgs_sigsif/pages/view/sigsif/condenacaoanimal/index.xhtml) Acesso em: 01/10/2024
- PEROSA, F., GRIS A., PIVA M., SCHWERTZ C., HENKER L., LORENZETT M., SANTIANI F., BALDI K., GOMEST., CASAGRANDE R., MENDES R. 2024. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório de Patologia Veterinária no decênio 2013-2022. *Boletim de Diagnóstico do Laboratório de Patologia Veterinária - IFC - Campus Concórdia*, v. 4, n. 1, 8. P. 43-65. < DOI: <https://doi.org/10.21166/bdpatvet.v3i1.2695> >
- PLUMMER P. J. G. A Survey of Twenty Four Tumours Collected from Animals Slaughtered. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v. 12, n. 7, p. 180–186, 1948. < PMID: 17648343 >
- PLUMMER P. J. G. 1956. A Survey Of Six Hundred And Thirty-Six Tumours From Domesticated Animals. *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science*, v. 20, n. 7, p. 239–251.  
< PMID: 17648902 >
- RADKOWSKI, M.; SIEMIONEK, J.; ZDRODOWSKA, B. 2010. Neoplastic lesions in slaughter animals in Warmińsko-Mazurskie voivodship (Poland) area during the years 2001-2007. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 13, n. 4, p. 669–672. < DOI: 10.2478/v10181-010-0014-3 >
- RAMOS A. T., DE SOUZA A., NORTE D., FERREIRA J., FERNANDES C. 2008. Tumores em animais de produção: aspectos comparativos. *Ciência Rural*, v. 38, n. 1, p. 148–154.
- RAMOS-VARA, J. A., BEISSENHERZ M., MILLER M., JOHNSON G., KREEGER J., PACE L., TURK J., TURNQUIST S., WATSON G., YAMINI B. 2001. Immunoreactivity of A103, an antibody to Melan A, in canine steroid-producing tissues and their tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v.13, p.328-332. <DOI: 10.1177/104063870101300408 >
- REIS, M. O., SLAVIERO M., LORENZETT M., CRUZ R., GUIMARÃES L., PAVARINI P., DRIEMEIER D., SONNE L. 2017. Neoplasmas bovinos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, Porto Alegre (2005-2014). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 2, p. 105–109. 2017. <DOI: 10.1590/S0100-736X2017000200002>
- RONDELLI, L. A., SILVA G., BEZERRA K., RONDELLI A., LIMA S., FURLAN F., PESCADOR C., COLODEL E. 2017. Doenças de bovinos em Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 5, p. 432–440. <DOI: 10.1590/S0100-736X2017000500002>
- ROSOL, T. J.; MEUTEN, D. J. 2016. Tumors of the Endocrine Glands. Em: *Tumors in Domestic Animals*. [s.l.] Wiley, 2016. p. 766–833. < DOI: 10.1002/9781119181200 >
- SANGOI A. R., FUJIWARA M., WEST R., MONTGOMERY K., BONVENTRE J., HIGGINS J., ROUSE R., GOKDEN N., MCKENNEY J. 2011. Immunohistochemical distinction of primary adrenal cortical lesions from metastatic clear cell renal cell carcinoma: A study of 248 cases. *American Journal of Surgical Pathology*, v. 35, n. 5, p. 678–686. < DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182152629 >

