



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ANÁLISES CITOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA NO DIAGNÓSTICO DE TUMORES DE CANÍDEOS

LUÍS FILIPE GOMES ROQUE BORGES FERREIRA

## CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Manuel Antunes  
Ferreira da Silva

Doutora Maria da Conceição da  
Cunha e Vasconcelos Peleteiro

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza

Doutor Mário António Pereira da  
Silva Soares de Pinho

## ORIENTADORA

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza

## CO-ORIENTADORA

Doutora Maria da Conceição da  
Cunha e Vasconcelos Peleteiro

2008

LISBOA









UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ANÁLISES CITOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA NO DIAGNÓSTICO DE TUMORES DE CANÍDEOS

LUÍS FILIPE GOMES ROQUE BORGES FERREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

## CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Manuel Antunes  
Ferreira da Silva

Doutora Maria da Conceição da  
Cunha e Vasconcelos Peleteiro

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza

Doutor Mário António Pereira da  
Silva Soares de Pinho

## ORIENTADORA

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza

## CO-ORIENTADORA

Doutora Maria da Conceição da  
Cunha e Vasconcelos Peleteiro

2008

LISBOA



















*“Só é vencido, quem desiste de lutar!”*

*Mário Alberto Soares*









*Aos meus Avós Maternos,  
Maria de Jesus e Francisco,*

*e aos meus Avós Paternos,  
Maria Manuela e Luís.*







## AGRADECIMENTOS

Nesta dissertação de final de mestrado, gostaria de agradecer a algumas pessoas que me apoiaram e ajudaram ao longo do meu estágio curricular, assim como durante todo o curso de Medicina Veterinária.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus **Pais**, por me terem possibilitado o ingresso no curso de Medicina Veterinária, que tanto significado tem para mim. O seu apoio ao longo de todo o meu percurso académico foi incondicional e, na recta final, deram-me a oportunidade de estagiar longe de casa, num local que me ensinou a crescer, não só como Médico Veterinário, mas também como pessoa. Ao meu irmão, **João**, pelo apoio ao longo destes seis anos de curso.

À **Lia**, por ter estado comigo nos bons e nos maus momentos, por ter partilhado comigo as vitórias e as derrotas, por ser um pilar na minha vida. Afinal de contas, esta foi só mais uma etapa dura e difícil das nossas vidas.

À Professora Doutora **Manuela Rodeia**, por me ter dado a oportunidade de estagiar num local único, a AZEVET, que muitas vezes se tornou a minha segunda casa. A sua presença, os seus ensinamentos práticos e a sua postura, são uma referência para mim.

À Professora Doutora **Conceição Peleteiro**, agradeço toda a disponibilidade e os preciosos ensinamentos práticos laboratoriais. A sua organização, o seu ritmo, por vezes difícil de acompanhar, e a sua firmeza no trabalho diário, foram determinantes para a minha formação.

À **Rafaela Lalanda**, pelo apoio, ajuda constante, companheirismo, e boa disposição nas inúmeras horas passadas na AZEVET.

Ao **Pedro Frazão**, pelo seu carisma, experiência de vida, bom humor, e por se ter revelado um excelente amigo.

À Dra. **Ivana Coimbra**, por ter sido, para mim, um modelo e inspiração na arte de exercer clínica de animais de companhia. A sua disponibilidade, simplicidade, simpatia e bom humor são cativantes, tornando-se numa amiga de excelência para a vida.

À Dra. **Helena Guerreiro**, pela boa disposição, carácter profissional e por ser uma mulher cheia de garra. Todas as contrariedades que surgiram ao longo da sua vida fazem dela uma pessoa especial, que não vira a cara à luta.

Ao Dr. **Rui Ferreira**, sinónimo de empenho e determinação no trabalho. A vontade de saber sempre mais, actualizando e aprofundando os conhecimentos, é um estímulo para os jovens médicos veterinários. A postura profissional, com que encara cada paciente é um exemplo.

À **Paula** e à **Sílvia**, exemplos de esforço, dedicação e bom humor. São a alma da AZEVET. Convosco aprendi bastante da vida, o que contribuiu de sobremaneira para o meu enriquecimento pessoal. À **Rita**, pela boa disposição e espírito jovem.

Ao Dr. **Hugo Pissarra**, pela enorme disponibilidade e vontade constante de ajudar. O seu apoio foi fundamental nas tarefas mais diversificadas possíveis.

Ao Professor **Jorge Correia**, ao Professor **José Ferreira da Silva** e ao Professor **Fernando Afonso**, pela colaboração prestada no seguimento dos casos clínicos no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária. À Professora **Isabel Neto**, pela preciosa ajuda na interpretação estatística.

À Dona **Maria do Rosário**, pela ajuda e pelas horas disponibilizadas no apoio a este estudo; à Dona **Maria Augusta**; incansável nas suas tarefas e nos seus pequenos mimos; à Dona **Sandra**, pela ajuda prestada nas tarefas laboratoriais; e à Dona **Manuela**, pelos inúmeros relatórios passados a computador.

Ao **Canôa**, grande amigo de longa data, com quem tive a felicidade de conviver e de aprender inúmeras coisas ao longo dos últimos nove anos, na Escola Secundária de Madeira Torres e na Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa. À **Leonor**, à **Ana Castro** e à **Isabel**, colegas e amigas com quem passei momentos de muita alegria e trabalho, ao longo do curso. E ao **Tiago**, grande amigo de faculdade, com quem tive a felicidade de passar grandes momentos de alegria e de convívio.

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ANÁLISES CITOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA NO DIAGNÓSTICO DE TUMORES DE CANÍDEOS

## RESUMO

O estágio curricular que deu origem a esta dissertação de mestrado teve lugar na AZEVET – Clínica Veterinária, situada em Brejos de Azeitão – Setúbal, e no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária. O presente estudo pretende dar um contributo para a compreensão das virtudes e das limitações da análise citológica, comparativamente à análise histopatológica. A análise citológica é um meio complementar diagnóstico pouco invasivo, que permite determinar a origem de uma lesão, seja ela inflamatória, neoplásica ou quística. A citologia permite, ainda, caracterizar as lesões em benignas ou malignas, determinando a origem celular das lesões neoplásicas, em epitelial, mesenquimatosa, de células redondas ou de origem neuroendócrina. No âmbito deste estudo comparativo, foram seguidos 28 canídeos, de ambos os sexos e diferentes raças. Estes animais apresentavam múltiplos nódulos/massas tumorais, num total de 57 neoformações. Para se diagnosticar a origem destas lesões, efectuaram-se punções aspirativas com agulha fina (PAAF) com o fim de se proceder ao exame citológico. Complementarmente, foram realizadas exéreses cirúrgicas das lesões, e, quando possível, necrópsias. As amostras colhidas foram analisadas microscopicamente no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV, procedendo-se ao estudo comparativo dos resultados citológicos e histopatológicos. No presente estudo optou-se por separar os tumores mamários, dos restantes tumores, pois tratam-se de neoplasias com grande expressão na clínica diária e com especificidades próprias. Assim, no que respeita à concordância entre a citologia e a histopatologia dos tumores mamários, esta foi de 92,3%, um valor superior aos encontrados na literatura. Os restantes tumores, de variadíssimos tipos, obtiveram uma concordância de 71%, o que se encontra um pouco abaixo do descrito por outros autores. Estes dados quando apreciados no seu conjunto, permitem constatar que a fiabilidade geral da citologia no presente estudo situou-se nos 80,7%. Este valor comprova que a análise citológica é uma técnica com alta aplicabilidade clínica, embora tenha algumas limitações. Esta técnica pode ser melhorada em termos de fiabilidade com o aumento da sua utilização e da sensibilização dos clínicos para as suas enormes vantagens.

*Palavras-Chave:* tumores; canídeos; citologia; PAAF; histopatologia.





# COMPARATIVE STUDY BETWEEN THE CYTOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EXAM IN THE CANINE TUMOURS DIAGNOSTIC

## ABSTRACT

This thesis was developed at AZEVET – Clínica Veterinária, in Brejos de Azeitão, Setúbal and in the Laboratory of Pathology of the Faculty of Veterinary Medicine. The present study shows the strengths and the weaknesses of the use of the cytological diagnosis, compared with histopathology. Cytologic analysis is a complementary diagnostic test that helps to identify the origin of a lesion, if it is inflammatory, neoplastic or cystic. It also permits to verify in neoplastic lesions if these are benign or malignant, of epithelial or mesenchymal origin, round cell tumours or of neuroendocrine origin. This comparative study of cytology and histopathology was performed on 28 dogs of both sexes and different breeds. The animals showed multiple nodules/tumoral masses, performing a total of 57 nodular growths. For the diagnosis of all these lesions, a fine needle aspiration biopsy (FNAB) was performed to do the cytological analysis. At the time of surgical resection or necropsy, samples were taken for histopathological exam. All the collected material was sent to the Laboratory of Pathology of FMV, where the comparative study of the results was made. In the present study the mammary tumours were separated from other nodules or neoplasms, because that neoplasms are a type of tumour with great expression in the daily clinical work. As a result, the accuracy of the cytology compared with the histopathology in the mammary tumours was 92,3%, which is higher than in other studies in this area. The other samples studied belong to a variety of different tumours, and the accuracy in this case was about 71%, which is lower than other studies developed in similar cases. If we appreciate the accuracy of the global study, with both mammary tumours and other lesions together, the final result is about 80,7%, which shows that the cytological exam is a very useful test in veterinary clinics, in spite of its limitations, and that it could be improved with the daily application and with the increase of awareness of the clinicians to its value.

*Key words:* tumours; dogs; cytology; FNAB; histopathology.



**ÍNDICE GERAL**

AGRADECIMENTOS .....	i
RESUMO .....	iii
ABSTRACT .....	v
ÍNDICE GERAL .....	vii
ÍNDICE DE TABELAS .....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS .....	x
 <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	 <b>1</b>
1.1 Descrição da Clínica .....	1
1.2 Plano de actividades .....	2
 <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	 <b>4</b>
2.1 Nota histórica .....	4
2.2 Objectivos da Citologia .....	5
2.3 A Célula e as suas Estruturas.....	6
2.4 Tipos de Diagnóstico em Citologia .....	7
2.4.1 Tecidos Normais ou Hiperplásicos .....	7
2.4.2 Lesões Quísticas .....	8
2.4.3 Inflamação .....	8
2.4.4 Lesão Tecidual .....	9
2.4.5 Neoplasias .....	10
2.4.5.1 Neoplasias Epiteliais .....	13
2.4.5.2 Neoplasias Mesenquimatosas .....	14
2.4.5.3 Neoplasias de Células Redondas .....	15
2.4.5.4 Neoplasias Endócrinas e Neuroendócrinas.....	15
2.5 Parâmetros Arquitecturais em Citologia: Correlação com a Histologia.....	17
2.6 Neoplasias Mamárias .....	18
2.6.1 Neoplasia da Glândula Mamária em Cadelas .....	18
2.7 Diferentes Técnicas de Obtenção de Esfregaços .....	21
2.8 Técnicas de Coloração das Amostras .....	24
2.9 Histopatologia .....	25
2.10 A Citologia e a Clínica Médica .....	26
2.11 A Fiabilidade da Citologia .....	28
 <b>3. OBJECTIVOS .....</b>	 <b>29</b>
 <b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	 <b>30</b>
 <b>5. RESULTADOS.....</b>	 <b>33</b>
 <b>6. DISCUSSÃO .....</b>	 <b>37</b>
 <b>7. CONCLUSÃO .....</b>	 <b>53</b>
 <b>8. BIBLIOGRAFIA .....</b>	 <b>53</b>
 ANEXO 1: Tabelas de Resultados .....	 57
ANEXO 2: Técnica de Punção Aspirativa com Agulha Fina .....	60
ANEXO 3: Imagens Microscópicas .....	63
ANEXO 4: Assistência a apresentações de temas clínicos durante o período de estágio curricular...	68
ANEXO 5: Técnica Histológica.....	69

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> – Características celulares dos três tipos básicos de neoplasias.....	16
<b>Tabela 2.</b> – Distribuição de nódulos por sexo e sua frequência relativa.....	33
<b>Tabela 3.</b> – Classificação dos nódulos de acordo com a histopatologia.....	35
<b>Tabela 4.</b> – Resumo dos níveis de concordância dos casos acompanhados.....	36

### ANEXO 1

<b>Tabela 1.1</b> – Quadro resumo relativo às lesões extra-mamárias.....	57
<b>Tabela 1.2</b> – Quadro resumo relativo às lesões mamárias.....	58

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> – Distribuição da idade dos canídeos por sexo.....	33
<b>Gráfico 2.</b> – Distribuição dos canídeos por raça e por sexo.....	34
<b>Gráfico 3.</b> – Distribuição dos nódulos mamários por cadela.....	35

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> – Célula Mesenquimatosa.....	16
<b>Figura 2.</b> – Células Epiteliais. ....	16
<b>Figura 3.</b> – Células Redondas. Mastócitos. ....	16
<b>Figura 4.</b> – Padrões arquitecturais ilustrando diferentes tipos de arranjos celulares.....	18

**ANEXO 2**

<b>Figura 2.1</b> – Material necessário para execução da PAAF.....	60
<b>Figura 2.2</b> – Tricotomia (a).....	60
<b>Figura 2.3</b> – Tricotomia (b).....	60
<b>Figura 2.4</b> – Medição da lesão com um cutímetro.....	60
<b>Figura 2.5</b> – Desinfecção com álcool.....	60
<b>Figura 2.6</b> – Lavagem com solução iodada.....	60
<b>Figura 2.7</b> – Desinfecção com solução iodada cutânea.....	60
<b>Figura 2.8</b> – Punção de massa cutânea (a).....	60
<b>Figura 2.9</b> – Punção de massa cutânea (b).....	61
<b>Figura 2.10</b> – Punção de massa cutânea (c).....	61
<b>Figura 2.11</b> – Punção de massa cutânea (d).....	61
<b>Figura 2.12</b> – Punção de massa cutânea (e).....	61
<b>Figura 2.13</b> – Deposição do material colhido numa lâmina (a).....	61
<b>Figura 2.14</b> – Deposição do material colhido numa lâmina (b).....	61
<b>Figura 2.15</b> – Execução de um esfregaço segurando as lâminas pelos dois topos em simultâneo (a).....	61
<b>Figura 2.16</b> – Execução de um esfregaço segurando as lâminas pelos dois topos em simultâneo (b).....	61
<b>Figura 2.17</b> – Execução de um esfregaço segurando as lâminas num único topo (a).....	62
<b>Figura 2.18</b> – Execução de um esfregaço segurando as lâminas num único topo (b).....	62
<b>Figura 2.19</b> – Identificação dos esfregaços.....	62
<b>Figura 2.20</b> – Identificação do porta-lâminas.....	62
<b>Figura 2.21</b> – Exemplo de dois esfregaços.....	62
<b>Figura 2.22</b> – Fichas de requisição de citologia e histopatologia.....	62

**ANEXO 3**

<b>Figura 3.1</b> – Citologia. Mastocitoma. Giemsa. X400.....	63
<b>Figura 3.2</b> – Histopatologia. Mastocitoma do caso. anterior. H&E, x400.....	63
<b>Figura 3.3</b> – Citologia. Linfoma. Giemsa, X400.....	63
<b>Figura 3.4</b> – Histopatologia. Linfoma do caso anterior H&E, x400.....	63
<b>Figura 3.5</b> – Citologia. Lipoma. Giemsa, X400.....	63
<b>Figura 3.6</b> – Histopatologia. Lipoma do caso anterior. H&E, X400.....	63
<b>Figura 3.7</b> – Citologia. Fígado. Hepatócitos. Giemsa, X400.....	64
<b>Figura 3.8</b> – Histopatologia. Fígado. Involução nodular adiposa do caso anterior. Hepatócitos. H&E, X400.....	64
<b>Figura 3.9</b> – Citologia. Bexiga. Células epiteliais. Giemsa, X400.....	64
<b>Figura 3.10</b> – Histopatologia. Bexiga. Carcinoma de células de transição do caso anterior. H&E, X400.....	64
<b>Figura 3.11</b> – Citologia. Intestino. Reacção piogranulomatosa cuja presença camuflou as células neoplásicas. Giemsa, X400.....	64
<b>Figura 3.12</b> – Histopatologia. Intestino Delgado do caso anterior. Carcinoma intestinal. H&E, X40.....	64
<b>Figura 3.13.</b> – Citologia. Glândula mamária. Carcinoma mamário associado a processo inflamatório.. Giemsa, X400.....	65
<b>Figura 3.14</b> – Histopatologia. Glândula mamária. Carcinoma mamário complexo do caso anterior. H&E, X100.....	65
<b>Figura 3.15</b> – Citologia. Glândula mamária. Neoplasia de células carcinomatosas. Giemsa, X400.....	65

<b>Figura 3.16</b> – Histopatologia. Glândula mamária. Adenoma mamário tubular. H&E, X100.....	65
<b>Figura 3.17</b> – Citologia. Células carcinomatosas com origem nas glândulas apócrinas. Giemsa, X400.....	65
<b>Figura 3.18</b> – Histopatologia. Carcinoma das glândulas apócrinas de tipo ductal do caso anterior. H&E, X400.....	65
<b>Figura 3.19</b> – Citologia. Cristal de colesterol. Giemsa, X400.....	66
<b>Figura 3.20</b> – Histopatologia. Cristais de colesterol do caso anterior. H&E, X40.....	66
<b>Figura 3.21</b> – Histopatologia. Sarcoma histiocítico. H&E, X40.....	66
<b>Figura 3.22</b> – Histopatologia. Sarcoma histiocítico. H&E, X100.....	66
<b>Figura 3.23</b> – Histopatologia. Calcinose circunscrita. H&E, X100.....	66
<b>Figura 3.24</b> – Histopatologia. Pulmão. Hemangiossarcoma. H&E, X40.....	66
<b>Figura 3.25</b> – Histopatologia. Pólipo vulvar. H&E, X40.....	67

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS

n	amostra
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
G	Gauge
µm	micrómetro
PAAF	Punção Aspirativa com Agulha Fina
FNAB	Fine Needle Aspiration Biopsy

## **1. INTRODUÇÃO**

O Estágio Curricular que deu origem a esta dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária teve lugar na AZEVET – Clínica Veterinária, sob orientação científica da Professora Doutora Maria Manuela Grave Rodeia Espada Niza, e co-orientação científica da Professora Doutora Maria da Conceição da Cunha e Vasconcelos Peleteiro. Teve duração de seis meses, compreendidos entre 1 de Outubro de 2007 e 31 de Março de 2008.

O presente estudo foi desenvolvido durante o referido Estágio Curricular obrigatório, segundo o regulamento do Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, aprovado pelo Conselho Científico da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, na sequência do registo de adequação do Curso de Licenciatura em Medicina Veterinária efectuado na Direcção-Geral do Ensino Superior com o nº R/B – AD - 1042 / 2007, nos termos do despacho nº 19480-O/2007 (2ªsérie) de 28 de Agosto de 2007; ao abrigo do Decreto-Lei nº 74/2006 de 24 de Março, e do disposto na Deliberação nº 1487/2006 da Reitoria da Universidade Técnica de Lisboa.

### **1.1 Descrição da Clínica**

A AZEVET – Clínica Veterinária, situa-se em Brejos de Azeitão, distrito de Setúbal, baseando a sua actividade em animais de companhia, sob a direcção clínica da Professora Doutora Manuela Rodeia.

Esta clínica, implementada na zona há 12 anos, dedica-se, sobretudo, à clínica e cirurgia de animais de companhia, sendo comum a apresentação de pacientes tanto de primeira abordagem, como para segunda opinião médica. A espécie mais representativa é a espécie canina, seguida da felina e, por fim, com menor expressão, os novos animais de companhia. A clínica possui clientes de diferentes meios sócio-económicos. Assim, os seus médicos veterinários estão aptos a trabalhar em diferentes cenários económicos, adaptando, sempre que necessário, a abordagem diagnóstica e a terapêutica às possibilidades do cliente. Contudo, toda a actividade desenvolvida, tem sempre como pano de fundo o bem-estar do animal.

É, também, habitual a referenciação de animais por outras clínicas ou hospitais, destinados a consultas de especialidade, cirurgia, ou exames complementares de diagnóstico. Para além disso, a própria AZEVET disponibiliza consultas de especialidade na área dos novos animais de companhia, outrora designados animais exóticos.

A equipa médico-veterinária da AZEVET é constituída por quatro elementos: a Prof<sup>ª</sup>. Doutora Manuela Rodeia (Directora Clínica); a Dra. Ivana Coimbra; a Dra. Helena Guerreiro;



e o Dr. Rui Ferreira. Esta equipa é, ainda, auxiliada nas práticas clínicas diárias por três funcionárias auxiliares.

A clínica oferece, todos os anos, a possibilidade de estudantes do curso de Medicina Veterinária efectuarem o estágio curricular de final de curso nas suas instalações. Dispõe de dois gabinetes para consultas, um laboratório, uma sala de internamento, uma sala de imagiologia, uma sala de cirurgia, uma farmácia, para além da recepção com sala de espera, e das salas de preparação de todo o material da clínica. Existe, ainda, uma sala de banhos e tosquias.

O horário de funcionamento da AZEVET, para os médicos veterinários assistentes e para os estudantes estagiários está compreendido entre as 9 horas e as 00 horas nos dias úteis, em sistema de rotação de horários, tanto do corpo clínico, como dos estagiários; e aos sábados, domingos e feriados, das 10 horas até às 18 horas. Os estagiários, tal como os médicos veterinários, efectuam turnos de 8 horas, num total de 40 horas por semana. Desta forma, ao longo de seis meses, a carga horária total ultrapassou as 1500 horas de actividade.

As actividades clínicas desenvolvidas durante este período consistiram na participação activa em consultas médicas, e no acompanhamento de todos os casos clínicos, tratamentos, cirurgia, cuidados pré e pós-cirúrgicos, internamento, patologia clínica e métodos complementares de diagnóstico. Dentro dos últimos salienta-se como métodos mais utilizados: bioquímica sanguínea; citologia de rotina; raspagens de pele; radiologia; electrocardiografia; e ecografia abdominal e cardíaca.

## **1.2 Plano de actividades**

Ao estudante estagiário compete um vasto leque de funções ao longo do estágio curricular. Desde o início ele é convidado a assistir e a colaborar nas consultas, participando na realização da história clínica, com a anamnese e exame físico; para além disso auxilia na preparação de medicações, contenção dos animais, e, sempre que solicitado, na colheita de sangue e urina para proceder aos exames laboratoriais necessários. O estagiário colabora, ainda, na realização de testes rápidos de diagnóstico, assim como de outros exames complementares, entre eles radiografias, electrocardiografias, ecografias, citologias de rotina, esfregaços de sangue. A seu cargo tem, ainda, o tratamento dos animais que se encontram internados, e colabora nas consultas domiciliárias. No que respeita aos animais com indicação cirúrgica, o estagiário colabora na realização dos exames pré-cirúrgicos, assim como na preparação pré-cirúrgica dos animais e da sala de cirurgia; por fim, prepara as pré-medicações e faz o seguimento pós-operatório. Durante o acto cirúrgico, o estagiário pode desempenhar diferentes papéis: ajudante de cirurgião, anestesista ou circulante.

Desta forma, o estagiário tem um papel activo na prática clínica diária, onde lhe é dada a oportunidade de desenvolver as suas capacidades e evoluir diariamente, com a aquisição de conhecimentos práticos e teóricos, com níveis de complexidade gradualmente superiores.

No meu caso em particular, devido ao tema escolhido para a dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, fiquei responsável por todo o envolvente à colheita e envio de material para o Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária.

Para além das actividades desenvolvidas na AZEVET, fiz a apresentação oral de um caso seguido na clínica, intitulado “Carcinossarcoma pulmonar num Gato”, no 17º Congresso Nacional da Associação Portuguesa de Médicos Veterinários Especialistas em Animais de Companhia, no Centro de Congressos do Estoril, de 6 a 8 de Junho de 2008. Fui também co-autor de três outras apresentações que tiveram lugar no mesmo congresso, dos outros dois colegas estagiários, subordinadas aos seguintes temas: “Alterações leucocitárias como factor de prognóstico na evolução clínica da parvovirose canina: 191 casos (2001-2008)”; “Caracterização da raça, idade, sexo e sazonalidade em 191 casos de parvovirose canina”; e “Atropelamentos em canídeos”.

Existiu, ainda, a oportunidade de assistir a reuniões promovidas pelos estagiários do Hospital da Faculdade de Medicina Veterinária, com variados temas, como: quimioterapia em animais domésticos, transfusões sanguíneas, epilepsia, analgesia e anestesia, e introdução ao electrocardiograma (Anexo 4).