- SHARMA S., RAHMAN S., NASHIRUDDULLAH N., SOOD S., ABROL R., DEEPSHIKHA. 2019. Prevalence of spontaneously occurring animals neoplasms in Jammu. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v. 7, n. 6, p. 442–445.
- SCHAMBER G. J.; OLSON, C.; WITT, L. E. 1982. Neoplasms in Calves (*Bos taurus*). *Veterinary Pathology*, v9, p. 629-637. < DOI: 10.1177/030098588201900606 >
- SCHNEIDER M. R. 2021. Von Kossa and his staining technique. *Histochemistry and Cell Biology*. v.156, p.523-526, 1 dez. 2021. < doi: 10.1007/s00418-021-02051-3 >
- SHRUTHI P. J., SUJATHA K., SRILATHA C.H., RAYULU V. C. 2018. Incidence of different tumors in bovines. *Open Access Journal of Science*, v. 2, n. 4. < DOI: 10.15406/oajs.2018.02.00076 >
- STEINER, P. E.; BENGSTON, J. S. 1951. Research and economic aspects of tumors in food-producing animals. *Cancer*, v. 4, n. 5, p. 1113–1124, 1951. <DOI: 10.1002/1097-0142(195109)4:5<1113::aid-cncr2820040530>3.0.co;2-k >
- TESSELE, B.; BARROS, C. S. L. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, v. 36, n. 3, p. 145–160, 2016. < DOI: 10.1590/S0100-736X2016000300002 >
- TJALMA, R. A. Cancer epizootiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 108, n.3, p. 849–854, 1963. < DOI: 10.1111/j.1749-6632.1963.tb13424.x >
- TJALMA, R. A. 1968. Implications of animal cancers to human neoplasia: Epidemiologic considerations. *International Journal of Cancer*, v. 3, n. 1, p. 1–6. < https://doi.org/10.1002/ijc.2910030102 >
- VASCONCELOS J., PIRES M., ALVES A., VIEIRA-PINTO M., SARAIVA C., CARDOSO L., 2023. Neoplasms in Domestic Ruminants and Swine: A Systematic Literature Review. *Veterinary Sciences MDPI*. v.10, n.163, p. 1-17. <DOI: 10.3390/vetsci10020163 >
- WANG, L., WEI X., ZHANG O., LI F. 2022. Morphological and immunohistochemical characteristics associated with metastatic and recurrent progression in pheochromocytoma/paraganglioma: A cohort study. *Annals of Diagnostic Pathology*, v. 60, p. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2022.151981>
- WEISS L. M., MEDEIROS L., VICKERY A. 1989. Pathologic Features of Prognostic Significance in Adrenocortical Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, v. 13(3): p 202-206, p. 202–206. < DOI: 10.1097/00000478-198903000-00004 >
- WEISSFERDT A., Phan A., Suster S., Moran C. 2014. Adrenocortical Carcinoma: A Comprehensive Immunohistochemical Study of 40 Cases. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*.v.22, n. 1, p.24-30, 2014. < DOI: 10.1097/PAI.0b013e31828a96cf >
- WHITING, K. J., Brown S., Browne W., Hadley P., Knowles T. 2013. The anterior tooth development of cattle presented for slaughter: An analysis of age, sex and breed. *Animal*, v. 7, n. 8, p. 1323–1331. < DOI: 10.1017/S1751731113000499 >
- WRIGHT, B. J.; CONNER, G. H. Adrenal Neoplasms in Slaughtered Cattle Cancer research. v.28, p. 251-263, 1968. < PMID: 4966937 >
- ZAKOUT, Y. M., ABDELLAH M., ABDALLAH M., BATRAN S. 2024. Optimization of PAS stain and similar Schiff's based methods for glycogen demonstration in liver tissue. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 161, n. 4, p. 359–364. < DOI: 10.1007/s00418-023-02261-x >
- ZHANG, P. J., GENEGA E., TOMASZEWSKI J., PASHA T., LIVOLSI V. 2003. The role of calretinin, inhibin, melan-A, BCL-2, and c-kit in differentiating adrenal cortical and medullary tumors: An immunohistochemical study. *Modern Pathology*, v. 16, n. 6, p. 591–597. < DOI: 10.1097/01.MP.0000073134.60541.E8 >

Figura 1. Cortes histológicos de neoplasias adrenais. a- Adenoma caracterizado por células poligonais a alongadas arranjadas em ninhos (\*) delimitados por pequenos espaços vasculares (setas finas) ou delicado estroma fibrovascular (seta grossa). b- Adenocarcinoma composto por células poligonais em arranjo difuso. c- Feocromocitoma formado por células poliédricas a fusiformes delimitados por delicado estroma fibrovascular ou espaços vasculares (padrão zellballen) (\*). HE, 10x. Cuiabá/MT, 2024.