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Nota histórica**

A citologia aspirativa não é uma técnica recente de diagnóstico. No entanto, a sua aplicação de forma quase quotidiana em Medicina Veterinária só se verificou nos últimos vinte anos (Cassali, Gobbi, Malm & Schmitt, 2007). Não existe consenso acerca da data exacta de início de utilização da punção aspirativa com agulha fina (PAAF), uma das técnicas de recolha de material para análise citológica. Cassali et al. (2007) referem que esta técnica começou a ser utilizada por Paget em 1854, para observar aspirados de tumores mamários ao microscópio. Discordantemente, Miralles e Buesa (1988a) afirmam que a PAAF começou a ser utilizada por Griek e Gay no ano de 1904, aplicando esta técnica para o diagnóstico de tripanossomíases em linfonodos. Em 1914, o médico Eward aplicou esta técnica para diagnosticar a doença de Hodgkin (Miralles & Buesa, 1988a). Contudo, só a partir dos estudos de Martin e Ellis, publicados em 1930, sobre 65 pacientes humanos com tumores malignos, é que a PAAF mostrou todo o seu interesse (Ménard, Fontaine & Morin, 1986). Se à época houve um desenvolvimento substancial na aplicação da técnica em Medicina Humana, especialmente nos países do norte da Europa, nos Estados Unidos da América isso não se verificou, porque a histopatologia ganhou popularidade (Ménard et al., 1986). Contudo, ao longo das décadas, a reputação que a PAAF atingiu na Suécia, mostrou que esta técnica permitia poupar muitos milhões de euros, quando comparada com outras técnicas mais onerosas, como é o caso da histopatologia (Ménard et al., 1986).

Mas, falar de citologia sem referir o enorme contributo de Papanicolaou na década de 30, principalmente na citologia esfoliativa ginecológica aplicada à Medicina Humana (Miralles & Buesa, 1988a), seria imperdoável. Papanicolaou iniciou as suas pesquisas sobre citologia esfoliativa, tendo, em 1928, estabelecido o diagnóstico de carcinoma uterino a partir da citologia de secreção vaginal das mulheres (Magalhães, Ramadilha, Barros & Peixoto, 2001).

O atraso no uso da citologia na prática clínica em Medicina Veterinária deveu-se, sobretudo, à ignorância da sua utilidade diagnóstica, assim como à insegurança associada à sua interpretação (Meyer, 1996).

A punção aspirativa de massas tumorais teve uma adesão inicial interessante, seguida de algum descrédito, porque se acreditava, à data, que ao puncionar massas tumorais poder-se-ia conduzir à dispersão de células neoplásicas pelos tecidos (Meyer, 1996). Era, portanto, considerado um factor de risco. Contudo, sabe-se hoje, que a PAAF é uma técnica segura do ponto de vista da possível dispersão de células neoplásicas (Magalhães et al., 2001), tratando-se de uma técnica muito pouco invasiva, simples, de rápida execução, relativamente indolor e fornece informações muito úteis sem a necessidade de anestesia

geral, e de todos os riscos anestésicos inerentes e pós-cirúrgicos, assim como as complicações tardias associadas (Magalhães et al., 2001). Para além disso, possibilita um diagnóstico rápido e cujos resultados são bastante fiáveis, porque conferem uma exactidão no diagnóstico bastante apreciável (Mills & Griffiths, 1984). Por ser mínima a lesão provocada pela agulha fina, a predisposição para ocasionar metástases, em casos de neoplasias malignas, torna-se insignificante em comparação com a biópsia cirúrgica (Magalhães et al., 2001).

Allen, Prasse e Mahaffey (1986) afirmaram que a segurança da PAAF nos casos de tumores da mama em mulheres estava bem fundamentada à época. Estes mesmos autores evidenciaram a elevada exactidão da técnica (menos de 1% de falsos positivos), em estudos que levaram a cabo o exame citológico e o histopatológico em humanos.

Em Medicina Veterinária, os estudos pioneiros nos quais se aplicou a PAAF datam do início da década de 80. Apesar do atraso temporal da Medicina Veterinária relativamente à Medicina Humana, os resultados obtidos nos estudos nos animais domésticos são bastante animadores, o que comprova a sua aplicabilidade e fomenta a sua utilização diária na clínica médica veterinária. Com o advento da ultra-sonografia, a punção aspirativa eco-guiada tem ganho o seu espaço e aplicabilidade (Meyer, 1996), permitindo aspirar células de lesões não palpáveis (Valli, 1988).

Que tenhamos conhecimento, não existe nenhum estudo idêntico levado a cabo a nível nacional, no ramo das Ciências Veterinárias. Pretende-se com este estudo aproximar duas áreas de grande interesse nas Ciências Veterinárias, que são, a Clínica Médica e a Anatomia Patológica.

## **2.2 Objectivos da Citologia**

A citopatologia estuda as alterações relacionadas com as células enquanto entidades integradoras de processos patológicos. De entre os principais objectivos da citologia, salienta-se a distinção entre processos inflamatórios, hiperplásicos e neoplásicos, o estabelecimento do prognóstico do tumor e identificação de locais de metástase, com vista a rápida acção no tratamento e monitorização de possíveis recidivas locais (Magalhães et al., 2001).

Para se compreender a aplicabilidade da citologia na prática clínica diária, convém referir que as imagens que a citologia nos proporciona são a duas dimensões, onde os limites celulares são observáveis, o núcleo e o nucléolo são evidentes, e as junções celulares são marcadas, quando existem (Peleteiro, Correia, Carvalho, Pissarra & Fernandes, 2006). As células obtidas por punção aspirativa com agulha fina são dispostas sobre as lâminas, preferencialmente em monocamada, permitindo a obtenção dos detalhes (Peleteiro et al., 2006). De uma forma simples, pode dizer-se que a imagem celular que se obtém na

citologia pode ser comparada a um ovo estrelado, em que o citoplasma e o núcleo têm contornos bem definidos, em contraste com o corte histológico em que as células se podem comparar a ovos cozidos.

A PAAF é uma técnica não traumatizante para o animal, que pode ser executada sem recurso a anestesia, permitindo a obtenção de material de alta qualidade (Peleteiro, 1994). O exame citológico por punção aspirativa com agulha fina, em pleno acto cirúrgico, é um bom meio de diagnóstico prático, pela sua rapidez e facilidade de execução (Eich, Whitehair, Moroff & Heeb, 2000).

Contudo, a citologia tem as suas limitações, uma vez que não é possível obter informação quanto à relação recíproca entre as células e entre estas e os tecidos vizinhos, não sendo possível observar a arquitectura global da lesão neoplásica, assim como emitir prognósticos sobre a capacidade invasiva da lesão em relação aos tecidos vizinhos. Magalhães et al. (2001) mencionam que, em determinadas situações, o diagnóstico citopatológico é mais fácil do que o exame histopatológico, citando os exemplos das granulações metacromáticas intracitoplasmáticas dos mastocitomas, dos detalhes celulares nas lesões linfoproliferativas e dos grânulos de melanina nos melanomas. Afirmam ainda que em determinados sarcomas e linfomas, o exame citopatológico por meio de PAAF possui melhor eficácia para o diagnóstico do que a histopatologia. Estes mesmos autores enfatizam que se deve considerar igualmente a utilidade da citopatologia e da histopatologia dentro da clínica médica, ressaltando que as duas técnicas se complementam.

Uma das principais limitações da citopatologia relaciona-se com a descrição das neoplasias, que não é específica, sendo as lesões reconhecidas apenas como carcinoma ou sarcoma (Magalhães et al., 2001).

Como referido anteriormente, uma das finalidades do exame citológico refere-se à classificação das lesões, auxiliando no seu diagnóstico, prognóstico e tratamento. Em geral, as alterações observadas no exame citológico enquadram-se num de cinco grupos (Raskin, 2003a): tecido normal ou hiperplásico; massa quística; inflamação; resposta à lesão tecidual; ou neoplasia.

## **2.3 A Célula e as suas Estruturas**

A estrutura básica das células divide-se em núcleo, citoplasma e membrana celular.

O citoplasma pode indicar a diferenciação celular, o tecido de origem e, nalguns casos, a função da célula e a sua maturidade. Os produtos do metabolismo podem aparecer como vacúolos ou grânulos observados no citoplasma de preparações coradas com colorações tipo Romanowsky (Alleman & Bain, 2000). Nalgumas células, a intensidade da basofilia citoplasmática pode ser representativa de produção de proteína.

O núcleo de uma célula, que constitui o seu centro de actividade e é responsável pela reprodução celular, é a principal estrutura em que se baseia o diagnóstico de malignidade. O núcleo contém cromatina, um complexo de DNA e proteínas associadas, sendo que algumas áreas de cromatina tingem de azul escuro nas colorações histológicas: heterocromatina (Alleman & Bain, 2000). A heterocromatina é uma forma de DNA geneticamente inactiva, enquanto que a cromatina que cora de forma mais clara (eucromatina) é activamente transcrita em RNA mensageiro e, subsequentemente, traduzida em síntese proteica (Alleman & Bain, 2000).

O nucléolo é uma estrutura de forma oval a redonda, delimitada por uma fina camada de heterocromatina. As células normais podem conter um a quatro nucléolos, apesar de normalmente só um ou dois serem visíveis, ou mesmo nenhum, por vezes (Alleman & Bain, 2000). O nucléolo é o local de formação da maior parte do RNA ribossomal, daí que células que sintetizam proteína activamente tenham nucléolos mais proeminentes.

Em muitos tipos de tumores as células têm quantidades de DNA anormalmente aumentadas, com algumas células a apresentarem-se diplóides, tetraplóides ou mesmo poliplóides no conteúdo de DNA (Alleman & Bain, 2000). Quanto mais DNA estiver presente numa célula, mais hipercromático o núcleo se apresenta, isto é, a coloração do núcleo torna-se mais intensa que o normal. A hipercromasia é, então, uma característica observada nas células malignas, com muita actividade nuclear (Alleman & Bain, 2000).

A actividade mitótica é, frequentemente, observada nas preparações citológicas, que no caso específico das lesões tumorais, se encontra aumentada e por vezes alterada, isto é, é possível observar um maior número de figuras de mitoses anormais (Alleman & Bain, 2000). Durante a mitose, os cromossomas normalmente vão para os dois pólos opostos dos fusos acromáticos. Contudo, as células tumorais podem sofrer mitoses tripolares ou mesmo multipolares, resultando em divisão celular desigual, com perda de cromossomas.

## **2.4 Tipos de Diagnóstico em Citologia**

### **2.4.1 Tecidos Normais ou Hiperplásicos**

Os tecidos normais ou hiperplásicos são constituídos, principalmente, por tipos celulares bem diferenciados.

As células normais apresentam uniformidade no tamanho e na morfologia, do núcleo e do nucléolo (Raskin, 2003a). Em geral, o volume citoplasmático é maior do que o do núcleo.

A hiperplasia corresponde ao aumento tecidular não-neoplásico, podendo ocorrer em resposta a distúrbios hormonais ou a lesão (Raskin, 2003a). As células hiperplásicas apresentam maior proporção núcleo:citoplasma que as células normais. De entre os

exemplos de respostas hiperplásicas incluem-se proliferações nodulares no parênquima da próstata, fígado e pâncreas (Raskin, 2003a).

#### **2.4.2 Lesões Quísticas**

As lesões quísticas contêm material líquido ou semi-líquido. Geralmente o líquido apresenta baixo teor proteico e pequena quantidade de células (Raskin, 2003a). Estas lesões benignas podem ser decorrentes da proliferação de células de revestimento ou de lesão tecidual. Os exemplos incluem (Raskin, 2003a): o seroma, o mucocélio salivar, quisto de glândulas sudoríparas apócrinas, quisto folicular/epidérmico e quistos associados a uma glândula não-cutânea, como a glândula mamária.

#### **2.4.3 Inflamação**

A inflamação e o infiltrado celular inflamatório são alterações frequentes. Citologicamente estas condições classificam-se de acordo com o tipo de células predominantes envolvidas. A identificação do tipo de célula inflamatória predominante, frequentemente sugere qual o carácter da lesão, isto é, se se trata de uma inflamação aguda, sub-aguda ou crónica.

Citologicamente uma inflamação classifica-se como aguda quando mais de 70% de todas as células inflamatórias presentes são neutrófilos; sub-aguda ou crónica activa quando predominam neutrófilos e macrófagos entre 30 a 50 % da população de células inflamatórias; e crónica, quando mais de 50% são linfócitos e macrófagos (Aceña, Gascón & Palácio, 1997).

Relativamente ao núcleo dos neutrófilos, a picnose, alteração progressiva e lenta, resulta numa maior intensidade de coloração nuclear (intensamente basófila), com coalescência da cromatina numa única massa arredondada, e mantendo a integridade do invólucro nuclear (Pires, Travassos & Gärtner, 2004). A cariorrexia representa a imagem de uma agressão grave, com fragmentação e libertação da cromatina por ruptura do invólucro nuclear (Pires et al., 2004). O estadio final da necrose celular é a cariólise, em que a cromatina perde progressivamente a afinidade para os corantes e sofre uma dissolução, mantendo-se os contornos celulares (Pires et al., 2004).

As lesões purulentas ou supurativas contêm mais que 85% de neutrófilos (Raskin, 2003a) sendo, então, classificadas pela presença ou ausência de degenerescência destas células.

Os neutrófilos não-degenerados apresentam morfologia normal e predominam em lesões relativamente não-tóxicas, como afecções imunomediadas, neoplasias e lesões assépticas (Raskin, 2003a).

Há predomínio de neutrófilos degenerados nas infecções bacterianas, particularmente naquelas causadas por bactérias Gram-negativas. Em condições sépticas, pode encontrar-se bactérias no interior destas células (Raskin, 2003a). Nas lesões histiocíticas ou macrofágicas, há predomínio de macrófagos, sugerindo inflamação crónica. A inflamação crónica caracteriza-se por uma mistura de macrófagos (Anexo 3: figura 3.13), linfócitos e neutrófilos em número variado, com ou sem constituintes do tecido examinado (Meyer, 1996). Nos granulomas, os macrófagos activados assemelham-se morfológicamente às células epiteliais (Raskin, 2003a). Essas células podem agrupar-se originando formas gigantes multinucleadas. As lesões granulomatosas estão, frequentemente, associadas com reacções a corpos estranhos (Raskin, 2003a).

As lesões inflamatórias piogranulomatosas (Anexo 3: figura 3.11) contêm uma mistura de neutrófilos e macrófagos, podendo incluir numerosos linfócitos ou plasmócitos (Raskin, 2003a). Este tipo de inflamação está, frequentemente, associado a reacções a corpos estranhos, infecções fúngicas, infecções por micobactérias, paniculite, granulomas por lambadura e outras lesões tecidulares crónicas (Raskin, 2003a).

As lesões eosinofílicas contêm mais de 10% de eosinófilos (Raskin, 2003a) além de outros tipos de células inflamatórias, podendo ou não haver envolvimento de mastócitos. Esta resposta inflamatória está associada ao granuloma eosinofílico, a hipersensibilidade ou a condições alérgicas, a migração parasitária, a infecções fúngicas e a neoplasia de mastócitos (Raskin, 2003a).

A infiltração linfocítica ou plasmocítica está muitas vezes associada a reacções alérgicas ou auto-imunes, no estadio inicial de infecção viral e na inflamação crónica. A população linfóide é bastante heterogénea, com linfócitos pequenos ou de tamanho intermédio, e plasmócitos misturados com outras células inflamatórias (Raskin, 2003a). Uma população monomórfica de células linfóides, sem outras células inflamatórias presentes, sugere neoplasia linfóide (Raskin, 2003a). Por vezes, a presença de macrófagos (histiócitos) pode mimetizar morfológicamente uma lesão neoplásica (Meyer, 1996). As lesões inflamatórias das serosas, que contêm células mesoteliais hiperplásicas, com ou sem células epiteliais neoplásicas, podem dificultar a emissão de um diagnóstico (Meyer, 1996).

#### **2.4.4 Lesão Tecidular**

As amostras submetidas ao exame citológico evidenciam, frequentemente, lesão tecidular, para além da formação de quistos, inflamação ou neoplasia. Estas lesões incluem hemorragia, agregados proteicos, cristais de colesterol (Anexo 3: figura 3.19), necrose e fibrose (Raskin, 2003a).

A hemorragia patológica pode ser diferenciada da contaminação sanguínea que ocorre durante a colheita do material para exame citológico. Desta forma a contaminação com



sangue caracteriza-se pela presença de numerosos eritrócitos e agregados de plaquetas; a hemorragia aguda está associada a fagocitose de eritrócitos por parte dos macrófagos, denominada eritrofagia (Raskin, 2003a). A hemorragia crónica observa-se com a presença de macrófagos activos, contendo pigmentos sanguíneos degradados no interior do seu citoplasma, por exemplo, grânulos de hemossiderina de coloração azul-esverdeada a preta, ou cristais de hematóidina rombóides de cor amarela (Raskin, 2003a).

Os hematomas frequentemente contêm eritrócitos fagocitados, caso a lesão seja aguda, ou macrófagos carregados de hemossiderina, no caso de lesão crónica (Raskin, 2003a).

Os agregados proteicos podem ser observados em pano de fundo, onde o muco surge discretamente basofílico e amorfo (Raskin, 2003a).

Por vezes, são observáveis restos nucleares correspondentes aos filamentos lineares rosados, originados pela excessiva manipulação do tecido durante a preparação citológica. O colagénio surge como filamentos rosados, entre células fusiformes e endotélio.

A necrose e a fibrose podem ser encontradas em simultâneo, ou separadas. A morte das células é representada pelo contorno celular indistinto e floculoso, sendo impossível determinar o tipo de células envolvidas (Raskin, 2003a).

Em certas lesões inflamatórias que já se encontram numa fase de reparação tecidual, é frequente observar-se fibroblastos reactivos, juntamente com inflamação grave. É importante ter esta noção, de forma a não confundir esta reacção como uma condição neoplásica.

#### **2.4.5 Neoplasias**

As neoplasias são diagnosticadas quando há uma população de células monomórficas, sem a presença de inflamação significativa. Para muitos tecidos, a neoplasia benigna ou a hiperplasia, são caracterizadas por uma população uniforme de células, semelhantes às células do tecido normal. Deve existir uma uniformidade citoplasmática, do tamanho e da forma do núcleo, e uma razão núcleo-citoplasma uniforme (Alleman & Bain, 2000). Se estão presentes nucléolos, estes devem ser de tamanho, forma e número semelhantes entre as células individuais. As excepções correspondem a situações resultantes de hiperplasia reactiva, como a observada no epitélio de transição de animais com cistite (Alleman & Bain, 2000); e também as células mesoteliais reactivas observadas em pacientes com efusões variadas, neste caso, as alterações nucleares no tecido hiperplásico podem assemelhar-se, por vezes, a lesões malignas (Alleman & Bain, 2000).

As neoplasias malignas caracterizam-se por alterações nucleares atípicas, que indicam uma população celular em crescimento rápido e descontrolado. Os citopatologistas socorrem-se

de variados critérios celulares que indicam se estão na presença de uma célula com características benignas ou malignas.

Os critérios citológicos de malignidade celular não estão uniformizados na literatura especializada. Se por um lado há autores, como Alleman e Bain (2000) e Raskin (2003a) que referem oito critérios de malignidade, Ménard et al. (1986) indicam doze, enquanto Allen et al. (1986) mencionam vinte diferentes critérios de malignidade celular. Todavia, existem critérios que são aceites com unanimidade. Em seguida serão descritos diferentes critérios sugeridos pelos vários autores, salientando-se aqueles que são consensuais. É pacífica a divisão de critérios relacionados com o núcleo, citoplasma e nucléolo, apesar de estas estruturas estarem em estreita ligação.

Assim, relativamente ao núcleo, os critérios mais importantes para identificação de malignidade, são os seguintes:

1. anisocariose marcada com aumento do tamanho do núcleo, uma vez e meia ou mais, (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a), devido ao aumento da quantidade de DNA, decorrente de uma mitose aberrante (Ménard et al., 1986);
2. pleomorfismo, a que corresponde uma variação na forma e tamanho da célula e do núcleo, ou a um estadio de maturação de células da mesma origem (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
3. núcleos anormalmente grandes, com uma razão núcleo-citoplasma elevada, ou quando este é variável para populações celulares (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
4. actividade mitótica aumentada, com figuras de mitose anormais, e com divisões irregulares e isoladas (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
5. modelação nuclear associada a rápido crescimento celular, isto é, núcleos que se encontram distorcidos, ou que comprimem núcleos adjacentes; daqui se infere uma população celular com proliferação descontrolada e ausência de inibição por contacto (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
6. células multinucleadas anormais, apresentando núcleos de tamanhos variados dentro da mesma célula (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
7. agregados de cromatina nuclear grosseiramente distribuídos, granular ou reticular (Peleteiro, 1994); ou marginação desigual da cromatina no invólucro nuclear, com áreas escuras de heterocromatina bem visíveis, indicando aumento da actividade celular (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a);
8. formas nucleares gigantes, com projecções e distorções do invólucro nuclear (Allen et al., 1986); e, variação na espessura do mesmo (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986).

No que se refere às alterações observadas no citoplasma, pode relatar-se: anisocitose, com variação da dimensão das células malignas dentro do mesmo tumor (Ménard et al., 1986); pleomorfismo, com as células malignas a apresentarem formas celulares anormais (Ménard et al., 1986; Raskin, 2003a); basofilia do citoplasma, normalmente associada a forte actividade metabólica das células tumorais, caracteristicamente síntese proteica aumentada (Ménard et al., 1986); e, perda da coesão e adesão celular (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986).

No que toca às características de malignidade relacionadas com os nucléolos, há que reter que estes podem variar em número, forma e tamanho, salientando-se que as aberrações nucleolares são critérios importantes de malignidade (Allen et al., 1986; Ménard et al., 1986; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a).

Allen et al. (1986) referem ainda, para o caso específico dos tumores mamários, a elevada celularidade das preparações, e a presença de células fusiformes, como dois dos critérios adicionais de malignidade.

Interessa ainda mencionar que estes critérios de malignidade não se aplicam a todos os tecidos. Por exemplo, os linfócitos em diferentes estadios de diferenciação, normalmente apresentam um rácio núcleo:citoplasma elevado, com anisocitose moderada (Ménard et al., 1986). Desta feita, para melhor indicação do prognóstico dos linfomas, a anisocariose e anisocitose moderada dos linfócitos é desejável (Ménard et al., 1986). Contudo, a excepção não se fica por aqui, uma vez que os mastocitomas são diagnosticados com base na quantidade de grânulos metacromáticos intracitoplasmáticos (Ménard et al., 1986), embora o núcleo também tenha um papel relevante no *grading* dos mastocitomas.

Como directriz geral, se uma população celular preenche três ou mais destes critérios, o tumor é muito provavelmente maligno (Alleman & Bain, 2000). Na maioria dos casos, os critérios citológicos para a malignidade fazem uma previsão fidedigna do comportamento biológico do tumor (Alleman & Bain, 2000). Todavia, existem excepções importantes que devem ser consideradas, nas quais a aparência citológica pode não prever com precisão este comportamento; por exemplo, a inflamação pode causar alterações reactivas nas células epiteliais ou mesenquimatosas (hiperplasia reactiva) que imitam a malignidade (Alleman & Bain, 2000). Deste modo, os critérios de malignidade devem ser aplicados cautelosamente numa lesão com população celular mista, isto é, quando existem tanto células inflamatórias – neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, macrófagos –, como não inflamatórias – células epiteliais e mesenquimatosas (Alleman & Bain, 2000). Nestas circunstâncias, a avaliação histológica de uma lesão é, frequentemente, necessária para determinar se está presente um processo neoplásico. A localização de alguns tumores, e ocasionalmente, o tipo específico de um tumor deve, também, ser considerado ao usar-se a citologia para determinar o potencial comportamento maligno (Alleman & Bain, 2000).

Após análise citológica, as neoplasias podem ser divididas em quatro categorias gerais, para auxiliar a interpretação citológica. Allemen e Bain (2000) agrupam-nas em: neoplasias epiteliais; neoplasias mesenquimatosas; neoplasias de células redondas; e neoplasias endócrinas ou neuroendócrinas. Raskin (2003a) denomina este último tipo como neoplasias de núcleos livres. Não obstante, estas categorias podem não se aplicar adequadamente a algumas neoplasias, especialmente nos tumores pouco diferenciados (Raskin, 2003a).

Estas categorias neoplásicas baseiam-se, não na sua origem ou função celular, mas, principalmente, nas suas características citomorfológicas gerais. Porém, as duas primeiras categorias, neoplasias epiteliais e neoplasias mesenquimatosas, são relativas à origem tecidual das células neoplásicas. De seguida, serão mencionadas as características gerais das categorias de neoplasias supra citadas.

#### **2.4.5.1 Neoplasias Epiteliais**

Os aspirados de neoplasias epiteliais caracterizam-se por serem muito celulares e por ocorrer aspiração celular em aglomerados arredondados (figura 2; Anexo 3: figura 3.9), ou em forma de camada celular única (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a). A origem destas neoplasias, frequentemente, envolve tecido glandular ou parenquimatoso, assim como superfícies de revestimento (Raskin, 2003a); sendo designados de carcinomas quando têm origem não glandular, e adenocarcinomas quando a origem é glandular (Alleman & Bain, 2000).

As características citológicas específicas de neoplasias epiteliais incluem (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a): células esfoliadas em forma de placas ou agregados compactos; células firmemente aderentes umas às outras, podendo apresentar junções evidentes (desmossomas); células grandes, arredondadas a poligonais, com bordos citoplasmáticos intactos bem definidos; vacuolização citoplasmática, ou formação acinar; e, núcleos arredondados a ovais (tabela 1). A vacuolização citoplasmática ou a formação acinar, podem ser observadas se se tratar de um tumor com origem no epitélio glandular (Alleman & Bain, 2000).

Exemplos de neoplasias epiteliais incluem: adenocarcinoma pulmonar; adenoma perianal (tumor das células hepatóides); tumor de células basais; adenoma sebáceo; e carcinoma das células de transição (Anexo 3: figura 3.10).

Na ausência de inflamação, os critérios de malignidade são indicadores fiáveis para a maioria das lesões epiteliais. Existem, contudo, duas exceções – os tumores das células basais e os tumores das glândulas anais – que requerem cuidado adicional na interpretação da malignidade (Alleman & Bain, 2000).

#### **2.4.5.2 Neoplasias Mesenquimatosas**

As neoplasias mesenquimatosas têm uma aparência semelhante ao tecido conjuntivo embrionário, o mesênquima, que origina os tecidos conjuntivos do corpo, o tecido esquelético e os vasos sanguíneos e linfáticos (Meyer, 1996; Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a). Assim, as neoplasias mesenquimatosas pertencem a uma vasta categoria de lesões, que podem derivar de vários tecidos conjuntivos ou vasos do corpo. Os tumores malignos de origem mesenquimatosa são, geralmente, chamados sarcomas. Estes tecidos apresentam-se desorganizados, geralmente com abundante matriz extracelular e células individuais fusiformes (figura 1) ou estreladas (Raskin, 2003a). As neoplasias mesenquimatosas benignas e malignas originam-se, frequentemente, a partir de elementos de tecidos conjuntivos, como fibroblastos, osteoblastos, adipócitos, miócitos e células de revestimento vascular (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a).

Este tipo de neoplasias esfoliam mal em preparações por aposição, e os esfregaços obtidos por PAAF têm baixo índice celular (Alleman & Bain, 2000).

As neoplasias mesenquimatosas apresentam como características citológicas gerais os seguintes aspectos: as células esfoliam individualmente, mas não é raro ver pequenos agregados de células mesenquimatosas como os fibroblastos (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a); são células ovaladas, estreladas ou fusiformes, com bordos citoplasmáticos frequentemente indistintos, e com pontas bipolares no rasto do núcleo (Alleman & Bain, 2000); as amostram apresentam, frequentemente, baixa celularidade; as células, geralmente, são menores quando comparadas com as epiteliais (Raskin, 2003a); e, os núcleos apresentam-se arredondados a ovalados (tabela 1). Os critérios nucleares para malignidade são normalmente bons indicadores potenciais de malignidade dos tumores mesenquimatosos. Porém, os leiomiossarcomas e os fibrossarcomas (Raskin, 2003a) são duas exceções, uma vez que são tumores raros em cães, com origem no tecido muscular liso e nos fibroblastos, respectivamente, sendo estes difíceis de diferenciar dos seus correspondentes benignos, respectivamente leiomiomas e fibromas (Alleman & Bain, 2000).

A dificuldade mais comum ao observar células mesenquimatosas, é distinguir entre um sarcoma e a fibrose associada a um processo inflamatório. A inflamação pode estimular a reactividade de fibroblastos que são citologicamente difíceis de distinguir das células dos sarcomas (Alleman & Bain, 2000). Em geral, os fibroblastos do tecido de granulação benigno possuem núcleo de coloração pálida, enquanto os núcleos malignos são frequentemente pleomórficos e hipercromáticos, com nucléolos maiores (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a). Contudo, se as células mesenquimatosas são observadas na presença de inflamação (população celular mista), o critério citológico de malignidade tem

de ser aplicado com cuidado (Alleman & Bain, 2000). Nestas situações é, normalmente, necessária a análise histopatológica para diferenciar os fibroblastos malignos dos benignos. Exemplos de neoplasias mesenquimatosas típicas incluem hemangiossarcoma, osteossarcoma e hemangiopericitoma (Raskin, 2003a).

#### **2.4.5.3 Neoplasias de Células Redondas**

As neoplasias de células redondas apresentam formas celulares arredondadas e, com frequência, estão associadas a células hematopoiéticas. Citologicamente, estas neoplasias caracterizam-se pelo seguinte (Alleman & Bain, 2000): as células esfoliam individualmente apresentando bordos citoplasmáticos distintos, não aderindo umas às outras; forma celular geralmente arredondada; amostras com celularidade moderada a elevada; células geralmente menores se comparadas com as células epiteliais; e núcleo arredondado (tabela1).

Os critérios de malignidade são mais difíceis de interpretar nas neoplasias de células redondas do que nos tumores mesenquimatosos ou de células epiteliais, pois esfoliam individualmente, sendo difícil ter uma noção da sua representatividade (Alleman & Bain, 2000).

Exemplos de neoplasias de células redondas incluem (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a): mastocitoma (figura 3; Anexo 3: figuras 3.1 e 3.2); histiocitoma; linfoma (Anexo 3: figura 3.3 e 3.4); tumor venéreo transmissível; plasmocitoma; e algumas formas de melanoma.

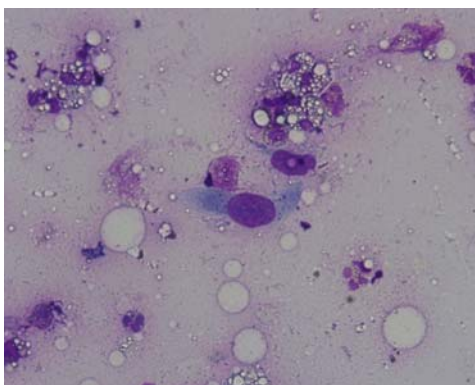
#### **2.4.5.4 Neoplasias Endócrinas e Neuroendócrinas**

Os tumores endócrinos e neuroendócrinos são tumores de quimiorreceptores ou de glândulas endócrinas, como a tireóide, pâncreas e adrenais. Produzem preparações, normalmente, muito celulares (Thompson, Stirtzinger, Lumsden & Little, 1980; Alleman & Bain, 2000). Contudo, a natureza frágil das suas células possibilita a observação de núcleos livres redondos, dispostos num citoplasma pálido sem limites definidos, devido à fraca aderência celular (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a).

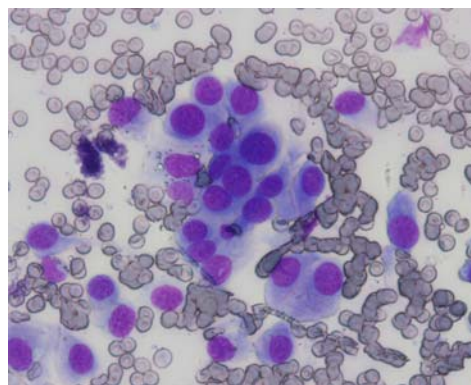
Citologicamente, estas neoplasias apresentam características únicas (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2003a): as células esfoliam em camadas fracamente aderentes, notando-se vários núcleos livres, com bordos citoplasmáticos frequentemente indistintos; formação ocasional de agregados celulares com bordos celulares distintos; forma celular, geralmente, arredondada a poligonal; amostras com elevada celularidade; e núcleos arredondados.

**Tabela 1.** – Características celulares dos três tipos básicos de neoplasias (Adaptado de Aceña et al., 1997).

Característica	Epitelial	Mesenquimatosa	Células Redondas
<b>Celularidade</b>	Alta	Baixa	Alta
<b>Placas celulares</b>	Sim	Não	Não
<b>Tamanho celular</b>	Grande	Médio-pequeno	Médio-pequeno
<b>Forma celular</b>	Redonda	Fusiforme	Redonda
<b>Forma nuclear</b>	Redonda	Ovalada	Redonda
<b>Basofilia citoplasmática</b>	Sim	Variável	Não (excepto linfoma)
<b>Grânulos citoplasmáticos</b>	Por vezes	Por vezes	Não (excepto mastocitoma)



**Figura 1.** – Célula Mesenquimatosa. Giemsa x 400 (Original).



**Figura 2.** – Células Epiteliais. Giemsa x 400 (Original).



**Figura 3.** – Células Redondas. Mastócitos. Giemsa x 400 (Original).

## 2.5 Parâmetros Arquiteturais em Citologia: Correlação com a Histologia

Os arranjos celulares são muito relevantes na avaliação de cortes histológicos, mas as amostras citológicas não reflectem com exactidão esses parâmetros. Raramente, uma descrição citológica elucida sobre a arquitectura da lesão, para além da aparência do núcleo e do citoplasma (Masserdotti, 2006). Contudo, a arquitectura das células nas citologias pode mimetizar o arranjo destas nos cortes histológicos, quando são colhidas e preparadas apropriadamente. O objectivo primordial de definir uma arquitectura numa citologia é compará-la com a histopatologia e, desta forma, ganhar valor diagnóstico (Masserdotti, 2006). Porém, as células aspiradas ou esfoliadas podem, ou não, manter a arquitectura que originalmente tinham nos tecidos.

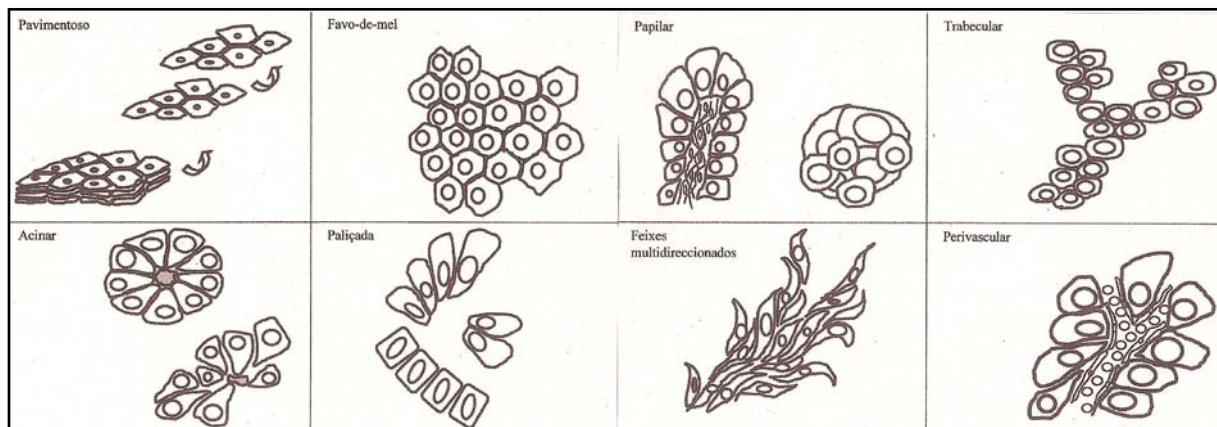
Masserdotti (2006) faz a comparação entre uma secção histológica e uma árvore, em que os vasos sanguíneos são as raízes, o estroma do tecido conjuntivo são os troncos, e as células são as folhas das árvores. Na citologia o objectivo é reconhecer as “folhas” observadas (células), que correspondem a uma determinada “árvore” (tecido); estas células comparam-se com as folhas que caíram por elas próprias, enquanto na PAAF as células observadas comparam-se com as folhas arrancadas de forma vigorosa da árvore. Assim, um esfregaço pode apresentar uma arquitectura semelhante a um tronco inteiro.

Os factores cruciais para uma amostra citológica preservar a sua arquitectura, são a necessidade de haver um número de células elevado, o uso de métodos não traumáticos na recolha e na execução do esfregaço, e a quantidade da matriz extracelular ou de outros meios de conexão (Masserdotti, 2006). A obtenção de um esfregaço com elevada celularidade está relacionada com a lesão em si, e com a experiência do operador. Masserdotti (2006) refere que a técnica de esmagamento suave do material colhido entre duas lâminas, fornece informações úteis quanto à arquitectura; a arquitectura celular tem uma estreita relação com a morfologia e a funcionalidade da célula no tecido de origem, e reflecte o comportamento biológico de uma população celular. Assim, segundo Masserdotti (2006), alguns dos tipos de arranjos que podemos encontrar são os seguintes (figura 4): arranjo tubular ou acinar para células glandulares; arranjo pavimentoso, típico dos queratinócitos, para que conservem a sua função de protecção e barreira exterior; arranjo em paliçada, das células do epitélio pseudo-estratificado colunar do tracto respiratório, como interface entre o meio exterior e o ambiente próprio do pulmão; arranjo em favo de mel, semelhante ao pavimentoso, mas onde as células são cubóides ou colunares, encontrando-se no parênquima glandular; arranjo papiliforme, composto por um eixo de estroma fibroso ou vascular, com uma ou mais camadas de células, encontrando-se normalmente no tecido glandular mamário; arranjo trabecular, com placas celulares, observadas nos tumores das glândulas hepatóides e em alguns tumores mamários e hepáticos; arranjo em curtos feixes multidireccionados, típico do tecido mesenquimatoso, com células fusiformes, presente nos



tumores como o fibrossarcoma ou o histiocitoma maligno; e por último, o arranjo perivascular, em que as células se distribuem ao longo dos vasos sanguíneos, típico dos tumores das células de Leydig, dos hemangiopericitomas e dos lipossarcomas.

**Figura 4.** – Padrões arquitecturais ilustrando diferentes tipos de arranjos celulares (adaptado de Masserdotti, 2006).



## 2.6 Neoplasias Mamárias

As neoplasias da glândula mamária ocorrem frequentemente na prática clínica diária, tratando-se de neoformações peculiares, com grande variedade celular dentro de uma mesma massa tumoral.

Deste modo, optou-se por abordar as lesões mamárias e as suas características citológicas num capítulo independente.

### 2.6.1 Neoplasia da Glândula Mamária em Cadelas

A neoplasia da glândula mamária é o segundo tumor mais frequente em cães, embora, nas cadelas seja o mais comumente encontrado (Stratmann, Failing, Richter & Wehrend, 2008). Os tumores mamários em cadelas têm uma incidência três vezes superior aos tumores da mama nas mulheres (Cassali et al., 2007). De todos os tumores em canídeos, o mais frequente é o tumor cutâneo, (Henson, 2003). Allen et al. (1986) referem que, nas cadelas, os tumores mamários correspondem a 52% de todas as neoplasias. Aproximadamente 50% dos tumores mamários em cadelas são malignos, com uma distribuição multicêntrica, e que um único animal pode apresentar mais do que um tipo de neoplasia (Allen et al., 1986).

Os tumores da glândula mamária raramente ocorrem em cães machos, sendo a sua incidência inferior a 1%. Todavia, quando ocorrem, estão associados a alterações hormonais, como tumores das células de Sertoli secretoras de estrogénio (Henson, 2003).

As cadelas têm cinco pares de glândulas mamárias: as craniais torácicas; as caudais torácicas; as craniais abdominais; as caudais abdominais; e as inguinais. As mamas caudais abdominais e inguinais são, sem dúvida, aquelas onde se detectam tumores com maior frequência, possivelmente por serem aquelas que têm maior quantidade de parênquima mamário (Peleteiro, 1994).

Stratmann et al. (2008) efectuaram um estudo em 99 cadelas onde registaram a distribuição dos tumores mamários. A distribuição cranio-caudal foi a seguinte: o par cranial torácico registou 6,1%; o par caudal torácico 11,1%; o par caudal abdominal obteve 47,4%; e, por último, o par inguinal com 35,3%. O facto de não haver qualquer registo de tumores no par cranial abdominal deve-se a uma opção dos autores por não incluírem estes casos no estudo, pois este par de mamas tem uma drenagem linfática dupla; isto é, a linfa deste par, pode drenar para o linfonodo axilar, assim como para o linfonodo inguinal superficial. Porém, parece que a partir do momento em que um tumor mamário se desenvolve, formam-se anastomoses linfáticas entre as diferentes glândulas mamárias (Stratmann et al., 2008). Estes autores estudaram a recorrência de tumores mamários após mastectomia. Em 58% animais ocorreu o desenvolvimento de um novo tumor mamário ipsilateral, depois da remoção do primeiro tumor. No seguimento deste estudo, demonstraram que existe uma correlação positiva entre a classificação do primeiro tumor mamário e do segundo. Chun e Garrett (2005) afirmam que dos tumores mamários malignos, cerca de 50% podem recidivar ou metastizar depois da primeira ressecção cirúrgica. Contudo, no que se refere a tumores mamários desenvolvidos em cadeias mamárias independentes, não existe uma correlação significativa no que toca ao diagnóstico histológico.

Considera-se que a população de risco, no que se refere aos tumores mamários, é constituída por cadelas entre os 6 e os 12 anos de idade (Peleteiro, 1994). A idade de maior susceptibilidade situa-se entre os 9 e os 11 anos (Peleteiro, 1994). Apesar disso, todo o aumento do tecido mamário deve ser avaliado para possível diagnóstico de neoplasias. Os aumentos generalizados não associados a pseudo-gestação, lactação ou mastite, devem receber atenção especial (Zuccari, Santana & Rocha, 2001).

A ocorrência de neoplasias da mama está directamente relacionada com a influência hormonal, o que é demonstrado pela ovário-histerectomia profilática, que quando realizada antes do primeiro cio reduz significativamente o risco de neoplasia mamária (Meyer, 1996). O risco de ocorrência de tumor mamário, em cadelas cuja castração foi realizada antes do primeiro cio, é de 0,05%, enquanto que se for feita antes do segundo cio, é de 8%. No entanto, se for efectuado após o segundo cio, o risco aumenta na ordem dos 26% (Chun &

Garrett, 2005). Estes autores asseguram que não existe nenhum efeito protector da esterilização se esta for efectuada depois do terceiro cio.

Apesar da comprovada influência hormonal, a administração prolongada de estrogénios em cadelas não aumenta a incidência de tumores da glândula mamária; porém, a administração de progesterona pode originar a formação de nódulos benignos (Chun & Garrett, 2005). Existem numerosos estudos imunohistoquímicos que comprovam a existência de receptores de estrogénio e progesterona, tanto no tecido mamário normal, como na maioria das neoplasias mamárias (Henson, 2003).

Os nódulos mamários nas cadelas podem atingir 20 cm, contudo, geralmente não ultrapassam os 10 cm (Peleteiro, 1994). Estes são facilmente reconhecidos como massas de superfície bosselada, bem circunscritos, podendo ser móveis ou mais aderentes (Peleteiro, 1994).

Dados recentes indicam que as características morfológicas de malignidade, como o pleomorfismo celular, não são suficientes para o diagnóstico de carcinomas (Henson, 2003). A invasão do estroma é a melhor evidência histológica de malignidade nos tumores mamários (Henson, 2003); infelizmente o exame citológico não permite ao patologista averiguar acerca desta invasão do estroma, mas se aquele for acompanhado de uma história clínica o mais detalhada possível e do exame clínico, o exame citológico é particularmente útil para a diferenciação entre lesão neoplásica, mastite ou quisto mamário (Henson, 2003).

A técnica de colheita de material de uma massa mamária é idêntica à de qualquer outra lesão tumoral cutânea ou sub-cutânea. Não obstante, as neoplasias mamárias apresentam características específicas, uma vez que massas de grandes dimensões podem apresentar diferente constituição em locais diferentes, com grande heterogeneidade tecidular, surgindo locais de reacção inflamatória, quistos e nódulos neoplásicos. Assim, nos esfregaços obtidos a partir de uma neoplasia mamária, pode encontrar-se células de reacção inflamatória (Anexo 3: figura 3.13), conteúdo de quistos de retenção e células neoplásicas de origem epitelial (Henson, 2003). Alguns autores não consideram a PAAF a técnica de diagnóstico mais indicada, pois a maioria dos tumores da cadela são mistos, pelo que há necessidade de obter amostras de vários pontos de aspiração (Peleteiro, 1994; Zuccari et al., 2001). Por outro lado, a distinção entre material benigno e maligno não implicaria mudanças na conduta operatória (Zuccari et al., 2001). Apesar disso, esta técnica é considerada muito útil na identificação dos linfonodos suspeitos de metástases (Zuccari et al., 2001).

Os tumores mesenquimatosos, assim como as neoplasias que apresentam um componente fibroso, podem esfoliar mal, sendo a colheita de material mais difícil (Henson, 2003). Nestes tumores, a obtenção de esfregaços por impressão do material cortado não tem tantas vantagens como o material obtido por punção (Henson, 2003).

O exame citológico da maioria dos tumores mamários revela um fundo contendo uma quantidade variável de sangue, material proteináceo basofílico, adipócitos e células espumosas (Henson, 2003). Os aspirados de tumores epiteliais benignos, como os adenomas, revelam quantidade moderada a elevada de células epiteliais dispostas em camadas ou em placas (Anexo 3: figura 3.15) (Henson, 2003). Estas células apresentam um aspecto uniforme, podendo observar-se estruturas acinares. Os adenomas, fibroadenomas e tumores mistos benignos, podem fornecer placas e agregados de células epiteliais de aspecto uniforme e individualizadas, ou agregados de células fusiformes de origem mioepitelial (tumores complexos) ou mesenquimatosas (tumores mistos). O exame de neoplasias mamárias pode revelar a presença de constituintes cartilaginosos ou ósseos, como osteoblastos e osteoclastos (Henson, 2003).

Tumores mamários malignos podem ser diagnosticados com base no aspecto citológico dos tipos celulares presentes, através da observação de pelo menos três características de malignidade. No caso específico dos adenocarcinomas, é possível observar estruturas acinares individualizadas (Henson, 2003). As células epiteliais são arredondadas, com núcleos excêntricos e quantidade moderada de citoplasma basofílico e/ou vacúolos claros (Henson, 2003). Estes tumores malignos apresentam um rácio núcleo:citoplasma elevado, anisocitose e nucléolos grandes e evidentes. Segundo a classificação histológica da Organização Mundial da Saúde (Misdorp, Else, Hellmen & Lipscomb, 1999) os tumores mamários dos canídeos e dos felídeos, podem ser classificados em quatro grandes categorias: tumores malignos; tumores benignos; hiperplasias/displasias mamárias; e outros tumores não classificados. Dentro de cada categoria, os tumores são classificados mais pormenorizadamente segundo a constituição celular predominant de cada lesão.

Quanto ao prognóstico dos tumores mamários em cadelas, este depende do seu tipo histológico; da sua dimensão, tendo pior prognóstico os tumores com dimensões superiores a 3 cm de diâmetro; do envolvimento dos linfonodos regionais; da evidência histológica de invasão vascular ou linfática; da presença de ulceração; e da existência de metástases (Chun & Garrett, 2005).

## **2.7 Diferentes Técnicas de Obtenção de Esfregaços**

O exame citológico é uma ferramenta muito útil devido ao seu valor diagnóstico. É de grande importância obter uma boa amostra e um bom esfregaço. Nem o melhor especialista em citologia, utilizando o melhor microscópio, pode emitir um diagnóstico sobre algo que não viu (Meyer, 1996).

Para se obter um bom esfregaço que permita uma análise citológica de confiança, pode-se optar por diferentes técnicas. Todas elas têm a sua aplicabilidade, mas a punção aspirativa

é, sem dúvida, a mais comumente utilizada, na prática clínica diária. Todavia, a maioria dos clínicos não tem a percepção de que existem outras técnicas à sua disposição, para além da PAAF (Meyer, 1996).

Antes de iniciar uma colheita para exame citológico, o clínico deve ter obtido as informações necessárias acerca da história clínica do animal e da evolução da lesão, sobretudo no que respeita a sua velocidade de crescimento. O clínico deve, também, apreciar a lesão e caracterizá-la quanto à sua localização, dimensão, consistência, sensibilidade dolorosa, presença de líquido no aspirado, características do aspirado e facilidade na obtenção de material para execução do esfregaço. A utilização de lâminas de vidro com um dos topos fosco, é vantajosa porque permite fazer o registo da informação da lesão e do paciente, com lápis (Meyer, 1996).

Há várias formas de se obter material para exame citológico, sendo geralmente dispensável a anestesia. Só em casos de lesões em zonas muito sensíveis, ou em animais particularmente agressivos, se recorre à anestesia local ou geral (Peleteiro et al., 2006).

Deve realizar-se a tricotomia da zona onde se realizará a colheita, idealmente com uma máquina tosquiadora, ou com uma tesoura (Anexo 2: figura 2.2 e 2.3). Quanto à assepsia do local a puncionar, os autores não são unânimes, uma vez que uns defendem a limpeza e desinfecção como se de um campo cirúrgico se tratasse (Ghisleni, Roccabianca, Ceruti, Stefanello, Bertazzolo & Caniatti, 2006), enquanto que outros defendem que apenas a desinfecção com álcool etílico é suficiente (Peleteiro et al., 2006).

O objectivo de qualquer colheita é obter material mais rico em células possível, dispersando-o numa fina camada sobre uma lâmina, de modo a formar uma monocamada de células (Peleteiro et al., 2006). Deste modo, a fixação por exposição ao ar é rápida e eficaz.