Figura 2. Cortes histológico de adenoma adrenocortical evidenciando células organizadas em cordões delimitados por delicado estroma fibrovascular (a e b). HE, 10x e 20x. Cuiabá/MT, 2024.

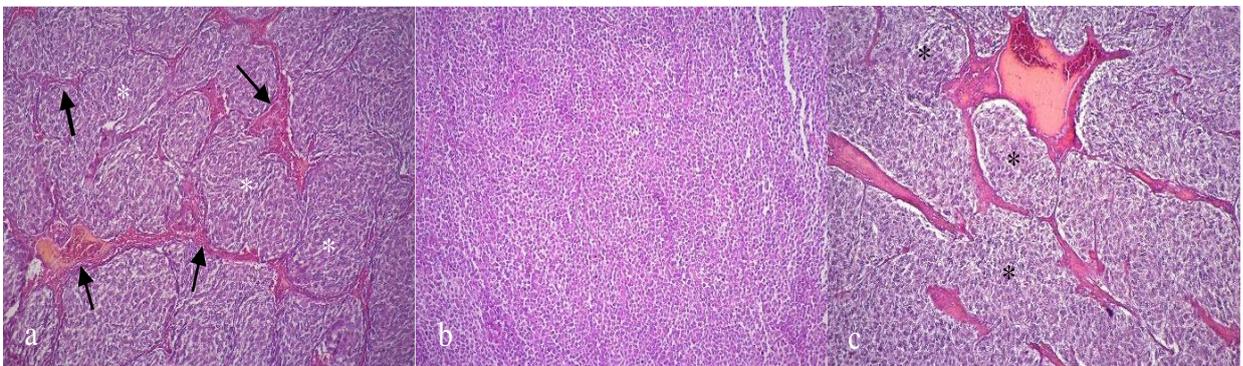
Figura 3. Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal. a- Carcinoma apresentando invasão na cápsula (setas grossas) e áreas preenchidas por conteúdo hialino (setas finas). b- Detalhe evidenciando várias áreas com deposição de material hialino (\*). HE, 2,5 e 5x. Cuiabá/MT, 2024.

Figura 4. Cortes histológicos de carcinoma Cortical adrenal. a- Carcinoma (\*) apresentando metástase comprimindo parênquima pulmonar adjacente (setas grossas). Carcinoma (\*) apresentando metástase comprimindo parênquima hepático adjacente (setas finas). HE, 5x. Cuiabá/MT, 2024.

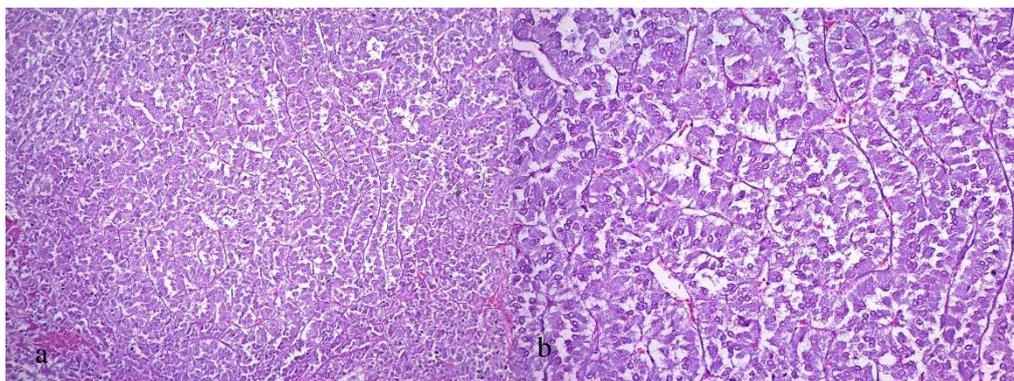
Figura 5. Cortes histológicos de carcinoma adrenocortical evidenciando massa neoplásica (N) invadindo a parede de uma veia (\*) em direção à luz do vaso (L). HE, imagem submicroscópica. Cuiabá/MT, 2024.

Figura 6. Reações de imunohistoquímica demonstrando o padrão de marcação em adrenal normal de bovino sadio. a e b- Melan A, c e d- Sinaptofisina, e e f- Cromogranina A. g e h- Citoqueratina com marcação da capsula. Reação à imunoperoxidase, obj. 2,5X e 10X. Cuiabá/MT, 2024.

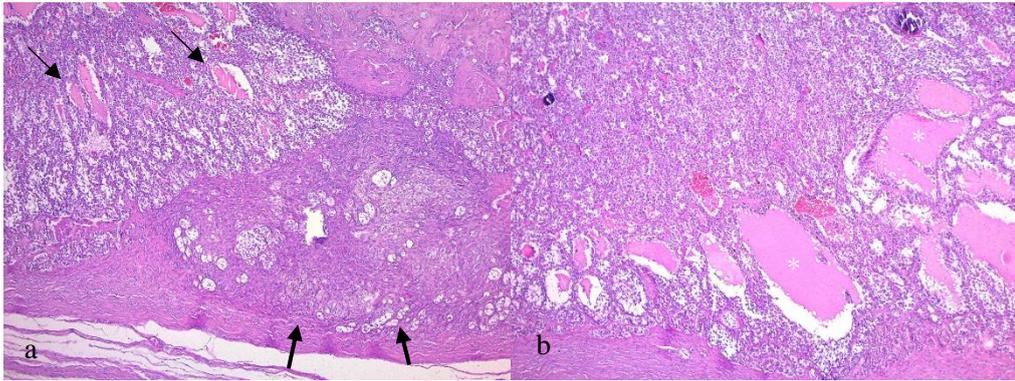
Figura 7. Padrões de histológico e de marcação observado em adenoma adrenocortical, carcinoma adrenocortical e feocromocitoma em bovinos abatidos em frigorífico em Mato Grosso. Notar a semelhança do padrão histológico entre adenomas e feocromocitomas da glândula adrenal. HE, 10x. Padrões de marcação imunohistoquímica, reação à imunoperoxidase, obj. 10X. Cuiabá/MT, 2024.