A PAAF é a técnica de eleição para obter material de lesões cutâneas ou subcutâneas, palpáveis a partir do exterior, que podem corresponder a uma neoplasia, um quisto, um abscesso ou uma hipertrofia de um linfonodo superficial (Meyer, 2003). Depois de depositado o material na extremidade de uma lâmina limpa (Anexo 2: figura 2.13 e 2.14), procede-se à compressão suave, e ao deslizamento de outra lâmina sobre o material (Anexo 2: figuras 2.15 a 2.18), com o objectivo de o distribuir, partindo de uma massa espessa multicelular para um esfregaço de camada única; separa-se as células individualmente, permitindo mais tarde a penetração do corante. Este procedimento permite a optimização da observação ao microscópio (Meyer, 2003). Um erro comum é a deposição de uma quantidade excessiva de amostra na lâmina, resultando numa preparação espessa, que dificulta o exame microscópico (Meyer, 2003).

O esfregaço por aposição é outra modalidade de colheita, que pode ser utilizada em lesões cutâneas húmidas, ou para colher material de lesões crostosas, removendo a crosta e colhendo o material subjacente (Peleteiro et al., 2006). Aplica-se directamente a lâmina sobre a lesão e pressiona-se repetidamente. Se a lesão for particularmente seca, é útil a

rotação da lâmina para assegurar que o material adere à lâmina (Peleteiro et al., 2006). Esta técnica também é particularmente útil para a colheita de células de uma superfície de corte fresca, como por exemplo de uma massa neoplásica acabada de extirpar, permitindo um diagnóstico mais rápido do que o histopatológico (Peleteiro et al., 2006). Salienta-se que, quando a superfície de corte é muito húmida ou sanguinolenta deve, então, secar-se a zona do corte com um papel de filtro, para que a aposição das células seja mais efectiva (Meyer, 2003). No que se refere aos tumores venéreos transmissíveis, mesmo que não se tenha procedido à extirpação, esta é a técnica mais indicada (Peleteiro et al., 2006). Além disso, fornece bons resultados em casos de lesões cutâneas ulceradas, com suspeita de neoplasia ou infecção micótica (Meyer, 2003). Contudo, outros autores afirmam que se deve evitar esta técnica quando se trata de neoplasias ulceradas, pois a inflamação secundária pode inviabilizar o diagnóstico. Um bom exemplo desta situação é o carcinoma escamoso ou espino-celular (Magalhães et al., 2001).

É possível ainda recolher material para exame citológico através de zaragatoas. Procede-se à dispersão do material numa lâmina, fazendo a zaragatoa rolar sempre no mesmo sentido. Esta técnica utiliza-se em lesões fistulosas (Magalhães et al., 2001), piodermites profundas, no canal auditivo e nos espaços interdigitais (Peleteiro et al., 2006).

Outra técnica é a raspagem/esfoliação, e preparação de um esfregaço a partir do material obtido. A técnica é simples, necessitando apenas de uma lâmina de bisturi para efectuar a raspagem. É particularmente útil em lesões crostosas, fibrosas, quísticas ou vesiculosas (Magalhães et al., 2001), permitindo obter material rico, com um número maior de células por campo (Magalhães et al., 2001). Também pode ser utilizada para fazer a raspagem de uma superfície de corte fresca, com origem numa neoplasia removida cirurgicamente. O material, uma vez colocado sobre uma lâmina, é disperso, com recurso a outra lâmina.

A colheita de material com origem na cavidade nasal pode ser realizada mediante zaragatoa ou técnicas aspirativas ou de lavagem. Estes são meios de diagnóstico pouco invasivos, não requerendo normalmente intervenção cirúrgica (Magalhães et al., 2001).

As neoplasias do aparelho reprodutor podem ser diagnosticadas a partir da análise do fluido prostático, aspirado testicular, colpocitologia, secreção mamária e do sedimento urinário, que pode indicar envolvimento neoplásico do tracto urinário (Magalhães et al., 2001).

Há cerca de uma década, surgiu uma outra corrente de investigadores que estudaram os resultados de uma versão ligeiramente diferente da PAAF (Meyer, 1996). Esta técnica, designada por punção capilar com agulha fina, consiste na punção sem aspiração, necessitando apenas de uma agulha (Meyer, 1996). Não existe, assim, aspiração por meio de pressão negativa, com o intuito de recolher maior número de células ou permitir a sua separação mais facilmente. Esta técnica parece ser menos traumatizante, e está indicada para tecidos em que as células constituintes possam ser destruídas durante a aspiração (Meyer, 1996; Peleteiro et al., 2006). É bastante vantajosa nas punções eco-guiadas de

lesões profundas, como por exemplo na cavidade abdominal (Tyler, Cowell, Baldwin & Morton, 1999), sendo também particularmente útil em lesões muito vascularizadas, cujas amostras possam ser facilmente contaminadas com sangue (Meyer, 1996; Peleteiro et al., 2006), como é o caso da tiróide (Valli, 1988). Tem a vantagem de, mais facilmente preservar a arquitectura celular (Masserdotti, 2006), baseando-se no princípio da capilaridade ficando as células aprisionadas no lúmen da agulha (Meyer, 1996), em que, caso seja necessário, pode fazer-se pequenos movimentos de vaivém, para libertar um maior número de células (Peleteiro et al., 2006). A recuperação do material contido na agulha é efectuada à semelhança da PAAF, com uma seringa cheia de ar que, por pressão positiva, expelirá o conteúdo para uma lâmina (Peleteiro et al., 2006). Em pacientes humanos não parece haver uma diferença significativa na precisão da emissão de um diagnóstico por esta técnica, quando comparada com a técnica convencional de aspiração (Meyer, 1996). Em Medicina Veterinária não existem estudos sobre a aplicabilidade desta técnica.

O exame de efusões é uma das importantes aplicações da citologia. Recomenda-se fazer um esfregaço com o líquido colhido directamente, ou em alternativa, fazer um esfregaço após centrifugação ou sedimentação do fluido (Meyer, 1996).

A PAAF pode constituir uma técnica com grande utilidade no diagnóstico de lesões no canal auditivo externo, em que a citologia obtida por zaragatoa tem normalmente poucas células esfoliadas, e as que estão presentes podem ser mascaradas pela reacção inflamatória associada (De Lorenzi, Bonfanti, Masserdotti & Tranquillo, 2005).

É importante referir que os esfregaços a enviar para o laboratório, devem ser bem acondicionados num porta-lâminas (Anexo 2: figura 2.20) e mantidos distantes de recipientes que contenham formol a 10%, uma vez que os vapores de formaldeído podem violar a integridade da amostra (Meyer, 1996). Estes vapores vão alterar as características das colorações, sendo que as células nucleadas surgem com uma aparência azulada, com poucos detalhes celulares, e os eritrócitos azul-esverdeados (Meyer, 1996).

## **2.8 Técnicas de Coloração das Amostras**

Em citologia veterinária podem ser usadas diferentes colorações, quase todas elas permitem uma rápida execução com resultados satisfatórios. Diferem em pequenos aspectos, nomeadamente nos tempos de realização e nas estruturas celulares que evidenciam.

De todas as colorações existentes no mercado, os corantes derivados do método de Romanowsky (Diff-Quick, Wright, Giemsa, May-Grünwald-Giemsa e Leishman) são os mais utilizados (Meyer, 2003). Nas clínicas veterinárias são habituais os corantes rápidos do tipo Diff-Quick® ou Hemacolor®. A utilização frequente da técnica de coloração de Romanowsky, ocorre porque envolve procedimentos rápidos e de fácil execução. Os corantes deste tipo

são obtidos a partir da combinação de corantes básicos e ácidos dissolvidos em álcool (Meyer, 2003). Estes corantes policromáticos conferem as propriedades tintoriais basofílica e acidofílica, observadas nos esfregaços de sangue. De uma forma geral, estes corantes coram bem as células, evidenciando o núcleo e o citoplasma, assim como o nucléolo. É, no entanto, necessária atenção para os cuidados a ter com a manutenção dos corantes e, acima de tudo, para os cuidados com a técnica propriamente dita. O tempo de coloração varia de acordo com a espessura da amostra e com a qualidade do corante, visto que os corantes muito usados podem encontrar-se contaminados devido às sucessivas utilizações (Meyer, 2003). Podem preparar-se amostras muito ou pouco coradas, ou coradas de forma irregular e, em alguns casos, com presença de precipitados ou outros tipos de artefactos que dificultam a avaliação (Magalhães et al., 2001).

A técnica de coloração de Papanicolaou é rotineiramente utilizada na preparação de amostras para exame citológico em Medicina Humana (Magalhães et al., 2001). Esta coloração é valiosa na detecção de alterações morfológicas iniciais, indicativas de displasia e neoplasia, por acentuar os detalhes nucleares (Meyer, 2003). Em Medicina Veterinária não se utiliza a coloração de Papanicolaou nem a nível laboratorial, nem nas clínicas veterinárias, pois envolve múltiplas fases de preparação dos corantes (Magalhães et al., 2001), e tem algumas limitações na detecção de reacções inflamatórias.

O azul-de-metileno novo é um corante básico que impregna o núcleo, a maioria dos microorganismos, as plaquetas e os mastócitos (Meyer, 2003). É útil na identificação de células nucleadas, bactérias, fungos e leveduras (Meyer, 2003). Porém, é um corante de preparação extemporânea e os esfregaços por ele corados não podem ser preservados, uma vez que ao ser aquoso, a sua evaporação não permite a preservação dos esfregaços.

Em alguns tipos de mastocitoma pode-se usar o Azul de Toluidina ou o Ácido Periódico de Schiff, para melhor observação dos grânulos (Magalhães et al., 2001). Contudo, o Giemsa cora os grânulos metacromaticamente, facilitando de forma plenamente satisfatória o diagnóstico dos mastocitomas (Anexo 3: figura 3.1) (Meyer, 2003).

## **2.9 Histopatologia**

O exame histopatológico de um fragmento representativo de um tumor, é o meio de diagnóstico mais exacto (Morris & Dobson, 2001), sendo considerado o método de eleição (*gold standard*). O exame histopatológico permite a observação de detalhes celulares; a avaliação da arquitectura do tumor, isto é, avaliar se há perda da organização tecidular, a sua relação com os tecidos vizinhos, o que permite estabelecer se as células tumorais invadem os tecidos normais; e averiguar acerca do possível comportamento metastático



através da presença de células tumorais nos vasos linfáticos ou nas vénulas (Morris & Dobson, 2001).

Adicionalmente, a biopsia tem uma série de vantagens, pois possibilita a classificação e a *grading* de uma neoplasia, proporcionando o substrato para diferentes colorações e técnicas imunohistoquímicas (Meyer, 1996).

Como referido anteriormente, a citologia é um meio de diagnóstico pré-cirúrgico muito útil, permitindo definir uma técnica cirúrgica mais agressiva ou mais conservadora (Meyer, 1996). Porém, em determinados tumores a classificação pré-cirúrgica da lesão não é relevante, como é o caso de tumores em órgãos internos como o rim e o baço, onde a opção mais frequente e correcta é a sua remoção na totalidade; ou em casos de tumores mamários, em que não é relevante se se trata de uma neoplasia benigna ou um carcinoma, visto que o procedimento final em Medicina Veterinária é a sua remoção total (Morris & Dobson, 2001). Independentemente de ter ocorrido ou não análise citológica pré-cirúrgica, em nenhuma circunstância deve ser dispensada a análise histopatológica pós-cirúrgica. A classificação dos tumores com base na sua histopatologia tem enorme importância, para emitir o prognóstico (Morris & Dobson, 2001).

## **2.10 A Citologia e a Clínica Médica**

Algumas correntes médicas suportam a ideia que a interpretação da PAAF é mais correcta se for executada pelo próprio clínico que examinou o animal e que fez a aspiração (Mills & Griffiths, 1984). Os requerimentos básicos para obter bons resultados com a citologia por PAAF, segundo Ménard et al. (1986) são a realização de um esfregaço de boa qualidade; uma colaboração estreita entre o citologista e o clínico, devendo o médico veterinário assistente fornecer uma história completa; e, ter alguns conhecimentos de patologia e citologia.

Os achados clínicos identificados na história pregressa, ou no exame clínico, que podem indicar malignidade de um tumor são: diâmetro da massa; crescimento rápido e recente; infiltração dos tecidos vizinhos; presença de eritema e edema (Allen et al., 1986).

No caso particular dos tumores mamários caninos, sejam benignos ou malignos, são raros os que exibem, pelo menos, uma destas características. Outros indicadores como a diferenciação celular e a invasão do estroma circundante, são identificados, apenas, em preparações histológicas (Allen et al., 1986). Devido ao facto de o tratamento mais comum das neoplasias mamárias ser a sua excisão cirúrgica, esta é aplicada independentemente do diagnóstico emitido.

As aplicações clínicas do exame citológico por PAAF são muitas. Por exemplo, se uma massa for diagnosticada como benigna, a decisão de antecipar ou adiar a cirurgia pode ser feita com segurança, se o animal tiver, em simultâneo, outros problemas clínicos (Allen et al., 1986). Se se tratar de uma neoplasia inoperável, o diagnóstico citológico pode evitar a necessidade de realizar uma biopsia confirmativa, que é sempre mais cruenta (Allen et al., 1986). Nos casos de pacientes com múltiplos nódulos mamários, sabendo quais são benignos e malignos, a citologia pode dar indicações úteis de como deve ser realizada a cirurgia (Allen et al., 1986). Por último, a citologia pode dar um diagnóstico fiável no caso de recorrência de tumores malignos, outrora extirpados, evitando a necessidade de uma nova intervenção cirúrgica para obter um diagnóstico (Allen et al., 1986).

A citologia constitui, então, um meio de diagnóstico bastante útil, que permite preparar a cirurgia com uma maior segurança. O resultado citológico pode dar uma indicação relevante sobre as margens cirúrgicas a aplicar (Morris & Dobson, 2001). A citologia possibilita o diagnóstico rápido, especialmente durante um acto cirúrgico, de modo a optar de imediato por um outro tipo de intervenção cirúrgica que eventualmente seja mais aconselhado (Simeonov & Stoikov, 2006), ou a estabelecer margens cirúrgicas mais amplas. Por exemplo, as margens cirúrgicas requeridas para remover um histiocitoma cutâneo são consideravelmente mais pequenas do que aquelas necessárias para remover um mastocitoma cutâneo (Morris & Dobson, 2001). As informações obtidas pela citologia permitem, então, definir estratégias médicas ou cirúrgicas mais adequadas a cada caso (Magalhães et al., 2001).

O diagnóstico de nódulos mamários na clínica diária é muito importante, e nunca deve ser descurado do exame clínico de rotina. O clínico consegue detectar nódulos de diâmetro inferior a 0,5 cm, por palpação com as pontas dos dedos, percorrendo todo o parênquima mamário (Peleteiro, 1994). Deve, também, espremer-se delicadamente os mamilos no sentido de avaliar se existe, ou não, secreção (Peleteiro, 1994). Atendendo que aos tumores mamários das cadelas se encontram frequentemente associadas vários tipos de lesões neoplásicas, por vezes localizadas na mesma glândula e em situação de grande proximidade, facilmente se conclui que a observação histológica de certos tumores pode assumir aspectos de grande complexidade (Peleteiro, 1994). Situações deste tipo podem levar o patologista a emitir diagnósticos que, embora totalmente correctos, são pouco compreensíveis para o clínico e, portanto, de certo modo inúteis no que respeita ao objectivo final – ajudar o clínico ou o cirurgião a estabelecer um diagnóstico, instituir uma terapêutica e emitir um prognóstico (Peleteiro, 1994).

Se um laboratório emitir um diagnóstico de neoplasia, o exame citológico dos linfonodos regionais pode fornecer informações sobre o estadio em que se encontra, permitindo estabelecer o prognóstico, ou detectar a presença de metástases (Simeonov & Stoikov, 2006). Nos casos de recidiva neoplásica pós-cirúrgica, o exame citológico rápido e preciso

pode indicar se é necessário efectuar uma nova intervenção cirúrgica (Simeonov & Stoikov, 2006).

O exame citológico por PAAF de linfonodos é um meio de monitorizar pacientes que sofram de linfoma linfoblástico, e a sua fiabilidade no diagnóstico de linfomas não-Hodgkin em humanos e de linfomas em cães, está comprovada (Williams, Broussard, Johnson & Neel, 2005). A PAAF permite, ainda, obter amostras celulares que podem ser utilizadas em citometria de fluxo, que determina a quantidade de DNA, que fracção se encontra em fase S, o imunofenótipo e a caracterização do linfoma (Williams et al., 2005).

A obtenção de material insatisfatório, infelizmente, tem uma frequência relativamente elevada. Mesmo quando se punciona directamente os nódulos já removidos, esta frequência é de 7% (Reis, Andrade, Velludo, Oliveira, Feitosa, Marana & Bighetti, 1998). Reis et al. (1998) referem que as amostras impróprias devem-se a erros técnicos na obtenção e preparação do material, por características intrínsecas da lesão, e por ausência de material representativo da mesma.

## **2.11 A Fiabilidade da Citologia**

Dos vários estudos realizados ao longo dos últimos vinte anos, os resultados comprovam que a fiabilidade da análise citológica tem vindo a aumentar. Este facto, deve-se possivelmente ao aperfeiçoamento da técnica de colheita, de obtenção de um bom esfregaço, do correcto envio do material para o laboratório e da experiência dos anatomopatologistas.

Os primeiros estudos sobre a fiabilidade da PAAF como meio de diagnóstico, foram realizados por Griffiths et al. (1984) em diversas espécies animais (cães, gatos, cavalos e ruminantes). Mais tarde, outros autores estudaram a fiabilidade da PAAF, como Ménard et al. (1986) e Allen et al. (1986), relatando valores de concordância na ordem dos 74% (Griffiths et al., 1984), entre os 69% e os 74% (Ménard et al., 1986), e de 66% a 79% (Allen et al., 1986). Eich et al. (2000) e Magalhães et al. (2001) relatam, já na presente década, valores de concordância entre a PAAF e a histopatologia em neoplasias em canídeos na ordem dos 83% e 85,3%, respectivamente. Ménard e os seus colaboradores, já no ano de 1986, referem que em Medicina Humana a fiabilidade da citologia no diagnóstico de neoplasias malignas variava entre 82% e 91%.

### **3. OBJECTIVOS**

Pretendeu-se comparar a fiabilidade da análise citológica, relativamente ao *gold standard*, a análise histopatológica.

Esta dissertação pretende contribuir, para a divulgação da punção aspirativa com agulha fina, como um dos meios de recolha de material para análise citológica.

Serve, também, este trabalho para despertar a atenção dos clínicos, acerca das inúmeras potencialidades desta técnica.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo compreendeu 28 canídeos que se apresentaram na clínica veterinária AZEVET, entre 1 de Outubro de 2007 e 31 de Março de 2008. Nos 28 canídeos em estudo foram identificadas 57 massas com diferentes localizações, realizando-se PAAF para exame citológico e, posteriormente, análise histopatológica.

Todo o material colhido para este estudo foi enviado para o Laboratório de Anatomia Patológica, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, onde se procedeu à análise das amostras, quer citológicas, quer histopatológicas. As amostras foram observadas e analisadas por anatomopatologistas dedicados ao diagnóstico citológico e histopatológico.

Na maioria dos casos, o estímulo iatrotópico foi a identificação pelo proprietário de uma ou mais massas no seu animal de estimação. Noutros casos, o seu reconhecimento foi realizado pelo médico veterinário assistente durante a consulta de rotina. Após a identificação de uma massa, o procedimento seguido por todos os médicos veterinários foi idêntico, alertando o proprietário para a necessidade de identificação da sua origem, e/ou, em alguns casos, para a sua remoção.

Todos os nódulos, com excepção daqueles situados na glândula mamária e dos nódulos ulcerados, seguiram o procedimento habitual: execução da PAAF e envio do material para o laboratório. Somente após ser conhecido o resultado da análise citológica era tomada a decisão terapêutica. Cabia, então, ao médico veterinário assistente interpretar os resultados e optar pelo tratamento mais adequado. Desta forma, caso o resultado da análise citológica indicasse tratar-se de uma lesão inflamatória ou piogranulomatosa, procedia-se ao tratamento médico adequado. Caso o relatório evidenciasse tratar-se de uma lesão neoplásica ou, nos casos em que não era possível emitir um diagnóstico conclusivo de neoplasia, o tratamento sugerido era a remoção cirúrgica da lesão, com amplas margens de segurança.

No caso particular dos nódulos mamários, não foi realizada a PAAF aquando da apresentação, sendo de imediato aconselhada a sua remoção cirúrgica. Este procedimento era antecedido pela realização de exames pré-cirúrgicos adequados a cada caso. Nestes animais a punção aspirativa das massas teve lugar após a indução da anestesia.

Todo o material colhido para análise citológica foi obtido *in vivo*. Dos 28 animais acompanhados, foram colhidas amostras para análise histopatológica em 21 deles por exérese cirúrgica e em 7 por necrópsia. Para além dos casos incluídos neste estudo, houve outros 19 casos em que foi realizada a PAAF, mas que posteriormente não se procedeu a análise histopatológica pelo que não foram integrados neste trabalho. Nos casos em que a PAAF foi o único meio complementar utilizado, o resultado da citologia esteve na origem da

não remoção cirúrgica das massas puncionadas. Na sua grande maioria tratavam-se de processos inflamatórios, quistos foliculares ou lipomas.

O material utilizado para a realização e processamento das punções aspirativas com agulha fina foi o seguinte (Anexo 2: figura 2.1):

- lâminas de microscopia com um dos topos fosco,
- agulhas 23 G (Braun<sup>®</sup>),
- seringas 10 ml (Braun<sup>®</sup>),
- cutímetro,
- lápis,
- tosquiadora,
- álcool,
- algodão,
- solução iodada de lavagem (Ectodine<sup>®</sup>),
- solução iodada cutânea (Betadine<sup>®</sup>).

Em primeiro lugar procedeu-se à tricotomia da zona onde se situava a massa a puncionar (Anexo 2: figura 2.2 e 2.3). Em seguida, mediram-se as lesões com um cutímetro e registou-se o seu valor (Anexo 2: figura 2.4). Seguidamente, procedeu-se à limpeza e higiene da pele do local. Foi realizada primeiramente com álcool (Anexo 2: figura 2.5), seguida de lavagem com a solução iodada com acção detergente (Anexo 2: figura 2.6) e posterior passagem com solução iodada de aplicação cutânea (Anexo 2: figura 2.7), com o fim de evitar a contaminação da amostra com bactérias e/ou fungos.

Efectuou-se, então, a PAAF, com seringas de 10 ml e agulhas *luer* de *record* transparente de 23 G, cuja utilização permitiu observar o momento em que o material aspirado entrava no *record*, altura em que a aspiração cessava de imediato. A técnica de aspiração consistiu na fixação da massa a aspirar entre os dedos polegar e indicador de uma mão, enquanto que a outra introduzia a agulha acoplada à seringa de 10 ml, e se procedia à aspiração (Anexo 2: figura 2.8 a 2.12). Os animais encontravam-se convenientemente imobilizados, evitando traumatismos, com possíveis lacerações causadas pelo bisel da agulha. Nenhum animal foi anestesiado especificamente para a realização de PAAF, à excepção dos tumores mamários. Alguns clínicos efectuavam a aspiração com uma só mão, enquanto outros seguravam a seringa com uma mão e efectuavam pressão negativa com o êmbolo da seringa com a outra mão.

Após a introdução da agulha no interior da massa e de se consumir a pressão negativa na seringa 3 a 4 vezes, libertava-se o êmbolo com suavidade, para que o material contido no interior da agulha não fosse aspirado para dentro da seringa, aquando da perda da pressão negativa. Retirava-se, então, a agulha do interior desta. De acordo com as dimensões da

massa, procedia-se, normalmente, a duas ou mais punções, garantindo que para cada massa/nódulo se efectuavam no mínimo 3 a 4 lâminas, consoante a quantidade de material que fosse possível recolher.

Depois de aspirada a lesão, procedia-se à deposição do material colhido num lâmina (Anexo 2: figura 2.13), limpa e desengordurada, segurando-se sempre pelos bordos, para evitar a conspurcação da amostra com corneócitos, células da camada córnea da pele das mãos do operador e com produtos de secreção das glândulas cutâneas. A expulsão do material contido na agulha fazia-se por pressão positiva, de ar aspirado para o interior da seringa, tendo-se o cuidado de desacoplar previamente a agulha (Anexo 2: figura 2.14).

A execução do esfregaço foi feita do mesmo modo que os esfregaços de sangue. Procedeu-se ao esmagamento delicado do material obtido, entre duas lâminas dispostas em cruz (Anexo 2: figura 2.15 a 2.18). Uma das lâminas manteve-se estática, enquanto a outra se deslocava de um pólo até ao pólo oposto, para que o material ficasse disperso em monocamada. A fixação do material colhido por punção aspirativa fez-se ao ar ou, em alguns casos, com a agitação suave das lâminas, para garantir a fixação rápida dos esfregaços que continham mais material, normalmente sangue.

Todas as lâminas foram identificadas com o nome do paciente, data da execução da PAAF e o tipo de lesão a que correspondiam (Anexo 2: figura 2.19). Os esfregaços foram acondicionados num porta-lâminas (Anexo 2: figura 2.20), garantindo que se mantinham nas condições de conservação ideais até à chegada ao laboratório.