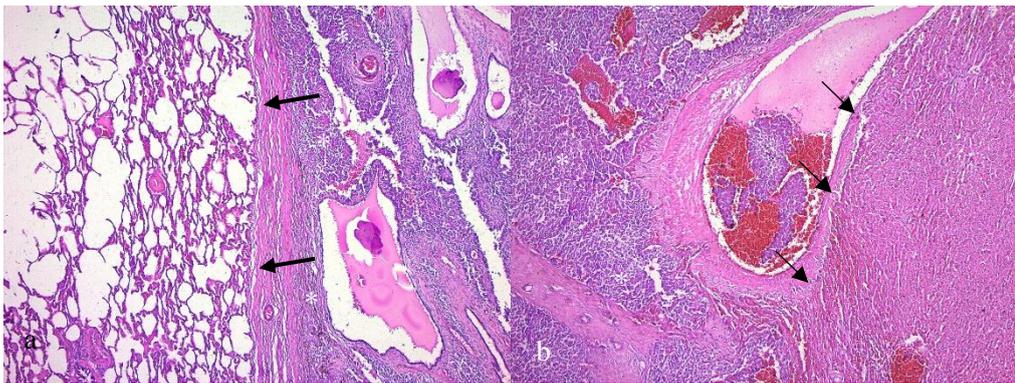
**Figura 1.**



**Figura 2.**



**Figura 3.