À chegada ao laboratório, os esfregaços eram submetidos a uma segunda fixação, utilizando metanol (Merck®). A coloração das lâminas era realizada utilizando Giemsa (Azur – Eosina – Azul de Metileno, solução segundo Giemsa lento, Panreac®).

A técnica de coloração iniciou-se com a passagem das lâminas por uma solução de metanol durante 5 minutos. Seguidamente, escorreram-se as lâminas que eram mergulhadas numa tina contendo Giemsa a 20 % (V/V), com pH – 7,2, durante 20 minutos. O corante Giemsa foi previamente filtrado, para evitar a formação de depósito. Posteriormente, escorreu-se o corante e lavou-se em água corrente; após este procedimento as lâminas foram secas com papel de filtro.

No que diz respeito ao material colhido para histopatologia, foram evitadas regiões com necrose, e áreas com contaminação ou presença de secreções. No caso de existir mais do que uma massa, no mesmo animal, foi recolhido material de todas elas. Todo o material foi enviado para o laboratório, em frascos contendo formal a 10% (formaldeído a 3,7%), onde se procedia ao corte do material enviado.

## 5. RESULTADOS

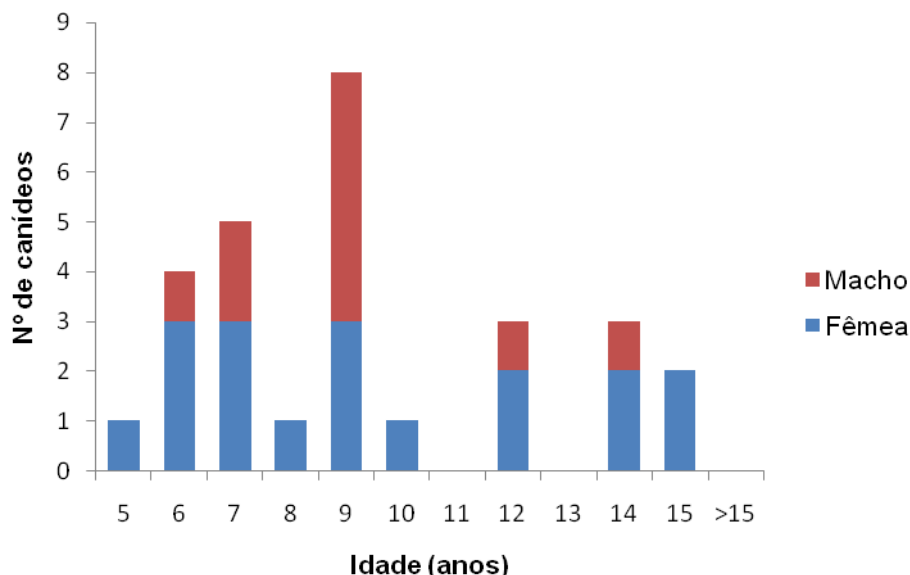
De cada canídeo foram recolhidos os seguintes dados: raça; idade; sexo; localização e dimensões da lesão; resultado da citologia e da histopatologia. Dos 28 canídeos em estudo, 10 animais apresentavam múltiplas lesões, sendo o seu número total de 57 (tabela 2). Num mesmo animal identificaram-se massas com diferentes origens.

**Tabela 2.** – Distribuição de nódulos por sexo e sua frequência relativa.

Sexo	Nº de canídeos	Frequência Relativa (%)	Nº de amostras	Frequência Relativa (%)
Fêmea	18	64,3	37	64,9
Macho	10	35,7	20	35,1
Total	28	100	57	100

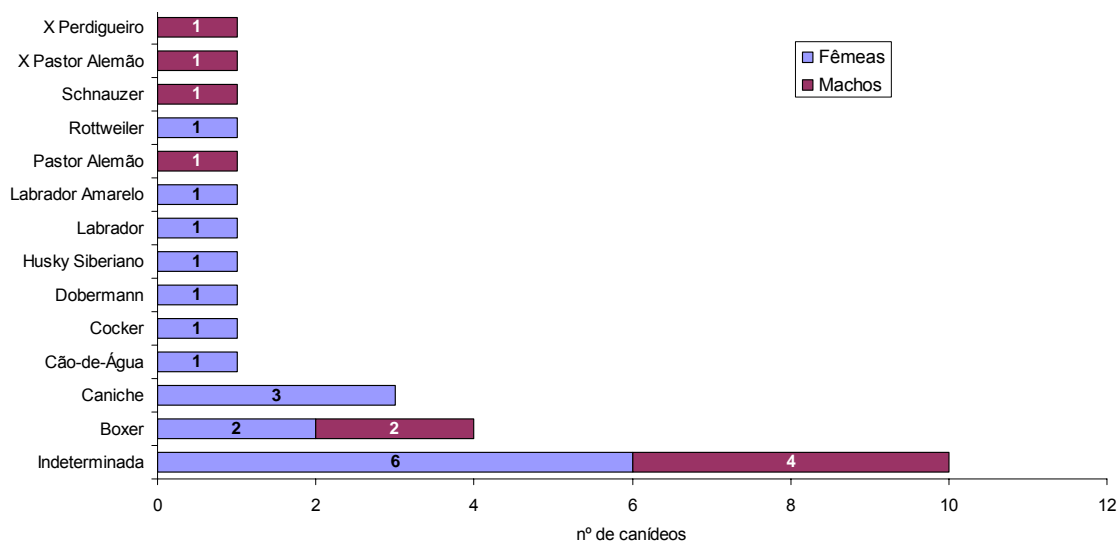
Dos 28 canídeos, 18 eram fêmeas (64,3%) e 10 eram machos (35,7%), com idades compreendidas entre os 5 e os 15 anos, encontrando-se a média e a moda nos 9 anos de idade. O gráfico 1 mostra a distribuição dos animais por idades e por sexos.

**Gráfico 1.** – Distribuição da idade dos canídeos por sexo.



A maioria dos canídeos incluídos neste estudo era de raça indeterminada (10 casos; 35,7%). As raças puras mais representadas foram: Boxer (4 casos; 14,3%); Caniche (3 casos; 10,7%); e Labrador Retriever (2 casos; 7,1%). O gráfico 2 mostra a distribuição dos animais por raça e por sexo.



**Gráfico 2.** – Distribuição dos canídeos por raça e por sexo.

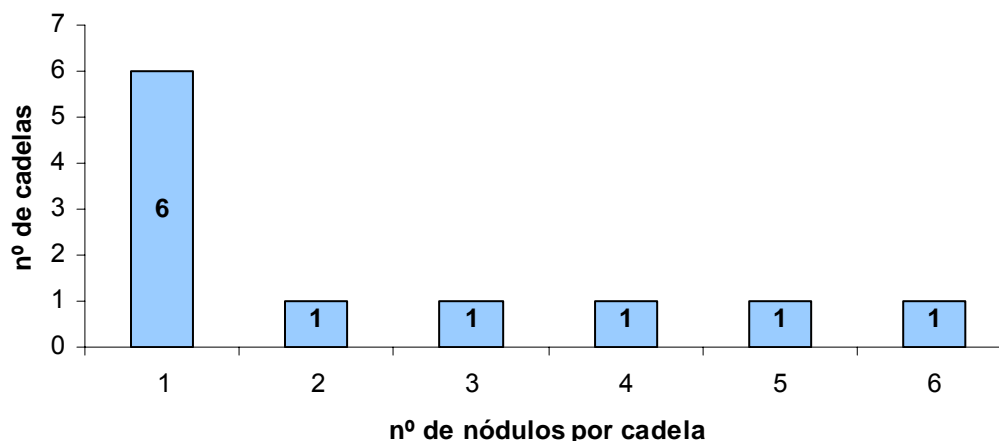
Em relação à glândula mamária, identificaram-se 26 nódulos individualizados em 11 cadelas, o que dá uma média de 2,4 nódulos por cadela. Estas tinham idades compreendidas entre os 6 e os 15 anos, sendo as mais frequentes de raça indeterminada ( $n = 5$ ; 45,45%), seguidas das raças Boxer ( $n = 2$ ; 18,2%) e Caniche ( $n = 2$ ; 18,2%).

Os resultados das PAAF da glândula mamária indicaram, apenas, se se tratava de uma lesão neoplásica ou não, não sendo emitido um diagnóstico acerca da origem celular nem do grau de malignidade das lesões.

Dos 26 nódulos mamários, foi possível emitir um diagnóstico citológico correcto em 24 deles, o que corresponde a uma concordância de 92,3% entre o resultado da citologia e da histopatologia. Apenas em 2 casos não foi possível emitir um diagnóstico (7,7%). Num dos casos, apenas foi possível observar serosidade e presença de células sanguíneas, enquanto que no outro observaram-se massas globosas de cor azul intensa, e alguns perfis celulares.

As lesões mamárias mais frequentes neste estudo, com base na análise histopatológica, foram os carcinomas ( $n = 22$ ; 84,6%), seguidos dos adenomas ( $n = 3$ ; 9,7%), e dos quistos mamários ( $n = 1$ ; 3,8%).

O gráfico 3 mostra a distribuição dos nódulos mamários nas 11 cadelas seguidas neste estudo.

**Gráfico 3.** – Distribuição dos nódulos mamários por cadela.

Em 18 canídeos, 10 do sexo masculino e 8 do sexo feminino, excluindo a glândula mamária, identificaram-se 31 nódulos/massas com diferentes localizações. Destes 18 canídeos, 6 deles apresentavam múltiplos nódulos. Um animal para além de múltiplos nódulos distribuídos pelo corpo, apresentava também alguns com sede na glândula mamária. Os resultados de acordo com a classificação histopatológica estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3.** – Classificação dos nódulos de acordo com a histopatologia.

Classificação de acordo com a histopatologia	Nº de massas/nódulos
Carcinomas	
Carcinoma mamário	22
Carcinoma das glândulas apócrinas	1
Carcinoma das glândulas sebáceas	1
Carcinoma prostático	1
Carcinoma do epitélio de transição vesical	1
Carcinoma do intestino delgado	1
Linfoma	5
Mastocitoma	3
Adenoma mamário	3
Hemangiossarcoma	3
Quistos	
Quisto mamário	1
Quisto infundibular	2
Hemangioma cavernoso	2
Lipoma	2
Polipo	2
Processo inflamatório	2
Melanoma	1
Hemangiopericitoma	1
Sarcoma histiocitário	1
Calcinose circunscrita	1
Involução nodular adiposa hepática	1
Total	57

Dos 31 nódulos em que se realizou a PAAF, verificou-se existir concordância entre o exame citológico e o exame histopatológico em 22 casos, o que correspondeu a 71%. Dos restantes 9 casos, 29%, não houve concordância entre a citologia e a histopatologia.

Destes últimos casos, 4 tiveram um diagnóstico inconclusivo ou não foi possível emitir um diagnóstico, devido ao material enviado ser escasso. Em 4 casos ocorreu um erro no diagnóstico citológico. O outro caso particular em que não houve concordância, deveu-se a má interpretação da informação fornecida pelo clínico. A tabela 4 apresenta, resumidamente, os níveis de concordância obtidos neste estudo.

As tabelas 1.1 e 1.2, que se encontram no Anexo 1, contêm os resultados individualizados, das análises citológicas e histopatológicas, dos 57 casos acompanhados ao longo deste estudo.

**Tabela 4.** – Resumo dos níveis de concordância dos casos acompanhados.

Nível de concordância em 31 casos de lesões extra-mamárias		
Concordância	22	71,0%
Inconclusivo por falta de material	4	12,9%
Diagnóstico emitido errado	4	12,9%
Má interpretação da informação fornecida	1	3,2%
Total	31	100%
Nível de concordância em 26 casos de tumores mamários		
Concordância	24	92,3%
Inconclusivo por falta de material	2	7,7%
Total	26	100%
Nível de concordância dos 57 casos acompanhados		
Concordância	46	80,7%
Inconclusivos/Diagnóstico errado	11	19,3%
Total	57	100%

## 6. DISCUSSÃO

A população estudada compreendeu 28 canídeos, com um total de 57 massas. Em todos os casos procedeu-se à PAAF para obtenção de material para análise citológica, com posterior recolha de amostras para análise histopatológica, por meio de exérese cirúrgica ou necrópsia. A população teve uma dimensão reduzida, pois foi estudada num período de tempo limitado correspondendo ao estágio curricular de final de curso, com uma duração de seis meses. Contudo, os dados obtidos permitem retirar conclusões, no que respeita à aplicabilidade e fiabilidade da PAAF como meio auxiliar de diagnóstico.

Todas as massas identificadas foram puncionadas, embora, neste estudo, apenas tenham sido incluídos os casos em que, para além da PAAF, também se procedeu à exérese cirúrgica ou biopsia. Foram, assim, excluídos os casos em que se procedeu apenas à punção aspirativa, por se tratarem de lesões que tinham indicação de tratamento médico, ou em que a cirurgia constituía um risco para o animal.

Os resultados deste estudo sugerem que a citologia constitui um método auxiliar de diagnóstico muito útil. Para que os resultados da PAAF sejam correctos, a colheita de material e o envio dos esfregaços para o laboratório devem ser realizados de forma adequada (Meyer, 2003). O clínico tem de proceder à interpretação do relatório proveniente do patologista, e elaborar a estratégia terapêutica adequada a cada caso. De salientar que esta técnica deve ser executada antes da remoção cirúrgica de qualquer lesão cutânea ou subcutânea, permitindo a excisão adequada aquando da cirurgia (Dobson & Scase, 2007). Por esta razão é importante conhecer as vantagens e as limitações da citologia, uma vez que esta pode ter por vezes um carácter definitivo, enquanto noutras ocasiões o resultado é inconclusivo, optando-se pela repetição do exame citológico, ou avançando-se para a resolução médica ou cirúrgica.

A citologia obtida por PAAF é um procedimento clínico rápido, de fácil execução, pouco dispendioso, e que não requer equipamentos sofisticados. Por estas razões, a PAAF é uma técnica muito utilizada na prática clínica, para o diagnóstico de lesões neoplásicas e não neoplásicas (Ghisleni et al., 2006). Existem, contudo, poucos estudos sobre a fiabilidade da PAAF em lesões cutâneas e subcutâneas em cães. A maioria dos estudos existentes, referem-se a lesões não cutâneas, como os linfonodos ou os órgãos internos (Ghisleni et al., 2006).

A citologia apresenta uma panóplia de possibilidades de aplicação prática, entre elas: casos de efusões pleurais, pericárdicas e abdominais; sedimentos urinários ou lavagens vesicais; punções prostáticas directas ou através de massagem prostática; lesões nasais ou pulmonares, por meio de lavagens broncoalveolares, punção directa, ou lavagem nasal; casos de linfadenopatia focal ou generalizada; massas e lesões cutâneas e subcutâneas; organomegalias difusas (fígado, baço e rins); massas abdominais não identificadas; e, por último, na avaliação de massas ou lesões descobertas em pleno acto cirúrgico (Meyer,

1996). Roth (2001) menciona que o uso da ultrassonografia na execução da PAAF é um bom auxílio para aumentar a exactidão no diagnóstico de lesões focais ou difusas.

Entre os motivos apontados para o baixo índice de diagnósticos citológicos correctos em Medicina Veterinária, quando comparado com a Medicina Humana, surge a elevada frequência de amostras inadequadas, com a presença de inúmeras células necrosadas, de sangue ou de macrófagos, revelando eritrofagia, ou ainda amostras constituídas por quantidades consideráveis de líquido, no caso dos tumores quísticos, que dificultam a obtenção de um bom esfregaço (Peleteiro, 1994). Daí que existam alguns pormenores técnicos que podem permitir melhorar a obtenção de esfregaços de qualidade, assim como aumentar o número de relatórios citológicos com valor diagnóstico.

No que diz respeito à técnica da PAAF, está recomendada a utilização de um punho de aspiração citológica que permite efectuar a aspiração de massas em melhores condições, apenas com uma mão, enquanto que com a outra se fixa a massa a puncionar (Peleteiro et al., 2006). A falta deste utensílio, pode ter condicionado a obtenção de material de baixa qualidade nos seis casos em que não foi possível emitir um diagnóstico devido à fraca qualidade e baixa celularidade da amostra.

Um outro factor importante é a assepsia do local a puncionar. Neste estudo, efectuava-se a limpeza e desinfecção com álcool, solução iodada de lavagem e solução iodada cutânea, com o fim de garantir a não contaminação das amostras. Esta metodologia permitia valorizar a presença de bactérias ou fungos como própria da lesão aspirada. Contudo alguns autores afirmam que a desinfecção exclusivamente com álcool parece ser suficiente para garantir a assepsia local (Peleteiro et al., 2006).

O acondicionamento dos esfregaços em porta-lâminas apropriados, e o afastamento destes de locais com possíveis vapores de formol, foram cuidados práticos que se tiveram ao longo do estudo, de forma a preservar o material colhido nas melhores condições, entre a clínica e o laboratório, pois os vapores de formol alteram o material da amostra, modificando os detalhes celulares e as afinidades tintoriais da amostra (Meyer, 1996).

Neste estudo, em todos os animais que se realizou PAAF não se registaram complicações, no que respeita à aplicação da técnica, colheita de material, e segurança para o paciente e para o operador.

Não obstante, a citologia pode apresentar também alguns pontos fracos, nomeadamente o risco de emissão de um diagnóstico errado, devido a uma má interpretação dos esfregaços, principalmente quando investigados por observadores inexperientes e sem conhecimentos sólidos em histologia e citologia (Ménard et al., 1986). Foi realizado um estudo, onde a emissão de diagnósticos era efectuada por pessoas com graus de conhecimentos diferenciados: um patologista, um patologista clínico e um residente universitário em patologia (Wang, Panciera, Al-Rukibat & Radi, 2004). Não parece existir variação relevante na emissão dos diagnósticos finais. Roth (2001) efectuou um estudo em que era o único

observador das lâminas, com a convicção de que assim garantia uma maior uniformidade no diagnóstico. Ghisleni et al. (2006) no seu estudo sobre massas cutâneas e subcutâneas, optaram por dois anatomopatologistas a interpretar todas as lâminas, quer de citologia quer de histopatologia. No presente trabalho, houve a colaboração de três anatomopatologistas, aceitando-se que esta situação possa ter causado alguma entropia na emissão de diagnósticos, principalmente nos casos mais complicados. No entanto, este facto espelha a realidade geral em clínica veterinária, isto é, o material enviado para um laboratório pode ser observado por qualquer técnico qualificado. Daí que a opção de apenas um patologista observar todas as lâminas, apesar de poder contribuir para uma melhoria dos resultados, não reproduz a realidade do dia a dia.

Uma limitante apontada à análise citológica é a impossibilidade de esta fornecer informações sobre a arquitectura geral da massa aspirada e de não estabelecer a relação das células com os tecidos vizinhos (Peleteiro, 1994). Recentemente, relacionou-se a disposição das células aspiradas num esfregaço, com a arquitectura celular na lesão. A associação dos métodos clássicos de identificação e classificação celular em citologia, com a tentativa de estabelecer um arranjo arquitectónico celular, pode contribuir para obter-se mais informação sobre o tipo de tecido e o estado da lesão. Esta associação parece ser particularmente útil em caso de lesão neoplásica (Masserdotti, 2006).

Alguns estudos, valorizam o intervalo de tempo entre a realização da PAAF e a obtenção de material para histopatologia, na perspectiva de assegurar que não ocorreram alterações no período compreendido entre a punção e a exérese cirúrgica (Wang et al., 2004). No presente estudo, este factor não foi controlado, uma vez que todo o material foi colhido seguindo os trâmites normais da clínica, esperando sempre pelo resultado da citologia antes de realizar a exérese cirúrgica. É possível, em casos pontuais, que uma determinada lesão tenha sido puncionada para citologia e, subsequentemente, colhida para histopatologia em condições diversas.

A qualidade dos resultados emitidos após a observação de esfregaços de citologia é condicionada pela capacidade do patologista de responder a várias questões (Hall & MacWilliams, 1988):

- 1.) A preparação tem qualidade ou não?
- 2.) Trata-se de uma lesão inflamatória ou não inflamatória?
  - 2.1.) Se é uma lesão inflamatória, quais são as células predominantes, ou se há evidência de um agente etiológico?
  - 2.2.) Se não for inflamatório, parece ser neoplásico ou não neoplásico?
    - 2.2.1.) Se não for neoplásico, que células estão presentes?
    - 2.2.2.) Se for neoplásico, as células são epiteliais, mesenquimatosas, redondas ou indiferenciadas?

O papel do patologista é determinante na qualidade dos resultados. Contudo, este papel é, muitas vezes, ingrato, pois frequentemente não é o próprio a realizar a PAAF, sendo-lhe pedido que emita um diagnóstico sobre uma lesão que não conhece, como referido anteriormente. Os clínicos subestimam, frequentemente, a informação que enviam para os patologistas e, por vezes, nem chegam a preencher os dados que normalmente se encontram ao seu dispor nas fichas de requisição de análise. Esquecem, que o patologista não teve acesso à lesão, não foi ele quem fez o esfregaço, e que a informação disponibilizada é extremamente útil para o diagnóstico final, pois a informação acerca da localização da lesão e do tipo de tecido é extremamente útil para a emissão de um diagnóstico de boa qualidade.

Idealmente, quem deve efectuar a colheita de material para exame citológico deve ser a pessoa que vai observar a lâmina ao microscópio (Meyer, 1996). Contudo, a maior parte do material é colhido nas clínicas, que, por não terem nos seus quadros pessoal especializado na interpretação de citologias, enviam o material para um laboratório da sua confiança. Daí que a interacção entre o clínico e o patologista deva ser estreita, para que as informações partilhadas permitam chegar a um diagnóstico definitivo, e possibilitem a escolha do melhor tratamento possível, seja ele cirúrgico ou médico.

Apesar da informação veiculada pelo médico assistente, que deve incluir as características da lesão, como a dimensão, a consistência, a localização, a presença de dor, a temperatura e a relação com os tecidos vizinhos, o patologista não procedeu à palpação da massa, nem à execução da PAAF. Daí que, o patologista embora deva ser claro na emissão do diagnóstico, deve manter alguma prudência, porque este pode ser mal interpretado pelo clínico. Esta má interpretação pode levá-lo a aconselhar o proprietário a optar por medidas mais brandas ou, pelo contrário, medidas mais drásticas, como uma amputação ou mesmo a eutanásia do animal (Aceña et al., 1997).

O clínico deve conhecer as limitações da PAAF e, sempre que tiver dúvidas quanto ao diagnóstico emitido, deve contactar o patologista. Hoje em dia, com o advento das novas tecnologias, é simples e, por vezes útil, que o clínico tire uma fotografia da lesão e do animal em questão e a envie, via correio electrónico ou em qualquer outro formato, para o laboratório de anatomia patológica juntamente com o material colhido.

A PAAF é uma técnica muito utilizada quando se pretende avaliar a integridade dos linfonodos regionais, no que se refere a possíveis metastizações. A avaliação dos linfonodos regionais para evidência de metástases pode ser realizada por palpação durante o exame físico, por agulha de biopsia ou por exérese cirúrgica, para além da punção aspirativa com agulha fina (Langenbach, McManus, Hendrick, Shofer & Sorenmo, 2001). A presença de metástases nos linfonodos regionais ocorre pela dispersão de células neoplásicas pela via linfática. Langenbach et al. (2001) afirmam que os carcinomas metastizam mais facilmente para os linfonodos regionais que os sarcomas. A PAAF é uma boa técnica, pouco invasiva,

para confirmar a metastização nos linfonodos regionais (Magalhães et al., 2001). A palpação é um método muito falível, porque a hipertrofia pode ser consequência apenas de uma reacção inflamatória (linfonodo reactivo).

Langenbach e seus colaboradores, ao estudarem a aplicação da PAAF em relação à presença de células neoplásicas em linfonodos, obtiveram valores de sensibilidade e especificidade bastante elevados. Assim, nos seus estudos, em 13 de 14 animais, o diagnóstico citológico por PAAF foi positivo para a presença de células neoplásicas, tendo sido posteriormente confirmado por histopatologia, enquanto que, dos 27 animais cujos resultados citológicos foram negativos, a histopatologia confirmou a negatividade. Estes autores, alcançaram valores de sensibilidade e de especificidade de 100% e 96% respectivamente, para o diagnóstico citológico dos linfonodos regionais, considerando mesmo a PAAF um método de detecção de metástases, mais fiável do que a histopatologia. A citologia dos linfonodos em relação a alguns tipos de tumores pode revestir-se de alguma dificuldade. É o caso dos mastocitomas que metastizam por via linfática, porém é possível encontrar mastócitos em linfonodos sãos (Dobson & Scase, 2007). Assim, actualmente considera-se que existem metástases de mastocitoma num linfonodo regional, quando os mastócitos representam pelo menos 3% da população celular observada (Dobson & Scase, 2007).

O diagnóstico citológico dos tumores de células redondas, como os mastocitomas, linfomas, histiocitomas e melanomas, têm uma alta fiabilidade, uma vez que estes tumores esfoliam facilmente, o que resulta num elevado número de células presentes no esfregaço. Por esta razão, o diagnóstico citológico neste tipo de tumores é suficiente, não necessitando, em muitos casos, da confirmação histopatológica (Griffiths, Lumsden & Valli, 1984).

No presente estudo, no que se refere aos casos de mastocitomas o seu diagnóstico citológico foi relativamente simples. Observaram-se inúmeros mastócitos com granulações metacromáticas citoplasmáticas (Anexo 3: figura 3.1), o que permitiu a sua rápida identificação por PAAF havendo poucas falhas no seu diagnóstico (Ghisleni et al., 2006). Contudo, apenas a citologia dos mastocitomas não permite que estes sejam classificados quanto ao seu grau, embora seja possível retirar algumas ilações em relação à diferenciação do tumor (Dobson & Scase, 2007). A maior parte dos mastocitomas de grau I e II conseguem ser controlados com sucesso por meio de cirurgia (Dobson & Scase, 2007).

O único caso no presente estudo com diagnóstico de melanoma maligno, foi um dos que não se registou concordância entre o diagnóstico citológico e o histopatológico. A razão subjacente poderá residir na dificuldade inerente à interpretação da citologia dos melanomas com muitas células sem pigmento. Há autores que afirmam que existe dificuldade no diagnóstico citológico de neoplasias melanocíticas, especialmente as classificadas como amelanóticas (Magalhães et al., 2001).



Só se registaram dois casos de linfoma durante o período de estágio. Este facto, não parece corresponder à realidade da clínica veterinária diária, uma vez que os linfomas são tumores muito frequentes em canídeos (Viadel, Borrás & Morales, 2005).

A literatura refere que parece ser possível extrapolar um prognóstico sobre o comportamento clínico do linfoma em cães, baseado nos dados recolhidos nos linfomas humanos (Carter, Valli & Lumsden, 1986). Parece existir semelhança entre a morfologia e o comportamento dos linfomas não Hodgkin em humanos e os linfomas em canídeos; isto porque os tumores de baixo grau de malignidade tendem a ter menores taxas de mitoses, ao passo que os tumores de elevado grau, tendem a ter uma maior taxa mitótica. Estes autores acreditam que não existe correlação entre a classificação do tipo de células envolvidas no linfoma e a taxa de remissão ou de sobrevivência (Carter et al., 1986).

Williams et al. (2005) efectuaram um estudo onde provaram a utilidade da PAAF no seguimento da remissão de linfomas, em 33 cães com linfadenopatia generalizada periférica, quando comparada com a remissão por palpação. Esta técnica pode dar informações valiosas ao médico veterinário relativamente ao estadio do tumor. Estes autores referem que a principal limitação da punção aspirativa de linfonodos, em casos de linfoma, prende-se com a possibilidade de aspirar células apenas de um centro germinativo. Daí que alguns autores recomendem o redireccionamento da agulha várias vezes, para garantir que a amostra é a mais representativa possível (Williams et al., 2005). Opinião contrária é expressa por Peleteiro et al. (2006), que desaprovam o redireccionamento da agulha dentro da lesão, devido ao risco de danificar vasos e outras estruturas, podendo, desta forma, contaminar a amostra. Para diminuir este risco, sugerem que se efectue a punção da lesão de forma repetida, em detrimento do redireccionamento da agulha.

O clínico não dever abdicar da palpação dos linfonodos regionais, devendo tentar conciliar a informação colhida no exame físico do paciente, com a informação veiculada pelo resultado citológico.

A PAAF não permite alcançar uma subclassificação precisa de todos os linfomas, residindo a sua utilidade no estabelecimento de um diagnóstico rápido (Barroca, Marques & Candeias, 2008). Em Medicina Humana, a PAAF é usada comumente como método de diagnóstico para estudar as linfadenopatias, permitindo avaliar a existência de metástases (Barroca et al., 2008). Em centros médicos com citohematopatologistas, a PAAF é usada em associação com a imunofenotipagem, o que constitui um método de elevada precisão no diagnóstico de linfomas (Barroca et al., 2008).

Os carcinomas, neoplasias do tipo epitelial, foram o tipo de neoplasia mais representativo no presente estudo, tendo sido os carcinomas mamários os mais frequentes.

No geral, os carcinomas foram caracterizados citologicamente pela presença de elevada celularidade, basofilia do citoplasma, anisocariose e nucléolos proeminentes (Henson, 2003). Importa referir que, neste estudo, os resultados não continham dados sobre o grau

de malignidade das massas neoplásicas aspiradas. Assim, apenas se indicava se se tratava de uma lesão neoplásica ou de origem inflamatória.

A glândula mamária pode acolher, no seu tecido, diferentes tipos de lesões, algumas neoplásicas e outras não neoplásicas, como exemplos desta última categoria, temos: a lesão fibroquística, os quistos papilares, a ginecomastia, as alterações associadas à gravidez e ao pós-parto, e ainda os processos inflamatórios como as mastites (Miralles & Buesa, 1988b).

Embora a PAAF não seja uma ferramenta de primeira escolha quando se trata da avaliação de nódulos mamários, continua a ser uma técnica auxiliar de diagnóstico que não deve ser colocada de parte. A citologia aspirativa de uma neoplasia benigna é de difícil interpretação; geralmente os esfregaços obtidos são pobres em células, e contêm elementos típicos da mama normal, como os adipócitos, sangue, e algumas células de revestimento ductal, muitas vezes dispostas em placas (Peleteiro, 1994). A citologia aspirativa de uma neoplasia maligna na qual se tenha obtido um número muito reduzido de células, não só dificulta o diagnóstico correcto pela fraca probabilidade de encontrar formas citológicas anormais, como pode assumir, à partida, a aparência de uma neoplasia benigna (Peleteiro, 1994; Zuccari et al., 2001).

A PAAF está indicada em lesões consideradas benignas pelos exames clínico e radiológico, mas cuja natureza deva ser aprofundada; em lesões de benignidade ou malignidade duvidosas; aquando de secreção mamária extra-lactação; quando há suspeita de malignidade e há necessidade de ter uma indicação pré-cirúrgica para planificação desta, e em casos de carcinomas avançados, com suspeita de metástases, em que a cirurgia não se encontra indicada (Miralles & Buesa, 1988b; Simeonov & Stoikov, 2006).

No presente estudo optou-se pela emissão de um diagnóstico que reflectisse apenas o carácter lesional, isto é, uma lesão neoplásica ou inflamatória, devido à dificuldade em se caracterizar os tumores mamários malignos nas cadelas, no que respeita aos critérios de malignidade.

A avaliação de alterações prostáticas em cães pode ser conseguida por citologia através da PAAF eco-guiada, ou por histopatologia, em que ambas se complementam (Powe, Canfield & Martin, 2004). Para além da rapidez, facilidade de execução e baixos custos da citologia comparativamente à histopatologia, a primeira tem a vantagem de se obter uma amostra de mono-camada de células, com os detalhes celulares bem visíveis, e com a possibilidade de observar mais facilmente possíveis agentes etiológicos (Powe et al., 2004)). Estes autores obtiveram valores de concordância entre os dois tipos de exames na ordem dos 80 % (20 casos em 25). A citologia revelou-se mais sensível para detectar a presença de bactérias, no sangue ou nos tecidos, uma vez que a histopatologia não permite a visualização de agentes infecciosos (Barton, 2005). A reduzida casuística no presente estudo, contando com apenas um caso de lesão prostática, não permite inferir sobre a fiabilidade da citologia,

existindo, apesar de tudo, concordância entre o diagnóstico citológico e histopatológico. Existem algumas dificuldades no diagnóstico da PAAF prostática, devido à pouca celularidade associada a lesões fibrosas da próstata e ao facto de uma inflamação poder mascarar uma hiperplasia prostática benigna (Powe et al., 2004). Por estas razões há a necessidade de efectuar mais estudos que comparem a utilidade da PAAF eco-guiada com outras técnicas, como a massagem prostática.

O fígado é um órgão com características próprias, nomeadamente a nível de irrigação e de friabilidade. Por isso é preciso ter algum cuidado na realização de PAAF hepática. Por ser muito vascularizado, as citologias hepáticas encontram-se contaminadas com sangue, sendo este aspecto particularmente relevante nas técnicas que usam pressão negativa para recolher as amostras (Weiss, Blauvelt & Aird, 2001). Quando os sinais clínicos, o exame físico do paciente e os resultados laboratoriais (bioquímicas sanguíneas e hemograma), sugerem lesão hepática, a citologia encontra-se indicada para confirmação, por constituir um exame pouco invasivo (Roth, 2001), com baixo risco para o paciente, dispensando a sedação ou a anestesia (Wang et al., 2004). Este órgão pode ser puncionado com segurança quando há suspeita de lesões difusas ou hepatomegália (Valli, 1988). A punção hepática está contra-indicada quando há trombocitopenia, em casos de coagulopatia (Valli, 1988) e de hemangiossarcoma (Magalhães et al., 2001), pelo risco de hemorragia.

De entre os tumores dos tecidos moles, os lipomas são dos mais frequentes (Ghisleni et al., 2006). Contudo, no presente estudo, registámos apenas dois casos de lipomas (Anexo 3: figura 3.5 e 3.6). Isto pode ser explicado pelo facto de normalmente, os lipomas apenas serem extraídos se interferirem com a função ou a mobilidade ou tiverem um crescimento muito rápido (Ghisleni et al., 2006).

Ghisleni et al. (2006) compararam a PAAF com a utilização da técnica de punção por capilaridade, isto é, sem recurso à aspiração celular. Não foi observada superioridade de nenhuma técnica, em relação à outra. Este parece ser um campo de interesse para futuros estudos, existindo autores que relatam o interesse da punção por capilaridade relativamente à PAAF, embora poucos sejam aqueles que comparam estas duas técnicas em animais domésticos.

O hemangiopericitoma é um tumor de origem mesenquimatosa, que causa lesões cutâneas; surge geralmente entre os 8 e os 14 anos, sendo as fêmeas mais afectadas. As raças consideradas de maior risco são a Pastor Alemão, a Boxer, a Springer Spaniel, a Cocker Spaniel e os cães de raça indeterminada (Caniatti, Ghisleni, Ceruti, Roccabianca & Scanziani, 2001). Este tipo de tumor desenvolve-se lentamente, normalmente como uma massa lobulada subcutânea, ocorrendo de forma típica nas extremidades, podendo aderir aos tecidos mais profundos (Caniatti et al., 2001; Raskin, 2003b). Após remoção cirúrgica, a recidiva no local é variável, mas a metastização à distância é rara (Caniatti et al., 2001). Julga-se que o hemangiopericitoma se origina nos pericitos que circundam os vasos

sanguíneos, embora a sua histogénese seja ainda incerta (Raskin, 2003b). Citologicamente, o hemangiopericitoma encontra-se inserido no grupo dos tumores de células fusiformes (Caniatti et al., 2001). Esta neoplasia tem uma característica particular que a distingue dos demais tumores de células mesenquimatosas fusiformes, pois esfolia bem, e as amostras têm uma celularidade apreciável (Caniatti et al., 2001), formando, por vezes, aglomerados celulares (Stirtzinger, 1988). Histologicamente observam-se grupos de células fusiformes, organizados em feixes concêntricos em torno de estruturas vasculares capilariformes (Caniatti et al., 2001; Raskin, 2003b); as técnicas de imunohistoquímica não ajudam a distinguir este tipo de tumor de outros tumores de células fusiformes, por falta de marcadores específicos (Caniatti et al., 2001). No presente estudo, o hemangiopericitoma encontrado, foi apresentado por um canídeo de raça indeterminada, fêmea, com 14 anos, com um nódulo em situação peri-digital do 1º dedo do membro anterior direito. O diagnóstico citológico foi inconclusivo devido à amostra não ter qualidade suficiente para a emissão de um resultado fidedigno. Está referido na bibliografia que se trata de uma lesão facilmente aspirável, produzindo amostras de qualidade, o que permite a emissão de relatórios com elevado valor diagnóstico (Viadel et al., 2005). É possível que a falta do punho de aspiração citológica, que permite a obtenção de amostras celulares de melhor qualidade, possa ter tido influência no resultado. A citologia obtida por raspagem no hemangiopericitoma tem bons resultados, embora se perca a arquitectura celular da lesão (Caniatti et al., 2001). Contrariamente à maior parte dos tumores de células fusiformes que não podem ser classificados através de citologia, o hemangiopericitoma apresenta algumas características que permitem a emissão de um diagnóstico (Caniatti et al., 2001).

Ainda dentro das lesões cutâneas, o presente estudo incluiu 2 casos, que no exame histopatológico foram identificados como hemangiomas cavernosos, e que não foi possível emitir um diagnóstico baseado na análise citológica a partir do material enviado. Este aspecto deveu-se ao facto de apenas serem observadas células sanguíneas e alguns corneócitos. Esta situação não é rara, visto serem tumores difíceis de diagnosticar, por as amostras se encontrarem muito contaminadas de sangue, e com poucas células endoteliais, já por si difíceis de diferenciar entre células neoplásicas e células normais (Viadel et al., 2005). O diagnóstico diferencial compreende hematoma e contaminação sanguínea (Viadel et al., 2005).

Neste estudo obteve-se um diagnóstico inconclusivo de hemangiossarcoma (Anexo 3: figura 3.24) no exame citológico. Existe uma forte propensão dos tumores com origem nos vasos sanguíneos para um diagnóstico difícil, nos esfregaços obtidos (Viadel et al., 2005).

Segundo Mills e Griffiths (1984), a exactidão na emissão de um diagnóstico baseado na PAAF depende do tipo de neoplasia e da sua localização, podendo variar entre 63% e os 97%. Em Medicina Humana, o uso da PAAF na detecção de neoplasias apresentava já na

década de 80 valores de 93,4%, o que se justificava pela maior experiência prática em Medicina Humana relativamente à Medicina Veterinária (Mills & Griffiths, 1984).

Não obstante o aumento gradual da fiabilidade desta técnica ao longo dos anos, importa ressaltar que a PAAF continua a ter as suas limitações, e que está muito dependente do tipo de lesão e da sua localização. Mesmo os técnicos mais qualificados podem ter dúvidas e até mesmo emitir um diagnóstico errado, quando são solicitados a analisar um esfregaço que não se encontra nas melhores condições, ou quando as características orientam o diagnóstico de forma errada.

A PAAF é uma técnica com uma elevada aplicabilidade em animais de companhia. Ménard et al. (1986) realizaram um estudo envolvendo 102 animais (83 cães e 19 gatos), e referem que foi possível determinar a malignidade de neoplasias por citologia em 71% e 60% dos casos em cães e gatos, respectivamente, e que conseguiram determinar a origem celular presente nos esfregaços em 72% e 87% dos casos, em cães e gatos, respectivamente.

Ménard et al. (1986) registaram algumas dificuldades no diagnóstico de inflamações crónicas, uma vez que as células encontradas, fibroblastos e células epiteliais, partilhavam muitos dos critérios de malignidade das células neoplásicas. Destaca-se, ainda, a dificuldade referida por alguns autores em definir o tipo celular neoplásico nas áreas de inflamação, sabendo que uma massa tumoral pode conter locais de reacção inflamatória e focos de lesão neoplásica concomitantemente (Magalhães et al., 2001). Assim, estes autores, advertem para o perigo da sobrevalorização de um aspirado inflamatório, correndo-se o risco deste estar associado a um diagnóstico falso positivo de malignidade. A PAAF é, ainda, de limitado valor diagnóstico em tumores mistos, cirrosos ou naqueles que possuem diferenciação celular variável.

A histopatologia é o *gold standard* em detalhar a arquitectura de um processo neoplásico ou não neoplásico, estabelecer as suas relações com tecidos circundantes, bem como na caracterização da diferenciação dos tipos celulares (Magalhães et al., 2001).

O diagnóstico histopatológico é, sem dúvida, fundamental para a correcta apreciação de uma lesão mamária, quer seja efectuado sobre a massa retirada cirurgicamente, quer sobre um fragmento colhido por biopsia cirúrgica (Peleteiro, 1994). Em Medicina Veterinária, o diagnóstico histopatológico é, geralmente, realizado sobre a totalidade do tumor, visto que o tratamento cirúrgico continua a ser praticamente o único recomendado (Peleteiro, 1994). Na maioria dos animais não se justifica a realização de biopsia, excepto para casos particulares em que a cirurgia não está recomendada, como acontece nas recidivas de neoplasias em animais de idade avançada (Peleteiro, 1994). Nesta situação, a biopsia faz-se com o intuito de esclarecer se se trata de uma lesão neoplásica e, ainda, para avaliar o grau de malignidade, de forma a permitir emitir um prognóstico (Peleteiro, 1994). A mastectomia total encontra-se recomendada como sendo o método de escolha para prevenir recidivas, uma

vez que a recorrência das lesões é uma das causas de morte mais frequentes em cadelas com tumores mamários (Misdorp et al., 1999; Stratmann et al., 2008).

A multiplicidade lesional, tão característica dos tumores mamários da cadela, cria dificuldades específicas que importa considerar, de forma a evitar diagnósticos incorrectos. De facto, ao colher-se um fragmento para biopsia, não há garantias de que a zona seleccionada seja a que apresenta malignidade mais elevada, podendo emitir-se um prognóstico mais favorável que o real (Peleteiro, 1994). Por outro lado, mesmo quando se pretende enviar material para exame histopatológico, a partir de uma ou várias neoplasias mamárias retiradas na íntegra, há sempre a possibilidade de não se seleccionar as zonas mais representativas da lesão em curso (Peleteiro, 1994). Desta forma, é fundamental retirar amostras de vários pontos da lesão, procurando igualmente abranger zonas de transição entre o processo lesional e os tecidos aparentemente são; esta larga abrangência pretende não só permitir ao anatomopatologista a apreciação do grau de invasão local e da reacção inflamatória envolvente, mas também possibilitar a avaliação da existência de lesões de displasia mamária, que com frequência acompanham os tumores (Peleteiro, 1994). Estes cuidados na recolha dos fragmentos são particularmente importantes, dado que os tumores da mama da cadela atingem, por vezes, dimensões muito consideráveis, dificultando o seu envio integral para o laboratório. A dimensão dos tumores também pode criar problemas na escolha das áreas a biopsiar. Nos casos de lesões volumosas ou múltiplas, devem ser colhidas diversas amostras (Peleteiro, 1994).

Está referido que a maior parte dos tumores mamários em cadelas são benignos ou mistos, e que se caracterizam por uma complexa mistura de células epiteliais e mioepiteliais, surgindo, ocasionalmente, metaplasia óssea, condróide ou escamosa (Cassali et al., 2007). Contudo, no presente estudo, os carcinomas representaram 84,6% dos nódulos mamários, enquanto que os tumores benignos, representaram apenas 9,7%. Este dado pode ser sustentado devido ao facto de nenhuma das 11 cadelas acompanhadas, ter feito ovário-histerectomia em tempo útil, isto é, entre o período que antecede o primeiro cio e o terceiro cio (Meyer, 1996). Na maioria dos países anglo-saxónicos, grande parte das cadelas é esterilizada em idades jovens, preferencialmente antes do primeiro cio, o que reduz muito o risco de ocorrência de tumor mamário (Chun & Garrett, 2005). Assegurando que a totalidade de um tumor mamário é removida, o prognóstico pós-cirúrgico não depende da cirurgia propriamente dita, mas sim da natureza da lesão (Morris & Dobson, 2001).

A concordância entre o exame citológico e o exame histopatológico em Medicina Veterinária, é diferente da referida em Medicina Humana, quer para as lesões neoplásicas em geral, quer para o caso particular dos tumores mamários (Simeonov & Stoikov, 2006), o que se deve provavelmente ao facto de a colheita por PAAF ser sempre realizada pelo citologista, o que melhora francamente a qualidade do material obtido e, logo, a qualidade do diagnóstico emitido. Os resultados obtidos neste estudo, no que se refere à concordância

entre o resultado obtido no exame citológico e no exame histopatológico, foram de 80,7%. Todavia, se se fizer a distinção entre nódulos com sede na glândula mamária e massas com localização extra-mamária, a concordância é de 92,3% e de 71%, respectivamente.

Valores de concordância de 25% (Allen et al., 1986), 42% (Griffiths et al., 1984 ; Ménard et al., 1986) e 65% (Zuccari et al., 2001) têm sido publicados no que respeita à glândula mamária. Estes fracos resultados têm sido justificados pela dificuldade de aspiração de células exactamente do mesmo local em que foi realizada a biopsia, atendendo à heterogeneidade dos tumores (Griffiths et al., 1984). Cassali et al. (2007) afirmam que a PAAF tem uma boa precisão no diagnóstico quando aplicada aos tumores mamários, tendo obtido valores de correlação entre o exame citológico e o exame histopatológico na ordem dos 67,5%. Porém, quando excluía as amostras que não permitiam a emissão de um diagnóstico, por falta de qualidade, o valor de concordância subiu para 92,9%. Os valores por nós obtidos, são semelhantes aos referidos em Medicina Humana, onde a concordância da PAAF com a histopatologia em tumores mamários situa-se entre os 64,8% e os 74,1% (Cassali et al., 2007).

Magalhães et al. (2001) estudaram 150 canídeos com neoplasias, dos quais, 20 tinham tumores mamários (13,3%). Obtiveram valores de concordância entre a PAAF e a histopatologia na ordem dos 85,3%.

Para alguns autores, a PAAF demonstrou ser um procedimento pouco sensível, pois a sensibilidade exigida para que um teste seja conclusivo deverá situar-se acima de 90% (Zuccari et al., 2001). Contudo, deve ter-se em linha de conta que a PAAF não deve ser utilizada isoladamente, mas como método auxiliar e complementar, de utilização simples e rápida, proporcionando ao clínico adoptar uma conduta rápida e objectiva em relação ao tratamento e prognóstico do seu paciente (Zuccari et al., 2001). Por outro lado, a especificidade obtida (83%) é próxima da considerada adequada (Zuccari et al., 2001).

Griffiths et al. (1984) estudaram 147 tumores cutâneos em cães, e obtiveram uma taxa de 74% de concordância entre a PAAF e a histopatologia. Estes mesmos autores afirmam que, mesmo nos casos em que a citologia não foi concordante, se a descrição tiver suficiente detalhe, pode orientar a excisão cirúrgica. Magalhães et al. (2001) referem uma concordância da PAAF e da citologia esfoliativa na ordem dos 82%, dos casos observados em canídeos e felídeos com tumores cutâneos.

Ghisleni et al. (2006) estudaram 243 tumores cutâneos e subcutâneos em cães e gatos, obtendo uma concordância de diagnóstico de 90%. Referem que a PAAF teve bastante utilidade no diagnóstico de nódulos cutâneos não neoplásicos, inflamatórios e não inflamatórios. Ressalam que, nas massas cutâneas e superficiais, as neoplasias podem ter um componente inflamatório. Estes investigadores obtiveram 21 casos falsos-negativos, em esfregaços onde apenas se observavam células de reacção inflamatória. Afirmam, desta

forma, que não se deve excluir um diagnóstico de neoplasia quando apenas se observam células de reacção inflamatória, que podem mascarar a presença de células neoplásicas.

Neste trabalho, um dos casos em que não houve concordância deveu-se, sobretudo, a uma falha na comunicação de informação inerente ao paciente, entre o médico veterinário assistente e o patologista. A informação veiculada pelo clínico mencionava a punção de uma massa subcutânea de grandes dimensões na zona escápulo-umeral, mas o que na verdade se punccionou, foi o linfonodo pré-escapular. Daí que se tenha emitido um diagnóstico errado de linfoma cutâneo, visto que a população celular observada era constituída maioritariamente por linfócitos.

Eich et al. (2000) obtiveram 91% de concordância do diagnóstico em 32 dos casos de neoplasias da pele e tecido subcutâneo, no entanto não incluíram lesões não neoplásicas.

Em relação ao parênquima hepático, Roth (2001) obteve uma concordância de 80% entre a citologia e a histopatologia, embora o método de obtenção do material não seja mencionado. Contudo, outros autores obtiveram valores de concordância diferentes, em que dos 56 cães em estudo, apenas 17 (30,3%) obtiveram um diagnóstico concordante (Wang et al., 2004). No diagnóstico de neoplasias, este autor obteve concordância em 12 dos 14 casos que apresentavam neoplasias hepáticas, o que sugere que o exame citológico do fígado é um bom teste de diagnóstico. Contudo, as lesões cavitárias do fígado, como os hemangiossarcomas ou as lesões quísticas do tracto biliar, podem não fornecer diagnósticos conclusivos visto serem lesões que libertam poucas células. Este autor sugere, ainda, que o resultado da citologia deve ser acompanhado por um leucograma de sangue periférico, pois o aumento relativo dos leucócitos pode reflectir contaminação sanguínea num paciente com leucocitose, em vez de infiltração leucocitária do fígado. As lesões hepáticas difusas, são mais facilmente diagnosticadas na citologia do que as lesões com distribuição focal (Roth, 2001). Contudo, a PAAF hepática tem limitações uma vez que não permite diagnosticar a lesão primária do fígado, assim como não fornece informações sobre a arquitectura deste órgão (Wang et al., 2004).