**



**Figura 4.**

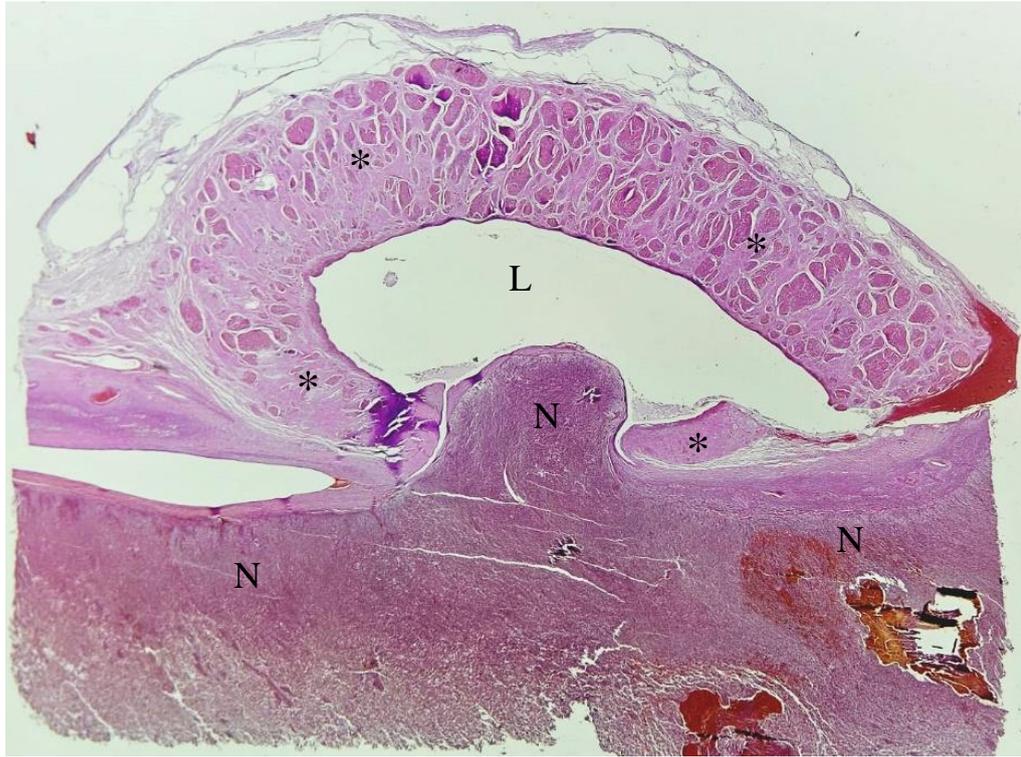
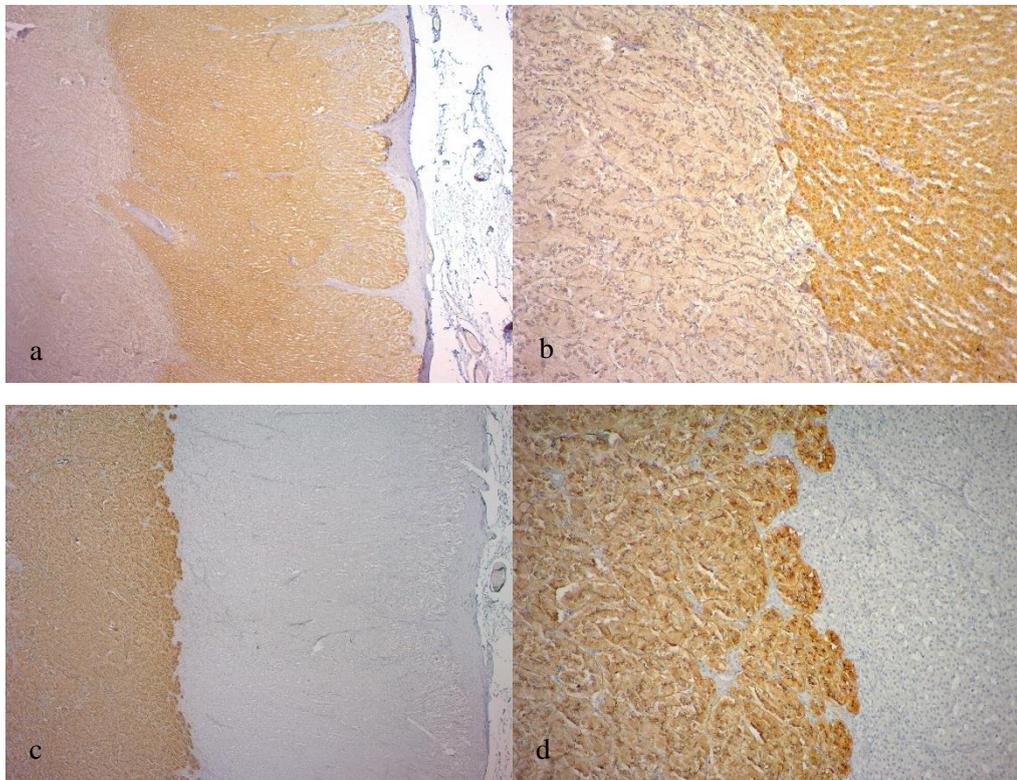