Weiss et al. (2001), ao efectuarem a avaliação de aspirados celulares inflamatórios hepáticos, concluíram que a citologia apresenta uma sensibilidade de 93%, e uma especificidade de 95% no diagnóstico de lesões inflamatórias hepáticas. Estes autores afirmam que a citologia aspirativa do fígado é fiável para a detecção de hepatite crónica activa e de hepatite supurativa, o mesmo não acontecendo para a detecção de hepatite linfocítica.

No presente estudo, houve apenas um caso de lesão hepática em que se procedeu à PAAF e recolha de material para histopatologia por exérese cirúrgica. Embora se tratasse de uma lesão focal no bordo de um dos lobos hepáticos, não se tratava de uma lesão neoplásica, mas sim de uma involução nodular adiposa. Observou-se concordância entre a análise citológica e histopatológica. Devido à amostra ser muito reduzida neste estudo, não é



possível retirar conclusões, embora corrobore a aplicabilidade e o interesse da citologia quando acompanhada da histopatologia.

A PAAF das neoplasias mesenquimatosas apresenta um baixo valor diagnóstico (Eich et al., 2000), devido aos esfregaços obtidos serem geralmente pobres em material. Eich et al. (2000), efectuaram a PAAF intra-cirurgicamente, obtiveram resultados na ordem dos 83% de concordância; no que respeita ao diagnóstico de neoplasia, a exactidão no diagnóstico foi de 87%, com 89% de sensibilidade e 100% de especificidade.

A ocorrência de resultados falso-negativos tem, como principal causa, o erro técnico na execução da punção (Reis et al., 1998). A experiência do médico que realiza a PAAF torna menos provável a ocorrência de erro técnico na punção e, consequentemente, de resultados falsos-negativos. Os resultados falso-positivos, no entanto, estão relacionados fundamentalmente com erros de análise do material, pelo anatomopatologista. A especificidade depende, especialmente, da ocorrência de resultados falso-positivos, os quais não são resultantes de erro técnico na obtenção do material para citologia, mas sim da interpretação pelo anatomopatologista (Reis et al., 1998).

A clínica médico-veterinária, seja ela de animais de companhia ou de animais de produção, tem como objectivo primordial prestar serviços de saúde aos seus pacientes e garantir o bem-estar animal. Cabe, então, ao médico veterinário ser o garante de um serviço competente, empregando todos os meios que tem ao seu dispor, de forma a permitir chegar ao diagnóstico definitivo.

Ao longo das duas últimas décadas, a PAAF tem provado ser um bom meio de colheita de material para exame citológico. Não obstante, parece ser evidente a necessidade de se alargar o leque de estudos futuros, experimentando novas técnicas, como seja a punção sem aspiração ou a utilização da punção eco-guiada num maior número de casos, salientando-se a necessidade da estreita colaboração entre os clínicos e os citopatologistas.

## 7. CONCLUSÃO

O principal objectivo deste Estágio Curricular prendia-se com a consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária, bem como com o estabelecimento de uma ligação entre a teoria e a sua aplicação prática na clínica de animais de companhia, uma das áreas específicas das Ciências Veterinárias. Do estagiário esperava-se que, ao longo do estágio curricular, atingisse patamares de conhecimento sucessivamente superiores, assim como capacidades de compreensão e realização de tarefas de complexidade crescente. Como pano de fundo, estiveram sempre presentes as responsabilidades éticas e sociais, que são competência do Médico Veterinário.

O meu gosto particular pelas áreas da clínica dos animais de companhia e da anatomia patológica, permitiu-me optar por um tema de dissertação que me possibilitasse o acompanhamento do animal, desde a clínica veterinária, até ao laboratório de anatomia patológica. Na AZEVET desenvolvi o meu estágio curricular, onde me foi dada a possibilidade de seguir os casos clínicos apresentados ao longo deste trabalho. No Laboratório de Anatomia Patológica da FMV segui todos os casos estudados.

O exame citológico não é uma ferramenta recente, embora no campo das Ciências Veterinárias os estudos sobre a sua aplicabilidade sejam ainda limitados. Ao longo das últimas duas décadas assistiu-se a um aumento na sua aplicação e da constatação da sua fiabilidade.

O exame citológico baseia-se em técnicas de colheita de material simples, rápidas, pouco onerosas e com riscos reduzidos para o paciente e para o operador. Como em relação a qualquer meio de diagnóstico, a correcta colheita de material, assim como a informação disponibilizada pelo clínico, são fundamentais para aumentar a fidedignidade do resultado do exame citológico. O seu grau de fiabilidade é elevado, tendo-se verificado, no presente estudo, uma concordância entre a citologia e a histopatologia nos tumores mamários, na ordem dos 92,3%, um valor acima do encontrado na literatura. Os restantes tumores, de variadíssimos tipos, obtiveram uma concordância de 71%. Quando se aprecia estes dados no seu conjunto, constata-se que a fiabilidade geral da citologia, no presente estudo, situou-se nos 80,7%. Pelo exposto, realçamos o interesse da citologia como exame complementar de diagnóstico de primeira escolha. Contudo, deve ressaltar-se que o exame citológico não substitui, por si só, o exame histopatológico, embora providencie resultados mais rápidos. A histopatologia continua a ser a técnica padrão para o diagnóstico definitivo de massas de etiologia desconhecida. Estas são técnicas que não se excluem, mas antes complementam-se, sendo a citologia um meio de diagnóstico extremamente útil, quer se trate de uma massa com possível interesse cirúrgico, ou, em último caso, como meio de diagnóstico de uma lesão que precede a eutanásia de um paciente terminal.

Esta dissertação pretende contribuir para a divulgação do exame citológico, resultando do tratamento dos dados obtidos, e da investigação de informação pertinente. Pretendo que

este seja um contributo valioso por si só, e, que, de alguma forma, constitua um ponto de partida para novos estudos e futuros trabalhos de investigação na área.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Aceña M.C., Gascón M. & Palácio J. (1997). Principios generales y utilidad de la citología en clínica veterinária. *Pequeños Animales – Revista Técnica Veterinaria*, 9, 4-18.
- Alleman A.R. & Bain P.J. (2000). Diagnóstico de neoplasia: os critérios citológicos de malignidade. *Veterinary Medicine*, 2 (10), 26-41.
- Allen S.W., Prasse K.W. & Mahaffey E.A. (1986). Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 23, 649-655.
- Barroca H., Marques C. & Candeias J. (2008). Fine needle aspiration cytology diagnosis, flow cytometry immunophenotyping and histology in clinically suspected lymphoproliferative disorder. *Acta-Citologica*, 52 (2), 124-132.
- Barton L. (2005). Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Cancer* (6<sup>th</sup> edition) (pp. 452-454). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Cassali G.D., Gobbi H., Malm C. & Schmitt F.C. (2007). Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. *Cytopathology*, 18, 191-196.
- Caniatti M., Ghisleni G., Ceruti R., Roccabianca P. & Scanziani E. (2001). Cytological features of canine haemangiopericytoma in fine needle aspiration biopsy. *Veterinary Record*, 149, 242-244.
- Carter R.F., Valli V.E.O. & Lumsden J.H. (1986). The cytology, histology and prevalence of cell types in canine lymphoma classified according to the National Cancer Institute Working Formulation. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50, 154-164.
- Chun R. & Garrett L. (2005). Urogenital and mammary gland tumors. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Cancer* (6<sup>th</sup> edition) (pp. 788-789). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Christopher M.M. & Hotz C.S. (2004). Cytologic diagnosis: expression of probability by clinical pathologists. *Veterinary Clinical Pathology*, 33 (2), 84-95.
- De Lorenzi D., Bonfanti U., Masserdotti C. & Tranquillo M. (2005). Fine-needle biopsy of external ear canal masses in the cat : cytologic results and histologic correlations in 27 cases. *Veterinary Clinical Pathology*, 34 (2), 100-105.
- Dobson J.M. & Scase T.J. (2007). Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 48, 424-431.
- Eich C.S., Whitehair J.G., Moroff S.D. & Heeb L.A. (2000). The accuracy of intraoperative cytopathological diagnosis compared with conventional histopathological diagnosis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36, 16-8.
- Ghisleni G., Roccabianca P., Ceruti R., Stefanello D., Bertazzolo W. & Caniatti M. (2006). Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 35 (1), 24-30.
- Griffiths G.L., Lumsden J.H. & Valli V.E.O. (1984). Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. *Veterinary Clinical Pathology*, 13 (1), 13-17.

- Hall R.L. & MacWilliams P.S.. (1988). The cytologic examination of cutaneous and subcutaneous masses. In S.P. Arnoczky, P.R. Fox & L.P. Tilley (Eds.), *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal) – diagnostic cytology, vol III, (2)*, (pp. 94-108). Philadelphia: Grune & Stratton, Inc.
- Henson K.L. (2003). Sistema reprodutor. In R.E. Raskin & D.J. Meyer, *Atlas de citologia de case e gatos*. (pp. 233-243). São Paulo: Editora Roca Ltda.
- Langenbach A., McManus P., Hendrick M.J, Shofer F.S. & Sorenmo K.U. (2001). Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 218 (9), 1424-1428.
- Magalhães A.M., Ramadinha R.R., Barros C.S.L. & Peixoto P.V. (2001). Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21 (1), 23-32.
- Masserdotti C. (2006). Architectural patterns in cytology: correlation with histology. *Veterinary Clinical Pathology*, 35 (4), 388-396.
- Ménard M., Fontaine M. & Morin M. (1986). Fine needle aspiration biopsy of malignant tumors in dogs and cats: a report of 102 cases. *Canadian Veterinary Journal*, 27 (12), 504-510.
- Meyer D.J. (1996). Diagnostic Cytology in clinical oncology. In S.J. Withrow & E.G. MacEwen (Eds), *Small animal clinical oncology*, (2<sup>nd</sup> Edition). Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company.
- Meyer D.J. (2003). Obtenção e manuseio das amostras para exame citológico. In R.E. Raskin & D.J. Meyer, *Atlas de citologia de case e gatos*. (pp. 1-14). São Paulo: Editora Roca Ltda.
- Mills J.N. & Griffiths G.L. (1984). The accuracy of clinical diagnoses by fine-needle aspiration cytology. *Australian Veterinary Journal*, 61 (8), 269-271.
- Miralles T.G. & Buesa J.M. (1988a). Introduccion. In T.G. Miralles & J.M. Buesa, *Puncion-Aspiracion con aguja fina – indicaciones, diagnóstico y correlación clínico-patológica*, (pp. 1-6). Mallorca: Salvat Editores S.A..
- Miralles T.G. & Buesa J.M. (1988b). Mama. In T.G. Miralles & J.M. Buesa, *Puncion-Aspiracion con aguja fina – indicaciones, diagnóstico y correlación clínico-patológica*, (pp. 47-64). Mallorca: Salvat Editores S.A..
- Misdorp W., Else R. W., Hellmén E. & Lipscomb, T.P. (1999). Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. World Health Organisation international histological classifications of tumours of domestic animals. 2nd series, 7, 58.
- Morris J. & Dobson J. (2001). Diagnosis and staging. In J. Morris & J. Dobson, *Small Animal Oncology*, (pp. 15-17). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Peleteiro M.C. (1994). Tumores mamários na cadela e na gata. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 89 (509), 4-29.
- Peleteiro M.C., Correia J.J., Carvalho T., Pissarra H. & Fernandes I. (2006). Diagnóstico citológico em medicina veterinária. *VI Curso de Citologia para Clínicos Veterinários, FMV-UTL*, Lisboa.

- Pires M.A., Travassos F.S. & Gärtner F. (2004). Lesão irreversível ou morte celular. In M.A. Pires, F.S. Travassos & F. Gärtner, *Atlas de Patologia Veterinária – Biopatologia*, (pp. 65-77). Lousã: Lidel – edições técnicas lda.
- Powe J.R., Canfield P.J. & Martin P.A. (2004). Evaluation of the cytologic diagnosis of canine prostatic disorders. *Veterinary Clinical Pathology*, 33 (3), 150-154.
- Raskin R.E. (2003a). Classificação geral das alterações citológicas. In R.E. Raskin & D.J. Meyer, *Atlas de citologia de case e gatos*. (pp. 15-27). São Paulo: Editora Roca Ltda.
- Raskin R.E. (2003b). Pele e tecido subcutâneo. In R.E. Raskin & D.J. Meyer, *Atlas de citologia de case e gatos*. (pp. 59-61). São Paulo: Editora Roca Ltda.
- Reis F.J.C., Andrade J.M., Velludo M.A.S.L., Oliveira S.A., Feitosa R.B., Marana H.R.C & Bighetti S. (1998). Punção biópsia aspirativa com agulha fina no diagnóstico diferencial de patologias da mama. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 20 (4), 209-213.
- Roth L. (2001). Comparison of liver cytology and biopsy diagnoses in dogs and cats: 56 cases. *Veterinary Clinical Pathology*, 30 (1), 35-38.
- Simeonov R. & Stoikov D. (2006). Study on the correlation between the cytological and histological tests in the diagnostics of canine spontaneous mammary neoplasms. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 9 (3), 211-219.
- Simeonov R. & Simeonova G. (2007). Nuclear cytomorphometry in feline mammary gland epithelial tumours. *The Veterinary Journal*, doi:10.1016/j.tvjl.2007.09.003.
- Stratmann N., Failing K., Richter A., Wehrend A. (2008). Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Veterinary Surgery*, 37, 82-86.
- Stirtzinger T. (1988). The cytologic diagnosis of mesenchymal tumors. In S.P. Arnoczky, P.R. Fox & L.P. Tilley, *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal) – diagnostic cytology, vol III, (2)*, (pp. 157-166). Philadelphia: Grune & Stratton, Inc.
- Thompson E.J., Stirtzinger T., Lumsden J.H. & Little P.B. (1980). Fine needle aspiration cytology in the diagnosis of canine thyroid carcinoma. *The Canadian Veterinary Journal*, 21, 186-188.
- Tyler R.D. Cowell R.L., Baldwin C.J. & Morton R.J. (1999). Introduction. In R.L. Cowell, R.D. Tyler, J.H. Meinkoth (Eds), *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. (pp. 1-19). St. Louis: Mosby, Inc.
- Valli V.E.O. (1988). Techniques in veterinary cytopathology. In S.P. Arnoczky, P.R. Fox & L.P. Tilley, *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal) – diagnostic cytology, vol III, (2)*, (pp. 85-93). Philadelphia Grune & Stratton, Inc.
- Viadel L., Borràs D. & Morales M.J. (2005). Tumores cutâneos y subcutâneos. In L. Viadel, D. Borràs & M.J. Morales, *Atlas clínico de citologia de los tumores del perro y el gato*, (pp. 39). Barcelona: Esmonpharma.
- Wang K.Y., Panciera D.L., Al-Rukibat R.K. & Radi Z.A. (2004). Accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration of the liver and cytologic findings in dogs and cats: 97 cases (1999-2000). *Journal of American Veterinary Medical Association*, 224 (1), 75-78.

- Weiss D.J., Blauvelt M. & Aird B. (2001). Cytologic evaluation of inflammation in canine liver aspirates. *Veterinary Clinical Pathology*, 30 (4), 193-196.
- Williams L.E., Broussard M.T., Johnson J.L. & Neel J. (2005). Comparison of results of clinicians' assessments, cytologic examination of fine-needle lymph node aspirates, and flow cytometry for determination of remission status of lymphoma in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 226 (4), 562-566.
- Zuccari D.A.P.C., Santana A.E. & Rocha N.E. (2001). Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38 (1) 38-41.

## ANEXO 1: Tabelas de Resultados

Tabela 1.1 - Quadro resumo relativo às lesões extra-mamárias.

Número	Nome	Raça	Idade	Sexo	Lesão	Citologia	Histopatologia	Concordância	Dimensões
1	"Brisa"	Cão-de-Água	9 anos	Fêmea	Nódulo grande axila esquerda	Neoplasia mesenquimatosa maligna, provavelmente fibrossarcoma	Hemangiossarcoma	+	1 cm
2	"Brisa"	Cão-de-Água	9 anos	Fêmea	Nódulo pequeno axila esquerda	Quisto folicular	Quisto cutâneo de origem infundibular	+	1 cm
3	"Brisa"	Cão-de-Água	9 anos	Fêmea	Nódulo virilha esquerda	Inconclusivo	Hemangiossarcoma bem diferenciado	-	0,5 cm
4	"Missy"	Labrador	6 anos	Fêmea	Nódulo cutâneo	Neoplasia carcinomatosa muito indiferenciada com origem provável nas glândulas sebáceas	Carcinoma de glândulas apócrinas de tipo ductal, que terá metastizado para os linfonodos próximos	+	2 cm
5	"Akira"	Rottweiler	6 anos	Fêmea	Linfadenopatia generalizada	Linfoma maligno de tipo centroblástico de elevado grau de malignidade. Baixo índice mitótico	Linfoma maligno difuso de alto grau de malignidade	+	5 cm
6	"Nina"	Husky Siberiano	8 anos	Fêmea	Nódulo cutâneo	Lipoma	Lipoma	+	2 cm
7	"Nina"	Husky Siberiano	8 anos	Fêmea	Nódulo cutâneo	A lesão deverá corresponder a um lipoma	Processo inflamatório purulento, com tecido de granulação	-	3 cm
8	"Dolly"	Caniche	12 anos	Fêmea	Massa vulvar pediculada	É possível que esteja em curso uma lesão benigna de tecido mesenquimatosa ou de origem epitelial com um eixo conjuntivo	Pólipo	+	5 cm
9	"Óscar"	Indeterminada	9 anos	Macho	Massa na região escapulo-umeral	Linfoma cutâneo de alto grau	Lesões hepáticas assumem especial gravidade condicionando insuficiência funcional	-	8 cm
10	"Marquês"	X Perdigueiro	6 anos	Macho	Nódulo Axilar	Linfoma	Linfoma	+	2 cm
11	"Marquês"	X Perdigueiro	6 anos	Macho	Nódulo Lombar	Linfoma	Linfoma	+	8 cm
12	"Marquês"	X Perdigueiro	6 anos	Macho	Nódulo Forro	Linfoma	Linfoma	+	4 cm
13	"Marquês"	X Perdigueiro	6 anos	Macho	Nódulo peri-digital	Calcinose	Calcinose circunscrita	+	3,5 cm
14	"Marquês"	X Perdigueiro	6 anos	Macho	Massa lombo-sagrada	Linfoma	Linfoma	+	10 cm
15	"Garrucha"	Labrador	7 anos	Fêmea	Nódulo costal	Mastocitoma	Mastocitoma de grau I	+	3 cm
16	"Kiko"	Schnauzer	9 anos	Macho	Massa na almofadinha plantar	Lesão inflamatória granulomatosa de evolução arrastada	Melanoma maligno, eventualmente de origem subungueal	-	2 cm
17	"Barnabé"	Indeterminada	9 anos	Macho	Bexiga	Carcinoma de células de transição	Carcinoma do epitélio de transição vesical	+	2,5 cm
18	"Barnabé"	Indeterminada	9 anos	Macho	Fígado	Colestase e degenerescência vacuolar discreta	Involução nodular adiposa hepática	+	3 cm
19	"Totó"	Indeterminada	14 anos	Fêmea	Massa Dedo I do membro posterior direito	Diagnóstico inconclusivo	Hemangiopericitoma	-	3,5 cm
20	"Fredy"	Indeterminada	12 anos	Macho	Obstrução Intestinal	Processo inflamatório, de carácter purulento ou piogranulomatoso	Carcinoma indiferenciado do intestino delgado	-	2 cm
21	"Dick"	X Pastor Alemão	9 anos	Macho	Nódulo facial	Lesão neoplásica com origem no epitélio de revestimento ou anexos da pele, sendo esta hipótese a mais provável.	Carcinoma das glândulas sebáceas	+	10 cm
22	"Dick"	X Pastor Alemão	9 anos	Macho	Nódulo na região costal esquerda	Não é possível emitir um diagnóstico a partir do material enviado	Hemangioma cavernoso	-	2 cm
23	"Dick"	X Pastor Alemão	9 anos	Macho	Nódulo na região costal esquerda	Não é possível emitir um diagnóstico a partir do material enviado	Hemangioma cavernoso	-	3 cm
24	"Dick"	X Pastor Alemão	9 anos	Macho	Nódulo abdominal	Lipoma	Lipoma	+	2,5 cm



**Tabela 1.1 (Continuação)** - Quadro resumo relativo às lesões extra-mamárias.

25	"Diva-Zara"	Dobermann	5 anos	Fêmea	Massa vulvar	Mastocitoma, não sendo possível indicar o grau	Mastocitoma grau II	+	4 cm
26	"Pastor"	Indeterminada	14 anos	Macho	Próstata	Possível lesão neoplásica da próstata, embora a sua origem possa estar relacionada com a bexiga	Carcinoma prostático moderadamente diferenciado (moderadamente infiltrativo)	+	8 cm
27	"Óscar"	Boxer	7 anos	Macho	Massa no membro posterior direito (anexa ao 4º dedo)	Mastocitoma, moderadamente diferenciado, de grau II	Mastocitoma cutâneo de grau II	+	5cm x 3cm
28	"Óscar"	Boxer	7 anos	Macho	Massa no membro posterior esquerdo (anexa ao 5º dedo)	Quisto Folicular	Quisto epidérmico	+	2cm
29	"Óscar"	Boxer	7 anos	Macho	Nódulos disseminados pelo pulmão	Lesão sarcomatosa de origem indeterminada, podendo corresponder a metástase ou tumor primitivo do pulmão	Metástases de hemangiossarcoma (tumor primitivo no miocárdio)	+	entre 0,5cm e 4cm
30	"Lord"	Pastor Alemão	7 anos	Macho	Massa lúmen rectal	Lesão carcinomatosa cuja origem parece estar relacionada com as glândulas peri-anais	Pólipo rectal	-	1,2cm
31	"Emo"	Boxer	9 anos	Macho	Massa intra-abdominal	Deverá estar em curso neoplasia sarcomatosa	Sarcoma histiocitário	+	4 cm

**Tabela 2. 2 - Quadro resumo relativo às lesões mamárias.**

Número	Nome	Raça	Idade	Sexo	Lesão	Citologia	Histopatologia	Concordância	Dimensões
1	Ritoca	Indeterminada	7 anos	Fêmea	Nódulo mamário E4	Neoplasia mamária	Adenoma mamário simples túbulo-papilífero bem delimitado	+	2 cm
2	Betsy	Caniche	10 anos	Fêmea	Nódulo mamário D2	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tipo sólido, grau II de malignidade	+	3 cm
3	Betsy	Caniche	10 anos	Fêmea	Nódulo mamário D3	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tipo túbulo-papilífero grau II de malignidade	+	2 cm
4	Betsy	Caniche	10 anos	Fêmea	Nódulo mamário D5	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tubular, grau I malignidade com zona condróide (tumor misto)	+	2 cm
5	Cocas	Indeterminada	7 anos	Fêmea	Nódulo mamário E4	Carcinoma mamário complexo de baixa malignidade	Adenoma mamário complexo tubular	+	3 cm
6	Lady	Boxer	6 anos	Fêmea	Nódulo mamário D3	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tubular de grau I	+	1cm
7	Nina	Husky Siberiano	8 anos	Fêmea	Nódulo mamário E3	Neoplasia mamária com extensas zonas de necrose	Carcinoma mamário simples tubular grau II	+	7cm
8	Nina	Husky Siberiano	8 anos	Fêmea	Nódulo mamário E4	Neoplasia mamária associado a inflamação purulenta	Carcinoma mamário complexo de tipo sólido de grau II	+	8cm
9	Laika	Boxer	9 anos	Fêmea	Nódulo Mamário D4	Carcinoma da mama associado a processo inflamatório	Carcinoma mamário complexo túbulo-papilífero de grau II	+	1 cm
10	Diana	Cocker	12 anos	Fêmea	Nódulo mamário D3	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário simples tubular de grau I	+	3 cm
11	Diana	Cocker	12 anos	Fêmea	Nódulo mamário D4	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tubular de grau I	+	2 cm
12	Diana	Cocker	12 anos	Fêmea	Nódulo mamário E3	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário simples tubular de grau I	+	3 cm
13	Diana	Cocker	12 anos	Fêmea	Nódulo mamário E4	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário simples tubular de grau I	+	2cm
14	Diana	Cocker	12 anos	Fêmea	Nódulo mamário E5	Neoplasia mamária	Adenoma mamário complexo tubular	+	5cm
15	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário E1	Neoplasia mamária (provavelmente de malignidade acentuada)	Carcinoma mamário simples tubular de grau II	+	2cm
16	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário E2	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo túbulo-papilífero de grau I	+	1cm
17	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário E3	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário simples tubular de grau I	+	1cm
18	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário E4	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário simples túbulo-papilífero de grau I	+	10cm
19	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário (ulcerado) D4	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo tubular de grau II	+	3cm
20	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo mamário D5	Neoplasia mamária (provavelmente de malignidade acentuada)	Carcinoma mamário simples tubular sólido de grau II	+	8cm
21	Laika	Indeterminada	9 anos	Fêmea	Nódulo mamário E3	Não é possível emitir um diagnóstico (possível seroma)	Quisto mamário	-	7,5 cm
22	Nina	Indeterminada	15 anos	Fêmea	Nódulo Mamário D4	Neoplasia mamária	Carcinoma mamário complexo de tipo tubular de grau II	+	4cm
23	Tikinha	Caniche	14 anos	Fêmea	1 – Massa na região axilar direita	Neoplasia mamária	Carcinoma complexo da mama, com metaplasia cartilaginosa	+	3 cm
24	Tikinha	Caniche	14 anos	Fêmea	2 – Massa na região axilar direita	Não é possível emitir um diagnóstico	Carcinoma complexo da mama, com metaplasia cartilaginosa	-	2 cm
25	Tikinha	Caniche	14 anos	Fêmea	Nódulo mamário D4	Neoplasia mamária, não sendo possível indicar o grau de malignidade	Carcinoma complexo da mama	+	1,5 cm
26	Tikinha	Caniche	14 anos	Fêmea	Nódulo mamário E5	Neoplasia mamária, não sendo possível indicar o grau de malignidade	Carcinoma papilífero simples	+	2 cm