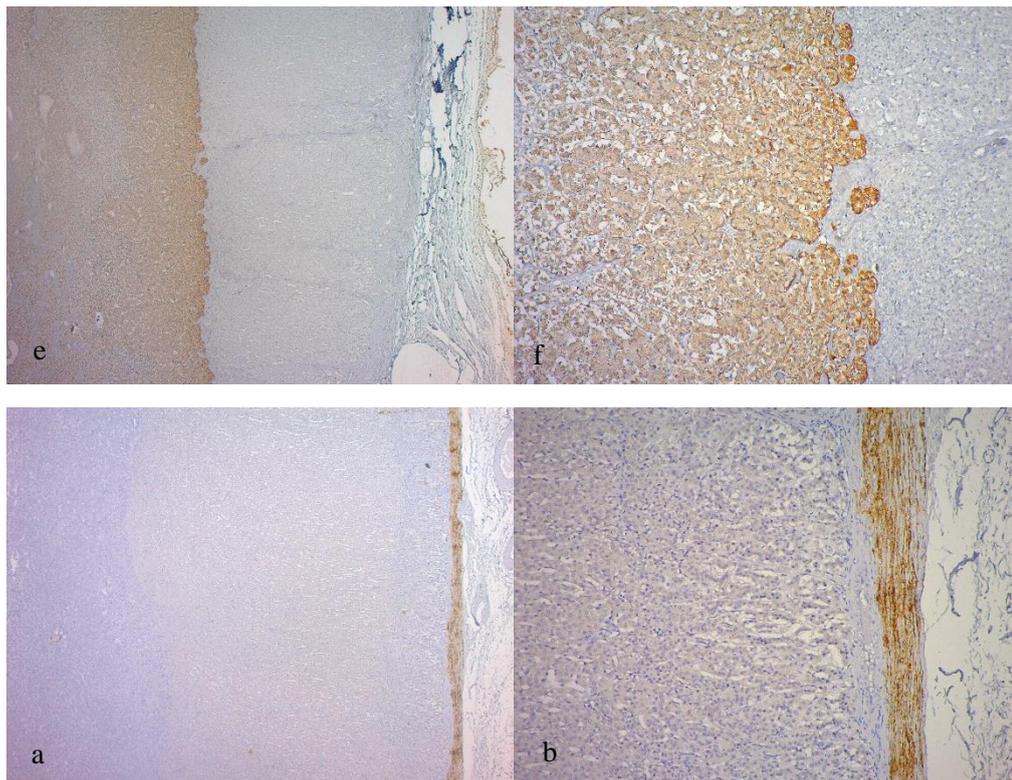
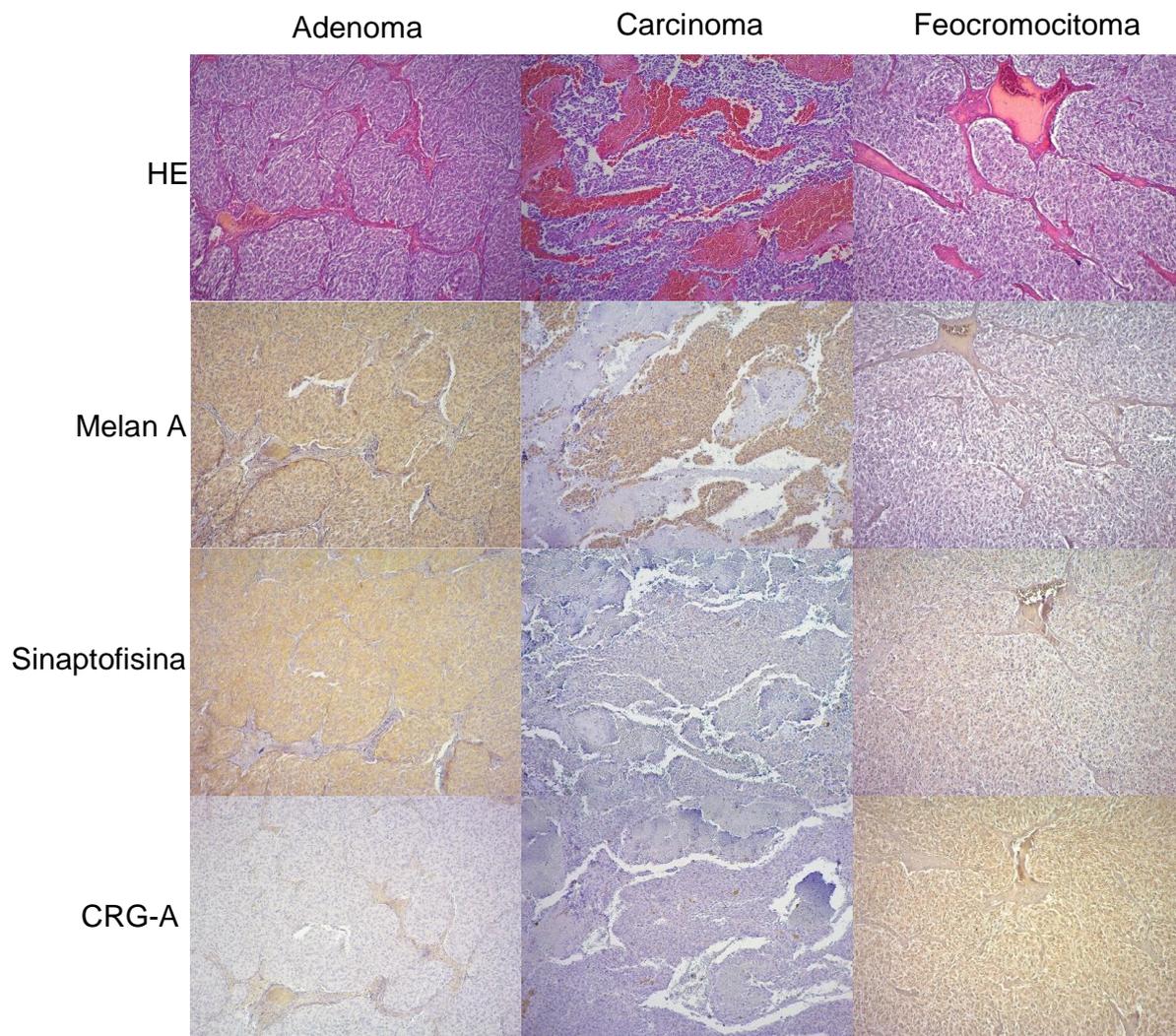