## ANEXO 2: Técnica de Punção Aspirativa com Agulha Fina



**Figura 2.1** – Material necessário para execução da PAAF. (Original)



**Figura 2.2** – Tricotomia (a). (Original)



**Figura 2.3** – Tricotomia (b). (Original)



**Figura 2.4** – Medição da lesão com um cutímetro. (Original)



**Figura 2.5** – Desinfecção com álcool. (Original)



**Figura 2.6** – Lavagem com solução iodada. (Original)



**Figura 2.7** – Desinfecção com solução iodada cutânea. (Original)



**Figura 2.8** – Punção de massa cutânea (a). (Original)



**Figura 2.9** – Punção de massa cutânea (b). (Original)



**Figura 2.10** – Punção de massa cutânea (c). (Original)



**Figura 2.11** – Punção de massa cutânea (d). (Original)



**Figura 2.12** – Punção de massa cutânea (e). (Original)



**Figura 2.13** – Deposição do material colhido numa lâmina (a). (Original)



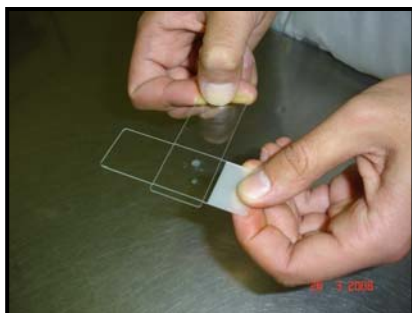
**Figura 2.14** – Deposição do material colhido numa lâmina (b). (Original)



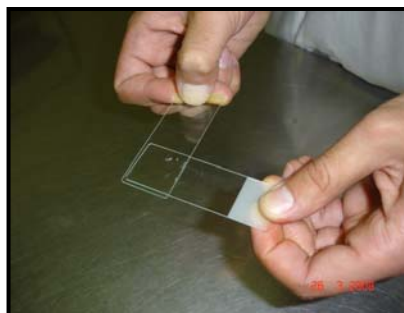
**Figura 2.15** – Execução de um esfregaço segurando as lâminas pelos dois topos em simultâneo (a). (Original)



**Figura 2.16** – Execução de um esfregaço segurando as lâminas pelos dois topos em simultâneo (b). (Original)



**Figura 2.17** – Execução de um esfregaço segurando as lâminas num único topo (a). (Original)



**Figura 2.18** – Execução de um esfregaço segurando as lâminas num único topo (b). (Original)



**Figura 2.19** – Identificação dos esfregaços. (Original)



**Figura 2.20** – Identificação do porta-lâminas. (Original)



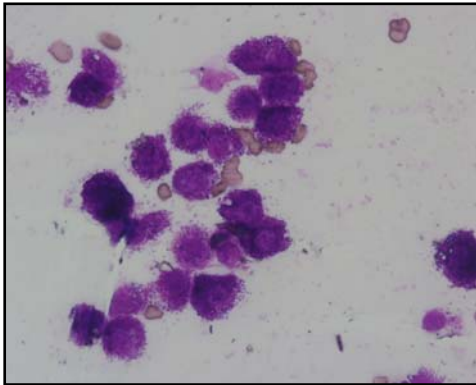
**Figura 2.21** – Exemplo de dois esfregaços. (Original)



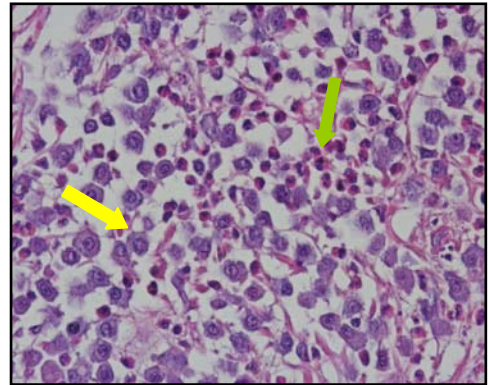
**Figura 2.22** – Fichas de requisição de citologia e histopatologia. (Original)



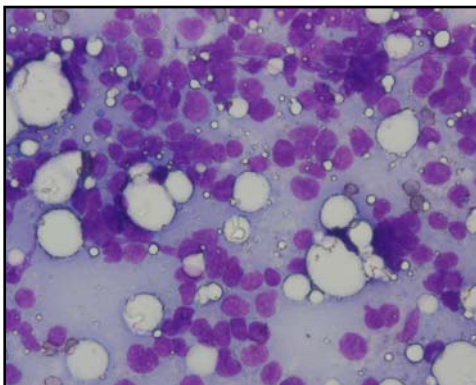
### ANEXO 3: Imagens Microscópicas



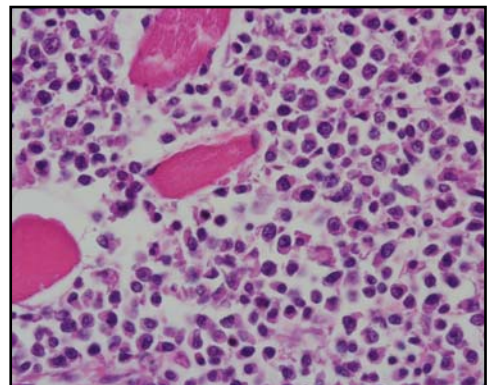
**Figura 3.1** – Citologia. Mastocitoma. Giemsa. X400. (Original)



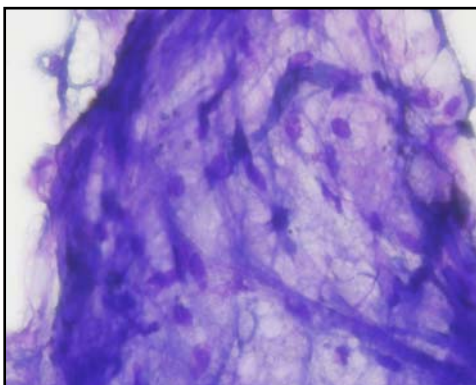
**Figura 3.2** – Histopatologia. Mastocitoma do caso anterior. Mastócitos (seta amarela) e eosinófilos (seta verde). Nódulo cutâneo. H&E, x400. (Original)



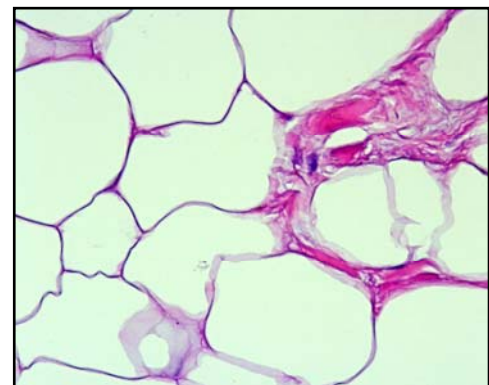
**Figura 3.3** – Citologia. Linfoma. Giemsa, X400. (Original)



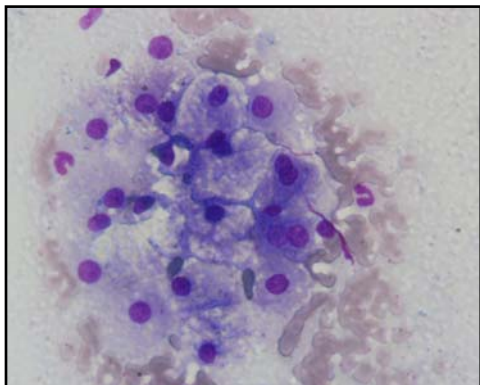
**Figura 3.4** – Histopatologia. Linfoma do caso anterior. Nódulo cutâneo. H&E, x400. (Original)



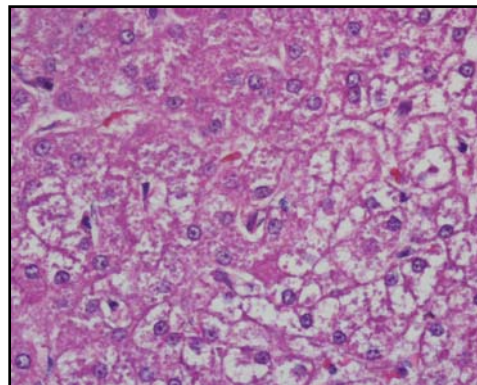
**Figura 3.5** – Citologia. Lipoma. Adipócitos. Giemsa, X400. (Original)



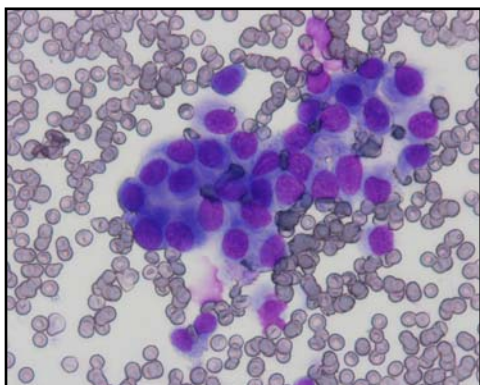
**Figura 3.6** – Histopatologia. Lipoma do caso anterior. Adipócitos. H&E, X400. (Original)



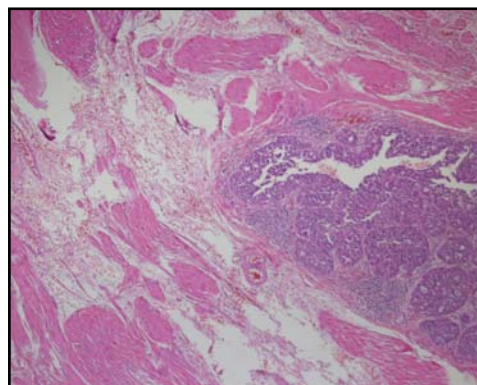
**Figura 3.7** – Citologia. Fígado. Hepatócitos. Giemsa, X400. (Original)



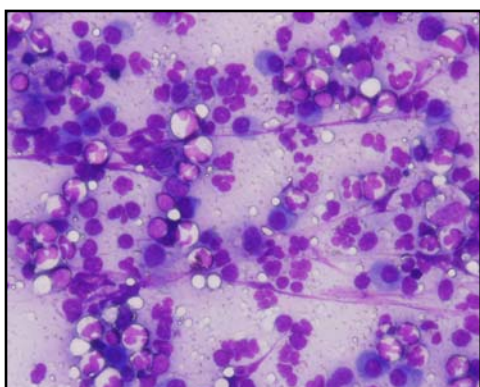
**Figura 3.8** – Histopatologia. Fígado. Involução nodular adiposa do caso anterior. Hepatócitos. H&E, X400. (Original)



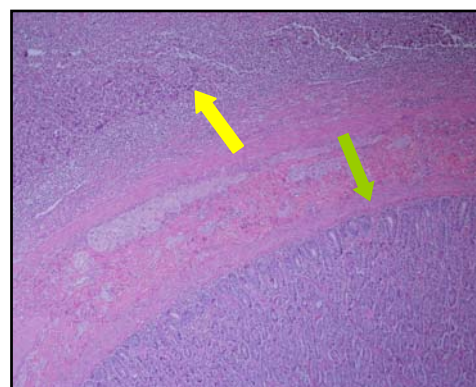
**Figura 3.9** – Citologia. Bexiga. Células epiteliais. Giemsa, X400. (Original)



**Figura 3.10** – Histopatologia. Bexiga. Carcinoma de células de transição do caso anterior. H&E, X400. (Original)

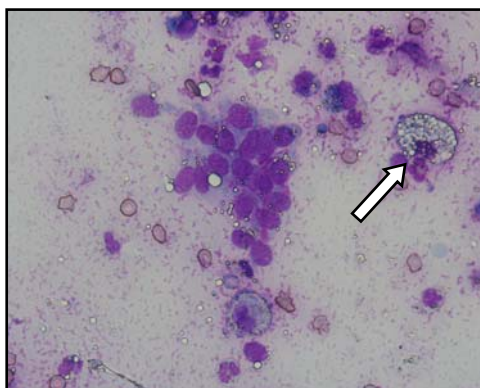


**Figura 3.11** – Citologia. Intestino. Reacção piogranulomatosa cuja presença camuflou as células neoplásicas. Giemsa, X400. (Original)

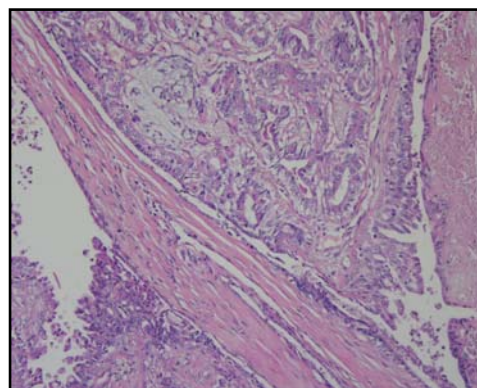


**Figura 3.12** – Histopatologia. Intestino Delgado do caso anterior. Carcinoma intestinal (seta amarela). Mucosa norma (seta verde). H&E, X40. (Original)

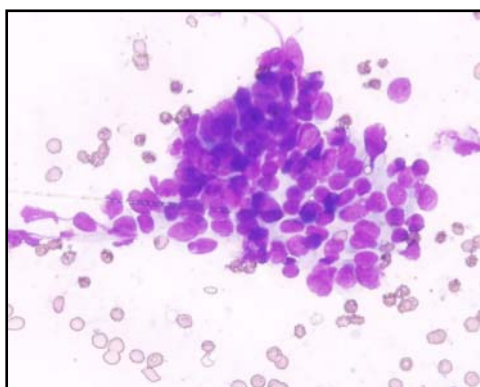




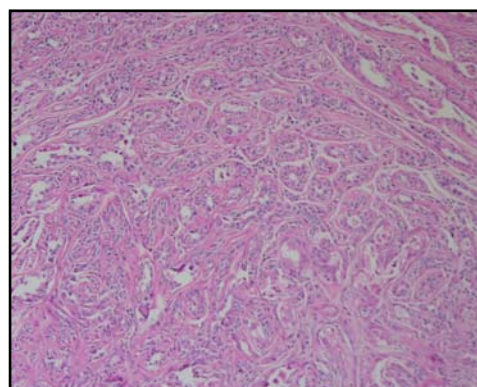
**Figura 3.13.** – Citologia. Glândula mamária. Carcinoma mamário associado a processo inflamatório. Macrófago espumoso (seta). Giemsa, X400. (Original)



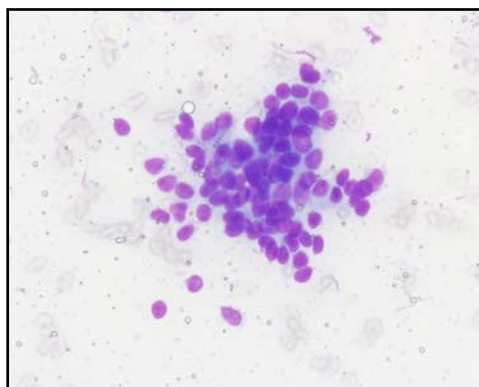
**Figura 3.14** – Histopatologia. Glândula mamária. Carcinoma mamário complexo do caso anterior. H&E, X100. (Original)



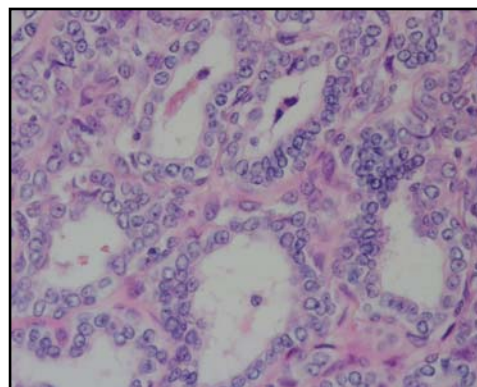
**Figura 3.15** – Citologia. Glândula mamária. Neoplasia de células carcinomatosas. Giemsa, X400. (Original)



**Figura 3.16** – Histopatologia. Glândula mamária. Adenoma mamário tubular. H&E, X100. (Original)

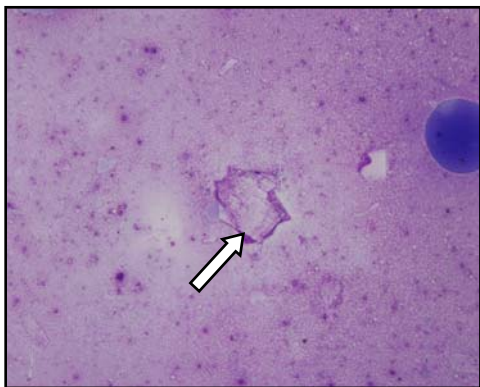


**Figura 3.17** – Citologia. Células carcinomatosas com origem nas glândulas apócrinas. Giemsa, X400. (Original)

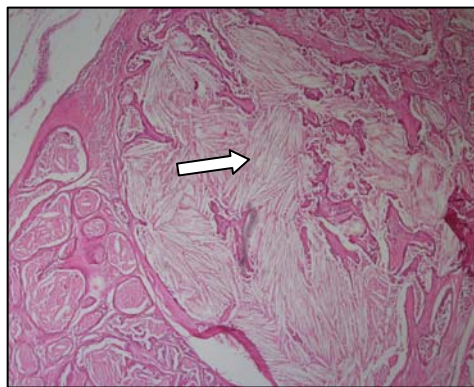


**Figura 3.18** – Histopatologia. Carcinoma das glândulas apócrinas de tipo ductal do caso anterior. H&E, X400. (Original)

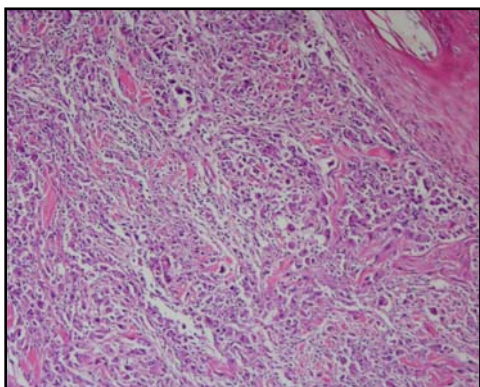




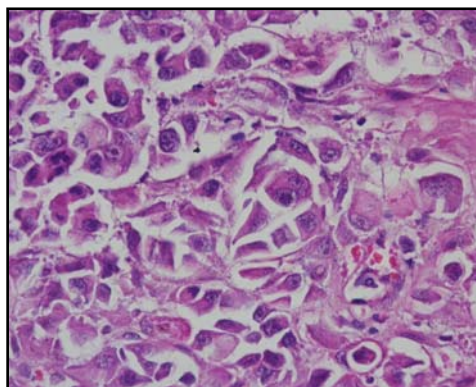
**Figura 3.19** – Citologia. Cristal de colesterol (seta). Giemsa, X400. (Original)



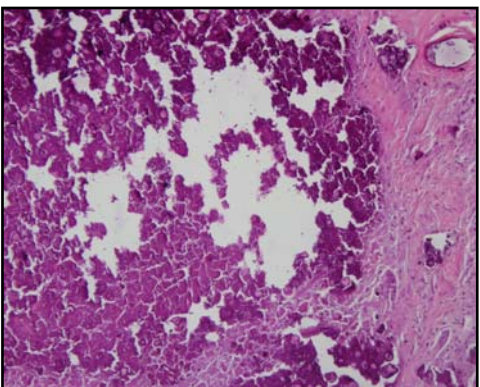
**Figura 3.20** – Histopatologia. Nódulo cutâneo. Cristais de colesterol (seta) do caso anterior. H&E, X40. (Original)



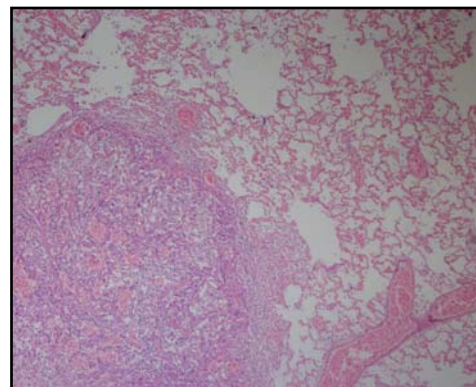
**Figura 3.21** – Histopatologia. Sarcoma histiocítico. H&E, X40. (Original)



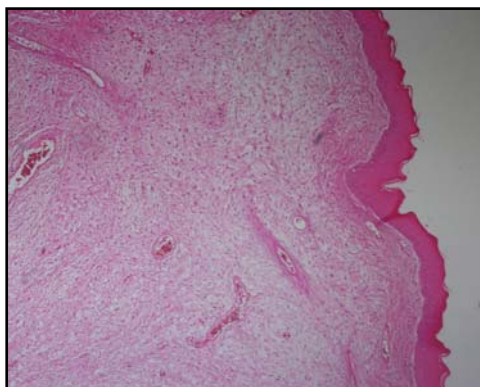
**Figura 3.22** – Histopatologia. Sarcoma histiocítico. Nódulo intra-abdominal. Ampliação da imagem anterior. H&E, X100. (Original)



**Figura 3.23** – Histopatologia. Calcinose circunscrita (seta). H&E, X100. (Original)



**Figura 3.24** – Histopatologia. Pulmão. Hemangiossarcoma. H&E, X40. (Original)



**Figura 3.25** – Histopatologia. Pólipo vulvar. H&E, X40. (Original)

#### **ANEXO 4: Assistência a apresentações de temas clínicos durante o período de estágio curricular**

- “Tudo o que precisam de saber sobre protocolos anestésicos (mas têm medo de perguntar...)” Parte 1 – Leonor Iglésias, aluna estagiária (Outubro de 2007).
- “Tudo o que precisam de saber sobre protocolos anestésicos (mas têm medo de perguntar...)” Parte 2 – Leonor Iglésias, aluna estagiária (Outubro de 2007).
- “Vantagens da quimioterapia como complemento da cirurgia oncológica” – Dr. Gonçalo Vicente (Novembro de 2007).
- “Transfusões sanguíneas de componentes sanguíneos e soluções transportadoras de oxigénio” – Marisa Ferreira, aluna estagiária (Novembro de 2007).
- “Introdução ao Electrocardiograma” – Dr. José Matos (Dezembro de 2007).
- “Maneio clínico da epilepsia nos animais de companhia” – Ana Castro, aluna estagiária (Janeiro de 2008).

## **ANEXO 5: Técnica Histológica**

A preparação histológica, fez-se da seguinte forma:

- 1º - Corte, pelo patologista, para processamento das peças conservadas em formol a 10%;
- 2º - As cassetes com os fragmentos foram colocadas num processador automático de tecidos (Leica® TP1020); que fez a desidratação das amostras, passando por soluções de álcool de concentrações sucessivamente crescentes, xilol e parafina;
- 3º - Inclusão das peças em parafina (Histosec® pastilhas Merck®), para formar os blocos;
- 4º - Obtenção de cortes de 3 µm dos blocos de parafina no micrótomo de corredeira (Leica® SM2000R), ou no micrótomo de Minot ou rotativo (Leica® RM2135);
- 5º - Colagem dos cortes em lâminas limpas e desengorduradas;
- 6º - Coloração das lâminas, com hematoxilina–eosina. As lâminas foram primeiro deixadas numa tina com xilol para desparafinar durante 15 minutos. Depois, foram hidratadas para que o corante penetrasse nas peças, passando-as em soluções alcoólicas de 100%, 90%, duas tinas com álcool a 70% e, por último, lavagem com água destilada. Posteriormente as lâminas foram deixadas numa tina com hematoxilina (Hematoxilina de Harris, Bio-Optica®), durante 12 minutos. A lavagem foi realizada com água corrente e, depois, as lâminas foram mergulhadas e retiradas de imediato numa solução de ácido clorídrico a 1% em álcool a 70%, que tem por objectivo fazer a diferenciação. Fez-se, de seguida, uma lavagem com água destilada e, depois, com água corrente aquecida. Após este passo, mergulharam-se as lâminas numa tina contendo eosina (Richard – Allan Scientific®), durante um minuto. Passou-se as lâminas novamente em água corrente, para tirar o excesso de corante. O passo seguinte consistiu em desidratar novamente as amostras, passando-as primeiro numa tina com álcool a 90%, duas tinas com álcool a 100% e, por último duas tinas contendo xilol.
- 7º - Montagem final das lâminas para ficarem preservadas, com Entellan (Merck®), que é um meio de inclusão rápida para microscopia, e com uma lamela.