Figura 5.





**Figura 6.**



**Figura 7.**

**Tabela 1.** Anticorpos, clone, diluição, recuperação antigênica e sistema de detecção utilizado na IHQ

<b>Anticorpos</b>	<b>Clone</b>	<b>diluição</b>	<b>Recuperação de antígeno</b>	<b>Sistema de Detecção</b>
<b>Ki-67</b>	MIB-1	Pronto para uso		
<b>citoqueratina</b>	AE1/AE3	1:200	Tampão de citrato, pH 6.0	Biocare Medical MACH 4 Universal HRP- Polymer, California, USA
<b>vimentina</b>	V9	1:100	Tris EDTA,	
<b>melan A</b>	A103	1:100	pH 9.0	
<b>cromogranina A</b>	LK2H10 + PHE5	Pronto para uso		
<b>sinaptofisina</b>	DAK-SYNAP	Pronto para uso		

Ki-67, citoqueratina, vimentina, melan A, sinaptofisina (Aligent Dako, Santa Clara, United States); Cromogranina A (Biocare Medical Emergo Europe, westervoortsedijk, The Netherlands).

**Tabela 2.** Características macroscópicas dos tumores adrenais dos bovinos e destino da carcaça

	Neoplasias corticais		Feocromocitoma
	Adenoma	Carcinoma	
	29	9	4
<b>Macho</b>	1	1	0
<b>Fêmea</b>	28	8	4
<b>Variação da idade /média anos/desvio padrão</b>	5-5/5+/-0	3-12/6+/-2,6	5-12/7,6+/-3
<b>Variação de tamanho /média cm/desvio padrão</b>	2.5-20/8,4+/-4,8	3-17.5/9,6+/-4,2	6.0-25/12,5+/-10,8
<b>Presença capsula</b>	5/29	4/9	0/4
<b>Coloração Vermelho-escuro</b>	7/29	3/9	1/4
<b>Coloração Marrom</b>	9/29	2/9	2/4
<b>Coloração brancacenta</b>	13/29	4/9	1/4
<b>Consistência Friável</b>	15/29	7/9	2/4
<b>Consistência Macio</b>	8/29	2/9	0/4
<b>Consistência Firme</b>	6/29	0/9	2/4
<b>Metástase</b>	0/10	2/9	0/4
<b>Destino das metástases</b>	-	Fígado (1/9) e pulmão (1/9)	-
	<b>Destino da carcaça</b>		
<b>Liberado</b>	6/29	3/9	1/4
<b>Conserva</b>	18/29	4/9	3/4
<b>Graxaria</b>	5/29	2/9	0

**Tabela 3.** Características histológicas selecionadas em tumores adrenocorticais e tumores medulares de bovinos

Tipo de Neoplasia	Neoplasia cortical		Feocromocitoma
	Adenoma	Carcinoma	
Número de casos	29	9	4
	<b>Padrão de Crescimento</b>		
Ninhos, corões ou trabéculas	29/29	7/9	4/4
Difuso*	-	2/9	-
	<b>Particularidades</b>		
Necrose	6/29	4/9	1/4
Invasão vascular*	0/29	4/9	0/4
Invasão capsular*	2/29	8/9	3/4
Calcificações	6/29	1/9	0/4
Lagos hialinos	18/29	6/9	0/4
Células fusiformes*	19/29	6/9	4/4
Células poligonais	10/29	3/9	0/4
Média Mitose por 2,37mm <sup>2</sup>	0	0.33	0
Mitose atípica	1/29	1/9	0/4
Anisocitose	19/29	9/9	4/4
Anisocariose	27/29	9/9	4/4
Pleomorfismo nuclear*	19/29	9/9	4/4

**Tabela 4.** Resultados do painel imuno-histoquímico de bovinos com tumores adrenais

Anticorpos	Tecido normal		Neoplasia cortical						Feocromocitoma			
			Adenoma			Carcinoma						
	Córtex	Medula	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++	
Melan A	+++	-	1/29	10/29	14/29	0	2/9	3/9	0	0	0	
Sinaptofisina	-	+++	0	3/29	9/29	0	1/9	1/9	0	1/4	3/4	
Cromogranina A	-	++++	01/29	0	0	0	0	0	0	1/4	2/4	
	Estroma	+++	+	1/29	1/29	24/29	0	4/9	5/9	0	0	4/4
Vimentina	Células parênquima	+++	-	0	2/29	14/29	0	1/9	5/9	0	0	4/4
Citoqueratina	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			<b>Ki-67</b>									
<1%	NR	NR	0	0	1/29	0	0	2/9	0	0	0	
1-3%	NR	NR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>3%	NR	NR	0	0	1/29	0	0	0	0	0	0	

+ marcação fraca, ++ marcação moderada, +++ marcação forte, - marcação negativa, NR Não realizado

## APENDICE B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

14/10/24, 15:09

ScholarOne Manuscripts

 Pesquisa Veterinária Brasileira

 Home

 Author

### Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

**Submitted to**

Pesquisa Veterinária Brasileira

**Manuscript ID**

PVB-7597

**Title**

ASPECTOS MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS DE TUMORES DE GLÂNDULA ADRENAL EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS EM MATO GROSSO

**Authors**

Alfaro Quillas, Luis

**Date Submitted**

14-Oct-2024

[Author Dashboard](#)